

República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) **PI0707640-1 A2**

(22) Data de Depósito: 23/01/2007
(43) Data da Publicação: 10/05/2011
(RPI 2105)



(51) *Int.Cl.:*
C07K 14/705

(54) Título: **PROTEÍNAS DE FUSÃO DO RAGE E MÉTODOS DE USO**

(30) Prioridade Unionista: 09/02/2006 US 60/771.619

(73) Titular(es): Transtech Pharma, Inc.

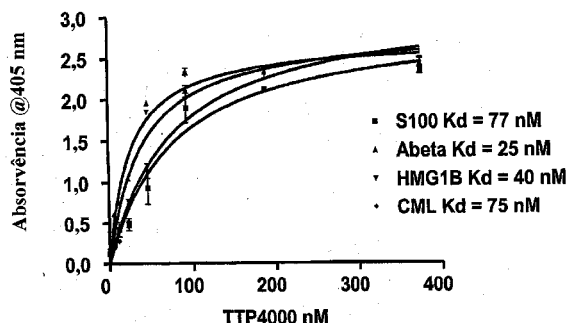
(72) Inventor(es): Adnan M. M. Mjalli, Jeffrey C. Webster, Robert Rothlein, Ye E. Tian

(74) Procurador(es): Nellie Anne Daniel-Shores

(86) Pedido Internacional: PCT US2007001686 de 23/01/2007

(87) Publicação Internacional: WO 2007/094926 de 23/08/2007

(57) Resumo: PROTEÍNAS DE FUSÃO DO RAGE E MÉTODOS DE USO. Divulgadas são proteínas de fusão do RAGE compreendendo seqüências de polipeptídeo do RAGE ligadas a um segundo polipeptídeo não RAGE. A proteína de fusão do RAGE pode utilizar um domínio de polipeptídeo do RAGE compreendendo um sítio de ligação do ligante do RAGE e um ligador de interdomínio diretamente ligado a um domínio C_H2 da imunoglobulina. Tais proteínas de fusão podem fornecer afinidade de ligação alta e específica aos ligantes do RAGE. Também divulgado é o uso das proteínas de fusão do RAGE como terapêutico para patologias mediadas por RAGE.



"PROTEÍNAS DE FUSÃO DO RAGE E MÉTODOS DE USO"

REFERÊNCIA CRUZADA PARA PEDIDOS RELACIONADOS

O presente pedido reivindica prioridade sob 35
U.S.C. § 119(e) do Pedido de Patente Provisório U.S. Série
5 Nº 60/771.619, depositado em 9 de Fevereiro de 2006. A
divulgação do Pedido de Patente Provisório U.S. 60/771.619 é
por meio deste incorporada por referência aqui em sua
totalidade.

CAMPO DA INVENÇÃO

10 A presente invenção diz respeito à regulação do
Receptor para Produtos Finais Glicosados Avançados (RAGE).
Mais particularmente, a presente invenção descreve proteínas
de fusão compreendendo um polipeptídeo do RAGE, métodos de
fabricar tais proteínas de fusão, e o uso de tais proteínas
15 para tratamento de distúrbios com base no RAGE.

FUNDAMENTOS

A incubação de proteínas ou lípidos com açúcares
aldose resulta em glicação não enzimática e oxidação de
grupos amino em proteínas para formar adutos Amadori. Com o
20 passar do tempo, os adutos sofrem recomposições adicionais,
desidratações, e reticulação com outras proteínas para
formar complexos conhecido como Produtos Finais de Glicação
Avançada (AGEs). Os fatores que promovem a formação dos AGEs
incluem modificação retardada da proteína (por exemplo, como
25 nas amiloidoses), acúmulo de macromoléculas tendo teor de
lisina alto, e níveis de glicose no sangue altos (por
exemplo, como no diabetes) (Hori et al., *J Biol. Chem.* 270:
25752-761, (1995)). AGEs foram implicados em uma variedade

de distúrbios incluindo complicações associadas com diabetes e envelhecimento normal.

AGEs exibem ligação específica e saturável aos receptores de superfície celular em monócitos, macrófagos, células endoteliais da microvasculatura, células musculares lisas, células mesangiais, e neurônios. O Receptor para Produtos Finais Glicosados Avançados (RAGE) é um membro da família supergênica da imunoglobulina de moléculas. O domínio extracelular (N-terminal) do RAGE inclui três regiões do tipo imunoglobulina: um domínio do tipo V (variável) seguido por dois domínios do tipo C (constante) (Keeper et al., *J. Biol. Chem.*, 267:14998-15004 (1992); Schmidt et al., *Circ. (Suppl.)* 96#194 (1997)). Um domínio de abrangência da transmembrana simples e uma cauda citosólica altamente carregada, curta, seguem o domínio extracelular. O domínio extracelular de N-terminal pode ser isolado por proteólise do RAGE ou por métodos biológicos moleculares para gerar RAGE solúvel (RAGEs) compreendido dos domínios V e C.

O RAGE é expressado em tipos celulares múltiplos incluindo leucócitos, neurônios, células microgliais e endotélio vascular (por exemplo, Hori et al., *J. Biol. Chem.*, 270:25752-761 (1995)). Níveis aumentados do RAGE também são encontrados nos tecidos envelhecidos (Schleicher et al., *J. Clin. Invest.*, 99 (3): 457-468 (1997)), e na retina diabética, vasculatura e rim (Schmidt et al., *Nature Med.*, 1:1002-1004 (1995)).

Além dos AGEs, outros compostos podem se ligar e

modular o RAGE. O RAGE liga-se aos ligantes diversos funcional e estruturalmente múltiplos incluindo beta amilóide ($A\beta$), soro amilóide A (SAA), Produtos Finais de Glicação Avançada (AGEs), S100 (um membro pró-inflamatório da família da Calgranulina), carboximetil lisina (CML), anfoterina e CD11b/CD18 (Bucciarelli et al., *Cell Mot. Life Sci.*, 59:1117-128 (2002); Chavakis et al., *Microbes Infect.*, 6:1219-1225 (2004); Kokkola et al., *Scand. J. Immunol.*, 61:1-9 (2005); Schmidt et al., *J. Clin. Invest.*, 108:949-955 (2001); Rocken et al., *Am. J. Pathol.*, 162:1213-1220 (2003)).

A união de ligantes tais como AGEs, S100/calgranulina, β -amilóide, CML (N^{ϵ} -Carboximetil lisina), e anfoterina ao RAGE foi mostrada para modificar a expressão de uma variedade de genes. Essas interações depois podem iniciar mecanismos de transdução de sinal incluindo ativação de p38, p21ras, cinases MAP, fosforilação da Erk1-2, e a ativação do mediador transcricional de sinalização inflamatória, NF- κ B (Yeh et al., *Diabetes*, 50:1495-1504 (2001)). Por exemplo, em muitos tipos de células, a interação entre RAGE e seus ligantes pode gerar tensão oxidativa, que desse modo resulta na ativação do fator de transcrição sensível ao radical livre NF- κ B, e na ativação de genes regulados NF- κ B, tais como as citocinas IL-1 β e TNF- α . Além disso, a expressão do RAGE é supra-regulada por intermédio de NF- κ B e mostra expressão aumentada nos sítios de inflamação ou tensão oxidativa (Tanaka et al., *J. Biol. Chem.*, 275:25781-25790 (2000)). Assim, um espiral ascendente

e freqüentemente prejudicial pode ser abastecido por um loop de retroalimentação positivo iniciado por união do ligante.

A ativação do RAGE em tecidos e órgãos diferentes pode levar a várias conseqüências patofisiológicas. RAGE foi
5 implicado em uma variedade de condições incluindo: inflamação aguda e crônica (Hofmann et al., *Cell* 97:889-901 (1999)), o desenvolvimento de complicações diabéticas tardias tais como permeabilidade vascular aumentada (Wautier et al., *J. Clin. Invest.*, 97:238-243 (1995)), nefropatia
10 (Teillet et al., *J. Am. Soc. Nephrol.*, 11:1488-1497 (2000)), arteriosclerose (Vlassara et al., *The Finnish Medical Society DUODECIM; Ann. Med.*, 28:419-426 (1996)), e retinopatia (Hammes et al., *Diabetologia*, 42:603-607 (1999)). O RAGE também foi implicado em doença de Alzheimer
15 (Yan et al., *Nature*, 382:685-691 (1996)), e na invasão de tumor e metástase (Taguchi et al., *Nature*, 405:354-357 (2000)).

Não obstante da expressão ampla do RAGE e seu papel pleiotrópico aparente em modelos de doença diversos
20 múltiplos, RAGE não parece ser essencial ao desenvolvimento normal. Por exemplo, camundongos nocauteados com RAGE estão sem um fenótipo anormal evidente, sugerindo que enquanto RAGE pode desempenhar um papel na patologia da doença quando estimulado cronicamente, a inibição do RAGE não parece
25 contribuir para qualquer fenótipo agudo indesejado (Liliensiek et al., *J. Clin. Invest.*, 113:1641-50 (2004)).

A ligação antagonizante de ligantes fisiológicos ao RAGE pode infra-regular as mudanças patofisiológicas

realizadas por concentrações excessivas de AGEs e outros ligantes do RAGE. Reduzindo-se a ligação de ligantes endógenos ao RAGE, sintomas associados com distúrbios mediados por RAGE podem ser reduzidos. RAGE solúvel (RAGEs) é capaz de antagonizar efetivamente a união de ligantes do RAGE ao RAGE. Entretanto, RAGEs pode ter uma meia vida quando administrado *in vivo* que pode ser muito curta para ser terapeuticamente útil para um ou mais distúrbios. Assim, existe uma necessidade para desenvolver compostos que antagonizem a ligação de AGEs e outros ligantes fisiológicos ao receptor do RAGE onde o composto tem um perfil farmacocinético desejável.

SUMÁRIO

As formas de realização da presente invenção compreendem proteínas de fusão do RAGE e métodos de usar tais proteínas. A presente invenção pode ser realizada em uma variedade de maneiras. Formas de realização da presente invenção podem compreender uma proteína de fusão do RAGE compreendendo um polipeptídeo do RAGE ligado a um segundo polipeptídeo não RAGE. Em uma forma de realização, a proteína de fusão do RAGE compreende um sítio de ligação do ligante do RAGE. A proteína de fusão do RAGE pode compreender ainda um polipeptídeo do RAGE diretamente ligado a um polipeptídeo compreendendo o domínio C_{H2} de uma imunoglobulina, ou uma porção do domínio C_{H2}.

A presente invenção também compreende um método para fabricar uma proteína de fusão do RAGE. Em uma forma de realização o método compreende ligar um polipeptídeo do RAGE

a um segundo polipeptídeo não RAGE. Em uma forma de realização, o polipeptídeo do RAGE compreende um sítio de ligação do ligante do RAGE. O método pode compreender ligar um polipeptídeo do RAGE diretamente a um polipeptídeo compreendendo o domínio C_H2 de uma imunoglobulina ou uma porção do domínio C_H2.

Em outras formas de realização, a presente invenção pode compreender métodos e composições para tratar um distúrbio mediado por RAGE em um paciente. O método pode compreender administrar uma proteína de fusão do RAGE da presente invenção ao paciente. A composição pode compreender uma proteína de fusão do RAGE da presente invenção em um carregador farmacêuticamente aceitável.

Existem várias vantagens que podem ser associadas com formas de realização particulares da presente invenção. Em uma forma de realização, as proteínas de fusão do RAGE da presente invenção podem ser metabolicamente estáveis quando administradas a um paciente. Também, as proteínas de fusão do RAGE da presente invenção podem exibir ligação de afinidade alta para ligantes do RAGE. Em certas formas de realização, as proteínas de fusão do RAGE da presente invenção unem-se a ligantes do RAGE com afinidades na faixa nanomolar alta à micromolar baixa. Ligando-se com afinidade alta a ligantes do RAGE fisiológicos, as proteínas de fusão do RAGE da presente invenção podem ser usadas para inibir a união de ligantes endógenos ao RAGE, desse modo fornecendo um meio para melhorar doenças mediadas por RAGE.

Também, as proteínas de fusão do RAGE da presente

invenção podem ser fornecidas na forma de proteína ou ácido nucléico. Em uma forma de realização de exemplo, a proteína de fusão do RAGE pode ser administrada sistemicamente e permanecer na vasculatura para potencialmente tratar doenças vasculares mediadas em parte por RAGE. Em uma outra forma de realização de exemplo, a proteína de fusão do RAGE pode ser administrada localmente para tratar doenças onde ligantes do RAGE contribuem para a patologia da doença. Alternativamente, uma construção de ácido nucléico codificando a proteína de fusão do RAGE pode ser liberada a um sítio pelo uso de um carregador apropriado tal como um vírus ou DNA desprotegido onde expressão local transiente pode localmente inibir a interação entre ligantes do RAGE e receptores. Assim, a administração pode ser transiente (por exemplo, como quando a proteína de fusão do RAGE é administrada) ou mais permanente em natureza (por exemplo, como quando a proteína de fusão do RAGE é administrada como um DNA recombinante).

Existem características adicionais da invenção que serão descritas em seguida. Deve ser entendido que a invenção não é limitada em sua aplicação aos detalhes apresentados nas reivindicações, descrição e figuras seguintes. A invenção é capaz de outras formas de realização e de ser praticada ou realizada de vários modos.

BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

Várias características, aspectos e vantagens da presente invenção tornar-se-ão mais evidentes com referência às figuras seguintes.

A FIG. 1 mostra várias seqüências de RAGE e seqüências de imunoglobulina de acordo com formas de realização alternadas da presente invenção: Painel A, SEQ ID Nº: 1, a seqüência de aminoácido para RAGE humano; e SEQ ID

5 Nº: 2, a seqüência de aminoácido para RAGE humano sem a seqüência de sinal de aminoácidos 1-22; Painel. B, SEQ ID Nº: 3, a seqüência de aminoácido para RAGE humano sem a seqüência de sinal de aminoácidos 1-23; Painel C, SEQ ID Nº: 4, a seqüência de aminoácido de RAGEs humano; SEQ ID Nº: 5,

10 a seqüência de aminoácido de RAGEs humano sem a seqüência de sinal de aminoácidos 1-22, e SEQ ID Nº: 6, a seqüência de aminoácido de RAGEs humano sem a seqüência de sinal de aminoácidos 1-23; Painel D, SEQ ID Nº: 7, uma seqüência de aminoácido compreendendo o domínio V de RAGE humano; SEQ ID

15 Nº: 8, uma seqüência de aminoácido alternada compreendendo o domínio V de RAGE humano; SEQ ID Nº: 9, um fragmento N-terminal do domínio V de RAGE humano; SEQ ID Nº: 10, um fragmento de N-terminal alternado do domínio V de RAGE humano; SEQ ID Nº: 11, a seqüência de aminoácido para

20 aminoácidos 124-221 de RAGE humano; SEQ ID Nº: 12, a seqüência de aminoácido para aminoácidos 227-317 de RAGE humano; SEQ ID Nº: 13, a seqüência de aminoácido para aminoácidos 23-123 de RAGE humano; Painel E, SEQ ID Nº: 14, a seqüência de aminoácido para aminoácidos 24-123 de RAGE

25 humano; SEQ ID Nº: 15, a seqüência de aminoácido para aminoácidos 23-136 de RAGE humano; SEQ ID Nº: 16, a seqüência de aminoácido para aminoácidos 24-136 de RAGE humano; SEQ ID Nº: 17, a seqüência de aminoácido para

aminoácidos 23-226 de RAGE humano; SEQ ID N°: 18, a
 sequência de aminoácido para aminoácidos 24-226 de RAGE
 humano; Painel F, SEQ ID N°: 19, a sequência de aminoácido
 para aminoácidos 23-251 de RAGE humano; SEQ ID N°: 20, a
 5 sequência de aminoácido para aminoácidos 24-251 de RAGE
 humano; SEQ ID N°: 21, um ligador de interdomínio do RAGE;
 SEQ ID N°: 22, um segundo ligador de interdomínio do RAGE;
 SEQ ID N°: 23, um terceiro ligador de interdomínio do RAGE;
 SEQ ID N°: 24, um quarto ligador de interdomínio do RAGE;
 10 Painel G, SEQ ID N°: 25, DNA codificando aminoácidos 1-118
 do RAGE humano; SEQ ID N°: 26, DNA codificando aminoácidos
 1-123 do RAGE humano; e SEQ ID N°: 27, DNA codificando
 aminoácidos 1-136 do RAGE humano; Painel H, SEQ ID N°: 28,
 DNA codificando aminoácidos 1-230 do RAGE humano; e SEQ ID
 15 N°: 29, DNA codificando aminoácidos 1-251 do RAGE humano;
 Painel I, SEQ ID N°: 38, uma sequência de aminoácido parcial
 para os domínios C_{H2} e C_{H3} de IgG humana; SEQ ID N°: 39, DNA
 codificando uma porção dos domínios C_{H2} e C_{H3} humanos de IgG
 humana; SEQ ID N°: 40, uma sequência de aminoácido para os
 20 domínios C_{H2} e C_{H3} de IgG humana; Painel J, SEQ ID N°: 41, um
 DNA codificando os domínios C_{H2} e C_{H3} humanos de IgG humana;
 SEQ ID N°: 42, uma sequência de aminoácido para o domínio
 C_{H2} de IgG humana; SEQ ID N°: 43, uma sequência de
 aminoácido para o domínio C_{H3} de IgG humana; e SEQ ID N°:
 25 44, um quinto ligador de interdomínio do RAGE.

A FIG. 2 mostra a sequência de DNA (SEQ ID N°: 30)
 de uma primeira proteína de fusão do RAGE (TTP-4000)
 codificando a região de acordo com uma forma de realização

da presente invenção. A sequência de codificação 1-753 destacada em negrito codifica a sequência de proteína de N-terminal do RAGE considerando que a sequência 754-1386 codifica a sequência de proteína IgG (γ 1) humana.

5 A FIG. 3 mostra a sequência de DNA (SEQ ID N°: 31) de uma segunda proteína de fusão do RAGE (TTP-3000) codificando a região de acordo com uma forma de realização da presente invenção. A sequência de codificação 1-408 destacada em negrito codifica a sequência de proteína N-
10 terminal do RAGE, considerando que a sequência 409-1041 codifica a sequência de proteína IgG (γ 1) humana.

 A FIG. 4 mostra as sequências de aminoácido, SEQ ID N°: 32, SEQ ID N°: 33, e SEQ ID N°: 34, para que cada uma codifique uma proteína de fusão do RAGE de quatro domínios
15 de acordo com as formas de realização alternadas da presente invenção. A sequência do RAGE é destacada com uma fonte em negrito.

 A FIG. 5 mostra as sequências de aminoácido, SEQ ID N°: 35, SEQ ID N°: 36, e SEQ ID N°: 37, para que cada uma
20 codifique uma proteína de fusão do RAGE de três domínios de acordo com formas de realização alternadas da presente invenção. A sequência do RAGE é destacada com uma fonte em negrito.

 A FIG. 6, Painel A, mostra uma comparação dos
25 domínios de proteína no RAGE humano e proteína humana Ig gama-1 Fc, e pontos de clivagem usados para fabricar TTP-3000 (na posição 136) e TTP-4000 (na posição 251) de acordo com as formas de realização alternadas da presente invenção;

e o Painei B mostra a estrutura de domínio para TTP-3000 e TTP-4000 de acordo com as formas de realização alternadas da presente invenção.

A FIG. 7 mostra resultados de um ensaio de ligação *in vitro* para RAGEs, e uma primeira proteína de fusão do RAGE TTP-4000 (TT4) e uma segunda proteína de fusão do RAGE TTP-3000 (TT3), ao amilóide beta de ligantes do RAGE (A-beta), S100b (S100), e anfoterina (Ampho), de acordo com uma forma de realização da presente invenção.

A FIG. 8 mostra resultados de um ensaio de ligação *in vitro* para uma primeira proteína de fusão do RAGE TTP-4000 (TT4) ("Proteína") ao amilóide beta quando comparados a um controle negativo apenas incluindo os reagentes de imunodeteção ("Complexo Sozinho"), e antagonismo de tal ligação por um antagonista do RAGE ("Ligante do RAGE") de acordo com uma forma de realização da presente invenção.

A FIG. 9 mostra resultados de um ensaio de ligação *in vitro* para uma segunda proteína de fusão do RAGE TTP-3000 (TT3) ("Proteína") ao amilóide beta quando comparados a um controle negativo apenas incluindo os reagentes de imunodeteção ("Complexo Sozinho"), e antagonismo de tal ligação por um antagonista do RAGE ("Ligante do RAGE") de acordo com uma forma de realização da presente invenção.

A FIG. 10 mostra resultados de um ensaio de base celular medindo a inibição de produção induzida por S100b-RAGE de TNF- α por proteínas de fusão do RAGE TTP-3000 (TT3) e TTP-4000 (TT4), e RAGEs de acordo com uma forma de realização da presente invenção.

A FIG. 11 mostra um perfil farmacocinético para a proteína de fusão do RAGE TTP-4000 de acordo com uma forma de realização da presente invenção em que cada curva representa um animal diferente sob as mesmas condições experimentais.

A FIG. 12 mostra níveis relativos de liberação de TNF- α das células THP-1 devido à estimulação por proteína de fusão do RAGE TTP-4000 e estimulação da IgG humana como uma medida de uma resposta inflamatória de acordo com uma forma de realização da presente invenção.

A FIG. 13 mostra o uso de proteína de fusão do RAGE TTP-4000 para reduzir restenose em animais diabéticos de acordo com formas de realização alternadas da presente invenção, em que o painel A mostra que proteína de fusão do RAGE TTP-4000 reduziu a razão íntima/média quando comparado a um controle negativo (IgG), e o painel B mostra que proteína de fusão do RAGE TTP-4000 reduziu a proliferação celular muscular lisa vascular em uma maneira de resposta à dose.

A FIG. 14 mostra o uso de proteína de fusão do RAGE TTP-4000 para reduzir a formação amilóide e disfunção cognitiva em animais com Doença de Alzheimer (AD) de acordo com formas de realização alternadas da presente invenção em que o painel A mostra que a proteína de fusão do RAGE TTP-4000 reduziu a carga amilóide no cérebro, e o painel B mostra que a proteína de fusão do RAGE TTP-4000 melhorou a função cognitiva.

A FIG. 15 mostra curvas de saturação-ligação com

TTP-4000 para vários ligantes do RAGE conhecidos, imobilizados de acordo com uma forma de realização da presente invenção.

A FIG. 16 mostra várias seqüências de RAGE e
5 seqüências de imunoglobulina de acordo com formas de realização alternadas da presente invenção: Painel A, SEQ ID Nº: 45, a seqüência de aminoácido de RAGEs humano sem a seqüência de sinal de aminoácidos 1-23 onde o resíduo de glutamina no N-terminal foi ciclizada para formar ácido
10 piroglutâmico, SEQ ID Nº: 46, uma seqüência de aminoácido alternada compreendendo o domínio V de RAGEs humano onde o resíduo de glutamina no N-terminal foi ciclizada para formar ácido piroglutâmico, SEQ ID Nº: 47, um fragmento N-terminal alternado do domínio V de RAGE humano onde o resíduo de
15 glutamina no N-terminal foi ciclizada para formar ácido piroglutâmico, SEQ ID Nº: 48, a seqüência de aminoácido para aminoácidos 24-123 de RAGE humano onde o resíduo de glutamina no N-terminal foi ciclizada para formar ácido piroglutâmico; Painel B, SEQ ID Nº: 49, a seqüência de
20 aminoácido para aminoácidos 24-136 de RAGE humano onde o resíduo de glutamina no N-terminal foi ciclizada para formar ácido piroglutâmico, SEQ ID Nº: 50, a seqüência de aminoácido para aminoácidos 24-226 de RAGE humano onde o resíduo de glutamina no N-terminal foi ciclizada para formar
25 ácido piroglutâmico, SEQ ID Nº: 51, a seqüência de aminoácido para aminoácidos 24-251 de RAGE humano onde o resíduo de glutamina no N-terminal foi ciclizada para formar ácido piroglutâmico; Painel C, SEQ ID Nº: 52, uma seqüência

de DNA alternada codificando uma porção dos domínios C_H2 e C_H3 humanos da IgG humana na SEQ ID Nº: 38, SEQ ID Nº: 53, uma seqüência de DNA alternada codificando os domínios C_H2 e C_H3 humanos da IgG humana na SEQ ID Nº: 40.

5 A FIG. 17 mostra uma seqüência de DNA alternada (SEQ ID Nº: 54) de uma primeira proteína de fusão do RAGE (TTP-4000) codificando a região de acordo com uma forma de realização da presente invenção. A seqüência de codificação 1-753 destacada em negrito codifica a seqüência de proteína
10 N-terminal do RAGE e seqüência 754-1386 codifica a seqüência de proteína IgG (γ1) humana.

 A FIG. 18 mostra uma seqüência de DNA alternada (SEQ ID Nº: 55) de uma segunda proteína de fusão do RAGE (TTP-3000) codificando a região de acordo com uma forma de
15 realização da presente invenção. A seqüência de codificação 1-408 destacada em negrito codifica a seqüência de proteína N-terminal do RAGE e a seqüência 409-1041 codifica a seqüência de proteína IgG (γ1) humana.

 A FIG. 19 mostra a seqüência de aminoácido SEQ ID
20 Nº: 56 que codifica uma proteína de fusão do RAGE de quatro domínios de acordo com uma forma de realização alternada da presente invenção. A seqüência do RAGE é destacada em fonte em negrito.

 A FIG. 20 mostra a seqüência de aminoácido SEQ ID
25 Nº: 57 que codifica uma proteína de fusão do RAGE de três domínios de acordo com uma forma de realização alternada da presente invenção. A seqüência do RAGE é destacada em fonte em negrito.

A FIG. 21 mostra o uso de proteína de fusão do RAGE TTP-4000 para reduzir a rejeição de transplantes da célula da ilhota pancreática alogênicos de acordo com formas de realização alternadas da presente invenção onde círculos
5 abertos (não preenchidos) designam animais de controle não tratados; círculos com incubação diagonal designam animais tratados com TTP-4000 em uma primeira dosagem; círculos com incubação ondulada designam animais tratados com TTP-4000 em uma segunda dosagem; círculos preenchidos com diamante
10 designam animais tratados com PBS de controle; e círculos sólidos designam animais tratados com IgG de controle.

A FIG. 22 mostra o uso de proteínas de fusão do RAGE TTP-4000 para reduzir a rejeição de transplantes da célula da ilhota pancreática singênicos de acordo com formas
15 de realização alternadas da presente invenção onde círculos abertos (não preenchidos) designam animais de controle não tratados; e círculos sólidos designam animais tratados com TTP-4000.

DESCRIÇÃO DETALHADA

20 Para os propósitos deste relatório descritivo, a menos que de outro modo indicado, todos os números expressando quantidades de ingredientes, condições de reação, e assim por diante, usados no relatório descritivo devem ser entendidos como sendo modificados em todos os
25 exemplos pelo termo "cerca de." Consequentemente, a menos que indicado de outra forma, os parâmetros numéricos apresentados no relatório descritivo seguinte são aproximações que podem variar dependendo das propriedades

desejadas buscadas para serem obtidas pela presente invenção. Ao menos, e não como uma tentativa para limitar a aplicação da doutrina de equivalentes ao escopo das reivindicações, cada parâmetro numérico deve pelo menos ser
5 interpretado na luz do número de dígitos significantes relatados e aplicando-se técnicas de arredondamento habituais.

Não obstante as faixas numéricas e parâmetros apresentando o amplo escopo da invenção serem aproximações,
10 os valores numéricos apresentados nos exemplos específicos são relatados tão precisamente quanto possível. Qualquer valor numérico, entretanto, inerentemente contém certos erros que resultam necessariamente do desvio de padrão encontrado em suas respectivas medições de teste. Além
15 disso, todas as faixas divulgadas aqui devem ser entendidas para abranger quaisquer e todas as subfaixas incluídas nestas. Por exemplo, uma faixa estabelecida de "1 a 10" deve ser considerada para incluir quaisquer e todas as subfaixas entre (e inclusive) o valor mínimo de 1 e o valor máximo de
20 10; isto é, todas as subfaixas começando com um valor mínimo de 1 ou mais, por exemplo, 1 a 6,1, e terminando com um valor máximo de 10 ou menos, por exemplo, 5,5 a 10. Adicionalmente, qualquer referência referida como sendo "incorporada aqui" deve ser entendida como sendo incorporada
25 em sua totalidade.

Ainda é observado que, como usado neste relatório descritivo, as formas singulares "um," "uma," e "o(a)" incluem referências ao plural a menos que expressa e

inequivocamente limitadas a uma referência. O termo "ou" é usado permutavelmente com o termo "e/ou" a menos que o contexto claramente indique de outro modo.

Também, os termos "porção" e "fragmento" são usados permutavelmente para referirem-se às partes de um polipeptídeo, ácido nucléico, ou outra construção molecular.

"Polipeptídeo" e "proteína" são usados permutavelmente aqui para descrever moléculas de proteína que podem compreender proteínas de tamanho parcial ou total.

Como é conhecido na técnica, "proteínas", "peptídeos", "polipeptídeos" e "oligopeptídeos" são cadeias de aminoácidos (tipicamente L-aminoácidos) cujos carbonos alfa são ligados através de ligações peptídicas formadas por uma reação de condensação entre o grupo carboxila do carbono alfa de um aminoácido e o grupo amino do carbono alfa de um outro aminoácido. Tipicamente, os aminoácidos compensando uma proteína são numerados em ordem, iniciando no resíduo amino terminal e aumentando em direção ao resíduo carbóxi terminal da proteína.

Como usado aqui, o termo "a montante" refere-se a um resíduo que é N-terminal a um segundo resíduo onde a molécula é uma proteína, ou 5' a um segundo resíduo onde a molécula é um ácido nucléico. Também como usado aqui, o termo "a jusante" refere-se a um resíduo que é C-terminal a um segundo resíduo onde a molécula é uma proteína, ou 3' a um segundo resíduo onde a molécula é um ácido nucléico.

A menos que definido de outro modo, todos os termos técnicos e científicos usados aqui têm o mesmo

significado como comumente entendido por aquele de habilidade comum na técnica. Praticantes são particularmente dirigidos ao *Current Protocols in Molecular Biology* (ver por exemplo, Ausubel, F.M. et al., *Short Protocols in Molecular Biology*, 4ª Ed., Capítulo 2, John Wiley & Sons, N.Y.) para definições e termos da técnica. Abreviações para resíduos de aminoácido são os códigos padrão de 3 letras e/ou 1 letra usados na técnica para referirem-se a um dos 20 L-aminoácidos comuns.

10 Um "ácido nucléico" é um polinucleotídeo tal como ácido desoxirribonucléico (DNA) ou ácido ribonucléico (RNA). O termo é usado para incluir ácidos nucléicos de filamento único, ácidos nucléicos de filamento duplo, e RNA e DNA fabricados de análogos de nucleotídeo ou nucleosídeo.

15 O termo "vetor" refere-se a uma molécula de ácido nucléico que pode ser usada para transportar uma segunda molécula de ácido nucléico em uma célula. Em uma forma de realização, o vetor leva em consideração a replicação de seqüências de DNA inseridas no vetor. O vetor pode
20 compreender um promotor para realçar a expressão da molécula de ácido nucléico em pelo menos algumas células hospedeiras. Os vetores podem replicar autonomamente (extra-cromossômico) ou podem ser integrados em um cromossomo de célula hospedeira. Em uma forma de realização, o vetor pode
25 compreender um vetor de expressão capaz de produzir uma proteína derivada de pelo menos parte de uma seqüência de ácido nucléico inserida no vetor.

Como é conhecido na técnica, condições para

hibridizar as seqüências de ácido nucléico entre si podem ser descritas como variando de estringência baixa a alta. Geralmente, condições de hibridização altamente severas referem-se a lavagem de híbridos em tampão com baixo teor de sal em temperaturas altas. A hibridização pode ser filtrar o DNA ligado usando soluções de hibridização padrão na técnica tais como 0,5 M de NaHPO_4 , 7 % de dodecil sulfato de sódio (SDS), a 65° C, e lavagem em 0,25 M de NaHPO_4 , 3,5 % de SDS seguido por lavagem com 0,1 x SSC/0,1 % de SDS em uma temperatura variando da temperatura ambiente a 68° C dependendo do comprimento da sonda (Ausubel et al.). Por exemplo, uma lavagem de alta estringência compreende lavagem em 6 x SSC/0,05 % de pirofosfato de sódio a 37° C para uma sonda de 14 oligonucleotídeos de base, ou a 48° C para uma sonda de 17 oligonucleotídeos de base, ou a 55° C para uma sonda de 20 oligonucleotídeos de base, ou a 60° C para uma sonda de 25 oligonucleotídeos de base, ou a 65° C para uma sonda de nucleotídeo de cerca de 250 nucleotídeos de comprimento. Sondas de ácido nucléico podem ser marcadas com radionucleotídeos por marcação final com, por exemplo, $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$, ou incorporação de nucleotídeos radiomarcados tais como $[\alpha\text{-}^{32}\text{P}]\text{dCTP}$ por marcação de iniciador aleatória. Alternativamente, sondas podem ser marcadas por incorporação de nucleotídeos biotinilados ou marcados com fluoresceína, e a sonda detectada usando anticorpos de Estreptavidina ou anti-fluoresceína.

Como usado aqui, "moléculas orgânicas pequenas" são moléculas de peso molecular menor do que 2.000 Daltons

que contêm pelo menos um átomo de carbono.

O termo "proteína de fusão" refere-se a uma proteína ou polipeptídeo que tem uma seqüência de aminoácido derivada de duas ou mais proteínas. A proteína de fusão
5 também pode incluir regiões de ligação de aminoácidos entre porções de aminoácido derivadas de proteínas separadas.

Como usado aqui, um "polipeptídeo não RAGE" é qualquer polipeptídeo que não é derivado de RAGE ou um fragmento deste. Tais polipeptídeos não RAGE incluem
10 peptídeos de imunoglobulina, polipeptídeos de dimerização, polipeptídeos de estabilização, peptídeos anfifílicos, ou polipeptídeos compreendendo seqüências de aminoácido que fornecem "marcadores" para marcação ou purificação da proteína.

15 Como usado aqui, "peptídeos de imunoglobulina" podem compreender uma cadeia pesada de imunoglobulina ou uma porção desta. Em uma forma de realização, a porção da cadeia pesada pode ser o fragmento Fc ou uma porção deste. Como usado aqui, o fragmento Fc compreende o polipeptídeo de
20 articulação de cadeia pesada, e os domínios C_H2 e C_H3 da cadeia pesada de uma imunoglobulina, na forma monomérica ou dimérica. Ou, o C_H1 e o fragmento Fc podem ser usados como o polipeptídeo da imunoglobulina. A cadeia pesada (ou porção desta) pode ser derivada de qualquer um dos isotipos de
25 cadeia pesada conhecidos: IgG (γ), IgM (μ), IgD (δ), IgE (α), ou IgA (α). Além disso, a cadeia pesada (ou porção desta) pode ser derivada de qualquer um dos subtipos de cadeia pesada conhecidos: IgG1 (γ 1), IgG2 (γ 2), IgG3 (γ 3),

IgG4 ($\gamma 4$), IgA1 ($\alpha 1$), IgA2 ($\alpha 2$), ou mutações destes isotipos ou subtipos que alteram a atividade biológica. Um exemplo de atividade biológica que pode ser alterada inclui redução de uma capacidade do isotipo para ligar a alguns receptores Fc
5 como por exemplo, por modificação da região de articulação.

Os termos "identidade" ou "porcentagem idêntica" referem-se à identidade da seqüência entre duas seqüências de aminoácido ou entre duas seqüências de ácido nucléico. A porcentagem de identidade pode ser determinada alinhando-se
10 duas seqüências e refere-se ao número de resíduos idênticos (isto é, aminoácido ou nucleotídeo) nas posições compartilhadas pelas seqüências comparadas. O alinhamento e comparação da seqüência podem ser conduzidos usando os algoritmos padrão na técnica (por exemplo, Smith and
15 Waterman, 1981, *Adv. Appl. Math.* 2:482; Needleman and Wunsch, 1970, *J. Mol. Biol.* 48:443; Pearson and Lipman, 1988, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 85:2444) ou por versões computadorizadas destes algoritmos (Wisconsin Genetics Software Package Release 7.0, Genetics Computer Group, 575
20 Science Drive, Madison, WI) publicamente disponíveis como BLAST e FASTA. Também, ENTREZ, disponível através do National Institutes of Health, Bethesda MD, pode ser usado para comparação de seqüência. Em uma forma de realização, a porcentagem de identidade de duas seqüências pode ser
25 determinada usando GCG com um peso de intervalo de 1, tal que cada intervalo de aminoácido é pesado como se ele fosse uma ligação imperfeita de aminoácido único entre as duas seqüências.

Como usado aqui, o termo "resíduos conservados" refere-se a aminoácidos que são os mesmos entre uma pluralidade de proteínas tendo a mesma estrutura e/ou função. Uma região de resíduos conservados pode ser importante para a estrutura ou função da proteína. Assim, resíduos conservados contíguos conforme identificados em uma proteína tridimensional podem ser importantes para a estrutura ou função da proteína. Para encontrar resíduos conservados, ou regiões conservadas da estrutura 3-D, uma comparação de seqüências para as mesmas ou proteínas similares de espécies diferentes, ou de indivíduos da mesma espécie, pode ser feita.

Como usado aqui, o termo "homólogo" significa um polipeptídeo tendo um grau de homologia com a seqüência de aminoácido do tipo selvagem. Comparações de homologia podem ser conduzidas a olho nu, ou mais usualmente, com o auxílio de programas de comparação de seqüência prontamente disponíveis. Estes programas de computador comercialmente disponíveis podem calcular a porcentagem de homologia entre duas ou mais seqüências (por exemplo, Wilbur, W. J. and Lipman, D. J., 1983, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 80:726-730). Por exemplo, seqüências homólogas podem ser tomadas para incluir seqüências de aminoácido que nas formas de realização alternadas são pelo menos 70 % idênticas, 75 % idênticas, 80 % idênticas, 85 % idênticas, 90 % idênticas, 95 % idênticas, 97 % idênticas, ou 98 % idênticas, ou 99 % idênticas entre si.

Como usado aqui, o termo pelo menos 90 % idêntica

a estas inclui seqüências que variam de 90 a 99,99 % de identidade para as seqüências indicadas e inclui todas as faixas no meio. Assim, o termo pelo menos 90 % idêntica a estas inclui seqüências que têm 91, 91,5, 92, 92,5, 93, 5 93,5, 94, 94,5, 95, 95,5, 96, 96,5, 97, 97,5, 98, 98,5, 99, 99,5 de porcentagem idêntica para a seqüência indicada. Similarmente o termo "pelo menos 70 % idêntica" inclui seqüências que variam de 70 a 99,99 % idêntica, com todas as faixas no meio. A determinação da identidade da porcentagem 10 é determinada usando os algoritmos descritos aqui.

Como usado aqui, um "domínio" de polipeptídeo ou proteína compreende uma região ao longo de um polipeptídeo ou proteína que compreende uma unidade independente. Os domínios podem ser definidos em termos de estrutura, 15 seqüência e/ou atividade biológica. Em uma forma de realização, um domínio de polipeptídeo pode compreender uma região de uma proteína que dobra em uma maneira que é substancialmente independente do restante da proteína. Os domínios podem ser identificados usando bases de dados de 20 domínio tais como, mas não limitadas a PFAM, PRODOM, PROSITE, BLOCKS, PRINTS, SBASE, ISREC PERFILES, SAMRT, e PROCLASS.

Como usado aqui, "domínio da imunoglobulina" é uma seqüência de aminoácidos que é estruturalmente homóloga, ou 25 idêntica a um domínio de uma imunoglobulina. O comprimento da seqüência de aminoácidos de um domínio da imunoglobulina pode ser qualquer comprimento. Em uma forma de realização, um domínio da imunoglobulina pode ser menor do que 250

aminoácidos. Em uma forma de realização de exemplo, um domínio da imunoglobulina pode ter cerca de 80 a 150 aminoácidos de comprimento. Por exemplo, a região variável, e as regiões C_H1, C_H2, e C_H3 de uma IgG são cada uma domínios da imunoglobulina. Em um outro exemplo, a variável, as regiões C_H1, C_H2, C_H3 e C_H4 de uma IgM são cada uma domínios da imunoglobulina.

Como usado aqui, um "domínio da imunoglobulina do RAGE" é uma seqüência de aminoácidos da proteína do RAGE que é estruturalmente homóloga, ou idêntica a um domínio de uma imunoglobulina. Por exemplo, um domínio da imunoglobulina do RAGE pode compreender o domínio V do RAGE, o domínio do tipo 1 de C2 semelhante à Ig do RAGE ("domínio C1"), ou o domínio do tipo 2 de C2 semelhante à Ig do RAGE ("domínio C2").

Como usado aqui, um "ligador de interdomínio" compreende um polipeptídeo que une dois domínios. Uma região de articulação de Fc é um exemplo de um ligador de interdomínio em uma IgG.

Como usado aqui, "diretamente ligado" identifica uma ligação covalente entre dois grupos diferentes (por exemplo, seqüências de ácido nucléico, polipeptídeos, domínios de polipeptídeo) que não têm quaisquer átomos de intervenção entre os dois grupos que estão sendo ligados.

Como usado aqui, "domínio de união do ligante" refere-se a um domínio de uma proteína responsável pela ligação de um ligante. O termo domínio de união do ligante inclui homólogos de um domínio de união do ligante ou porções deste. Sob este aspecto, substituições de aminoácido

deliberadas podem ser feitas no sítio de ligação do ligante com base na similaridade da polaridade, carga, solubilidade, hidrofobicidade, ou hidrofiliicidade dos resíduos, contanto que a especificidade de ligação do domínio de união do
5 ligante seja retida.

Como usado aqui, um "sítio de ligação do ligante" compreende resíduos em uma proteína que interage diretamente com um ligante, ou resíduos envolvidos no posicionamento do ligante em proximidade àqueles resíduos que interagem
10 diretamente com o ligante. A interação de resíduos no sítio de ligação do ligante pode ser definida pela proximidade espacial dos resíduos a um ligante no modelo ou estrutura. O termo sítio de ligação do ligante inclui homólogos de um sítio de ligação do ligante, ou porções deste. Sob este
15 aspecto, substituições de aminoácido deliberadas podem ser feitas no sítio de ligação do ligante com base na similaridade da polaridade, carga, solubilidade, hidrofobicidade, ou hidrofiliicidade dos resíduos, contanto que a especificidade de ligação do sítio de ligação do
20 ligante seja retida. Um sítio de ligação do ligante pode existir em um ou mais domínios de união do ligante de uma proteína ou polipeptídeo.

Como usado aqui, o termo "interage" refere-se a uma condição de proximidade entre um ligante ou composto, ou
25 porções ou fragmentos destes, e uma porção de uma segunda molécula de interesse. A interação pode ser não covalente, por exemplo, como um resultado de união do hidrogênio, interações de van der Waals, ou interações eletrostáticas ou

hidrófobas, ou ela pode ser covalente.

Como usado aqui, um "ligante" refere-se a uma molécula ou composto ou entidade que interage com um sítio de ligação do ligante, incluindo substratos ou análogos ou partes destes. Como descrito aqui, o termo "ligante" pode referir-se a compostos que ligam à proteína de interesse. Um ligante pode ser um agonista, um antagonista, ou um modulador. Ou, um ligante pode não ter um efeito biológico. Ou, um ligante pode bloquear a ligação de outros ligantes desse modo inibindo um efeito biológico. Ligantes podem incluir, mas não são limitados a, inibidores de molécula pequena. Estas moléculas pequenas podem incluir peptídeos, peptidomiméticos, compostos orgânicos e semelhantes. Ligantes também podem incluir polipeptídeos e/ou proteínas.

15 Como usado aqui, um "composto modulador" refere-se a uma molécula que modifica ou altera a atividade biológica de uma molécula de interesse. Um composto modulador pode aumentar ou diminuir a atividade, ou mudar as características físicas ou químicas, ou propriedades funcionais ou imunológicas da molécula de interesse. Para RAGE, um composto modulador pode aumentar ou diminuir a atividade, ou mudar as características, ou propriedades funcionais ou imunológicas do RAGE, ou uma porção deste. Um composto modulador pode incluir peptídeos naturais e/ou 25 quimicamente sintetizados ou artificiais, peptídeos modificados (por exemplo, fosfopeptídeos), anticorpos, carboidratos, monossacarídeos, oligossacarídeos, polissacarídeos, glicolipídeos, compostos heterocíclicos,

nucleosídeos ou nucleotídeos ou partes destes, e moléculas orgânicas ou inorgânicas pequenas. Um composto modulador pode ser um composto fisiológico endógeno ou ele pode ser um composto natural ou sintético. Ou, o composto modulador pode
5 ser uma molécula orgânica pequena. O termo "composto modulador" também inclui um ligante ou composto quimicamente modificado, e inclui formas isômeras e racêmicas.

Um "agonista" compreende um composto que liga a um receptor para formar um complexo que produz uma resposta
10 farmacológica específica para o receptor envolvido.

Um "antagonista" compreende um composto que liga a um agonista ou a um receptor para formar um complexo que não dá origem a uma resposta farmacológica substancial e pode inibir a resposta biológica induzida por um agonista.

15 Os agonistas do RAGE podem portanto, ligar-se ao RAGE e estimular os processos celulares mediados por RAGE, e os antagonistas do RAGE podem inibir processos mediados por RAGE de serem estimulados por um agonista do RAGE. Por exemplo, em uma forma de realização, o processo celular
20 estimulado por agonistas do RAGE compreende a ativação da transcrição gênica de TNF- α .

O termo "miméticos de peptídeo" refere-se às estruturas que servem como substitutos para peptídeos em interações entre moléculas (Morgan et al., 1989, *Ann.*
25 *Reports Med. Chem.*, 24:243- 252). Os miméticos de peptídeo podem incluir estruturas sintéticas que podem ou não conter ligações de aminoácidos e/ou peptídicas mas que retêm as características estruturais e funcionais de um peptídeo, ou

agonista, ou antagonista. Os miméticos de peptídeo também incluem peptóides, oligopeptóides (Simon et al., 1972, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 89:9367); e bibliotecas de peptídeo contendo peptídeos de um comprimento designado representando
5 todas as seqüências possíveis de aminoácidos correspondendo a um peptídeo, ou agonista ou antagonista da invenção.

O termo "tratamento" ou "tratar" refere-se à melhora de um sintoma de uma doença ou distúrbio e pode compreender a cura do distúrbio, substancialmente prevenindo
10 o princípio do distúrbio, ou melhorando a condição do paciente. O termo "tratamento" como usado aqui, refere-se ao amplo espectro de tratamentos para um distúrbio fornecido do qual o paciente está sofrendo, incluindo aliviar um sintoma ou a maioria dos sintomas resultantes daquele distúrbio, uma
15 cura para o distúrbio particular, ou prevenção do princípio do distúrbio.

Como usado aqui, o termo "EC50" é definido como a concentração de um agente que resulta em 50 % de um efeito biológico medido. Por exemplo, a EC50 de um agente
20 terapêutico tendo um efeito biológico mensurável pode compreender o valor em que o agente exibe 50 % do efeito biológico.

Como usado aqui, o termo "IC50" é definido como a concentração de um agente que resulta em 50 % de inibição de
25 um efeito medido. Por exemplo, a IC50 de um antagonista da ligação do RAGE pode compreender o valor em que o antagonista reduz a união do ligante ao sítio de ligação do ligante do RAGE em 50 %.

Como usado aqui, uma "quantidade eficaz" significa a quantidade de um agente que é eficaz para produzir um efeito desejado em um paciente. O termo "quantidade terapeuticamente eficaz" denota que a quantidade de um medicamento ou agente farmacêutico que evocará resposta terapêutica de um animal ou ser humano está sendo buscada. A dose real que compreende a quantidade eficaz pode depender da via de administração, do tamanho e saúde do paciente, do distúrbio sendo tratado, e semelhantes.

10 O termo "carregador farmacêuticamente aceitável" como usado aqui pode referir-se a compostos e composições que são adequados para o uso em pacientes humanos ou animais, como por exemplo, para composições terapêuticas administradas para o tratamento de um distúrbio ou doença
15 mediados por RAGE.

O termo "composição farmacêutica" é usado aqui para denotar uma composição que pode ser administrada a um hospedeiro mamífero, por exemplo, oral, parenteral, topicamente, por inalação, pulverização, intranasal ou
20 retalmente, em formulações de dosagem unitária contendo carregadores não tóxicos convencionais, diluentes, adjuvantes, veículos e semelhantes.

O termo "parenteral" como usado aqui, inclui injeções subcutâneas, intravenosas, intramusculares, injeção
25 intracisternal, ou técnicas de infusão.

Como usado aqui "rejeição" refere-se à resposta imune ou inflamatória no tecido que leva à destruição de células, tecidos ou órgãos, ou que leva ao dano de células,

tecidos, ou órgãos. As células, tecido, ou órgão rejeitados podem ser derivados do mesmo paciente que está enquadrando na resposta à rejeição, ou podem ser transplantados de um paciente diferente no paciente que está apresentado
5 rejeição.

Como usado aqui, o termo "célula" refere-se às unidades estruturais e funcionais de um sistema de vida do mamífero das quais cada uma compreende um sistema de vida independente. Como é conhecido na técnica, células incluem
10 um núcleo, citoplasma, organelas intracelulares, e uma parede celular que circunda a célula e permite que a célula seja independente de outras células.

Como usado aqui, o termo "tecido" refere-se a um agregado de células que têm uma estrutura e função
15 similares, ou que trabalham juntas para realizar uma função particular. Um tecido pode incluir um coleção de células similares e as substâncias intercelulares que envolvem as células. Os tecidos incluem, mas não são limitados a, tecido muscular, tecido nervoso, e osso.

20 Como usado aqui um "órgão" refere-se a uma unidade estrutural e funcional completamente diferenciada em um animal que é especializado para alguma função específica. Um órgão pode compreender um grupo de tecidos que realiza uma função específica ou grupo de funções. Os órgãos incluem,
25 mas não são limitados ao coração, pulmões, cérebro, olho, estômago, baço, pâncreas, rins, fígado, intestinos, pele, útero, bexiga, e osso.

Proteínas de fusão do RAGE

As formas de realização da presente invenção compreendem proteínas de fusão do RAGE, métodos de fabricar tais proteínas de fusão, e métodos de uso de tais proteínas de fusão. A presente invenção pode ser incorporada em uma
5 variedade de modos.

Por exemplo, formas de realização da presente invenção fornecem proteínas de fusão do RAGE compreendendo um polipeptídeo do RAGE ligado a um segundo polipeptídeo não
10 RAGE. Em uma forma de realização, a proteína de fusão do RAGE pode compreender um sítio de ligação do ligante do RAGE. Em uma forma de realização, o sítio de ligação do ligante compreende a maior parte do domínio N-terminal da proteína de fusão do RAGE. O sítio de ligação do ligante do
15 RAGE pode compreender o domínio V do RAGE, ou uma porção deste. Em uma forma de realização, o sítio de ligação do ligante do RAGE compreende SEQ ID Nº: 9 ou uma sequência pelo menos 90 % idêntica a esta, ou SEQ ID Nº: 10 ou uma sequência pelo menos 90 % idêntica a esta, ou SEQ ID Nº: 47
20 ou uma sequência pelo menos 90 % idêntica a esta.

Em uma outra forma de realização, o sítio de ligação do ligante pode compreender aminoácidos 23-53 da SEQ ID Nº. 1. Em uma outra forma de realização, o sítio de ligação do ligante pode compreender aminoácidos 24-52 da SEQ
25 ID Nº: 1. Em uma outra forma de realização, o sítio de ligação do ligante pode compreender aminoácidos 31-52 da SEQ ID Nº: 1. Em uma outra forma de realização, o sítio de ligação do ligante pode compreender aminoácidos 31-116 da

SEQ ID Nº: 1. Em uma outra forma de realização, o sítio de ligação do ligante pode compreender aminoácidos 19-52 da SEQ ID Nº: 1.

Em uma forma de realização, o polipeptídeo do RAGE
5 pode ser ligado a um polipeptídeo compreendendo um domínio da imunoglobulina ou uma porção (por exemplo, um fragmento deste) de um domínio da imunoglobulina. Em uma forma de realização, o polipeptídeo compreendendo um domínio da imunoglobulina compreende pelo menos uma porção de pelo
10 menos um dos domínios C_H2 ou C_H3 de uma IgG humana.

Uma proteína ou polipeptídeo do RAGE pode compreender proteína do RAGE humano de comprimento pleno (por exemplo, SEQ ID Nº: 1), ou um fragmento de RAGE humano. Como usado aqui, um fragmento de um polipeptídeo do RAGE tem
15 pelo menos 5 aminoácidos de comprimento, pode ser maior do que 30 aminoácidos de comprimento, mas é menor do que a sequência de aminoácido plena. Em formas de realização alternadas das proteínas, métodos e composições da presente invenção, o polipeptídeo do RAGE pode compreender uma
20 sequência que é pelo menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 %, ou 99 % idêntica ao RAGE humano, ou um fragmento deste. Por exemplo, em uma forma de realização, o polipeptídeo do RAGE pode compreender o RAGE humano, ou um fragmento deste, com Glicina como o primeiro resíduo ao
25 invés de uma Metionina (ver por exemplo, Neepet et al., (1992)). Ou, o RAGE humano pode compreender RAGE de comprimento pleno com a sequência de sinal removida (por exemplo, SEQ ID Nº: 2 ou SEQ ID Nº: 3) (FIGS. 1A e 1B) ou

uma porção dessa sequência de aminoácido.

As proteínas de fusão do RAGE da presente invenção também podem compreender RAGEs (por exemplo, SEQ ID Nº: 4), um polipeptídeo pelo menos 90 % idêntico ao RAGEs, ou um
5 fragmento do RAGEs. Como usado aqui, RAGEs é a proteína do RAGE que não inclui a região da transmembrana ou a cauda citoplásmica (Park et al., *Nature Med.*, 4:1025-1031 (1998)). Por exemplo, o polipeptídeo do RAGE pode compreender RAGEs humano, ou um fragmento deste, com Glicina como o primeiro
10 resíduo ao invés de uma Metionina (Ver por exemplo, Neeper et al., (1992)). Ou, um polipeptídeo do RAGE pode compreender RAGEs humano com a sequência de sinal removida (Ver por exemplo, SEQ ID Nº: 5 ou SEQ ID Nº: 6 na FIG. 1C ou SEQ ID Nº: 45 na FIG. 16A) ou uma porção dessa sequência de
15 aminoácido.

Em outras formas de realização, a proteína do RAGE pode compreender um domínio V do RAGE (Ver por exemplo, SEQ ID Nº: 7 ou SEQ ID Nº: 8 na FIG. 1D (Neeper et al., (1992); Schmidt et al. (1997) ou SEQ ID Nº: 46 na FIG. 16A). Ou, uma
20 sequência pelo menos 90 % idêntica ao domínio V do RAGE ou um fragmento deste podem ser usados.

Ou, a proteína do RAGE pode compreender um fragmento do domínio V do RAGE (por exemplo, SEQ ID Nº: 9 ou SEQ ID Nº: 10 na FIG. 1D ou SEQ ID Nº: 47 na FIG. 16A). Em
25 uma forma de realização a proteína do RAGE pode compreender um sítio de ligação do ligante. Em uma forma de realização, o sítio de ligação do ligante pode compreender a SEQ ID Nº: 9, ou uma sequência pelo menos 90 % idêntica a esta, ou SEQ

ID Nº: 10, ou uma seqüência pelo menos 90 % idêntica a esta, ou SEQ ID Nº: 47, ou uma seqüência pelo menos 90 % idêntica a esta. Ainda em uma outra forma de realização, o fragmento do RAGE é um peptídeo sintético.

5 Assim, o polipeptídeo do RAGE usado nas proteínas de fusão do RAGE da presente invenção pode compreender um fragmento do RAGE de comprimento pleno. Como é conhecido na técnica, RAGE compreende três domínios de polipeptídeo semelhantes à imunoglobulina, o domínio V, e os domínios C1
10 e C2 cada um ligado entre si por um ligador de interdomínio. O RAGE de comprimento pleno também inclui um polipeptídeo de transmembrana e uma cauda citoplásmica a jusante (C-terminal) do domínio C2, e ligado ao domínio C2.

Em uma forma de realização, o polipeptídeo do RAGE
15 não inclui quaisquer resíduos de seqüência de sinal. A seqüência de sinal do RAGE pode compreender resíduos 1-22 ou resíduos 1-23 do RAGE de comprimento pleno. Além disso, como é conhecido na técnica, nas formas de realização onde o N-terminal da proteína de fusão é glutamina, (por exemplo, a
20 seqüência de sinal compreende resíduos 1-23), a glutamina N-terminal (Q24) pode ciclizar para formar ácido piroglutâmico (pE). Construções de exemplo de tais moléculas são mostradas como SEQ ID Nºs: 45, 46, 47, 48, 49, 50, e 51, assim como proteínas de fusão do RAGE mostradas como 56 e 57.

25 Como reconhecido na técnica, a região C_H3 da proteína de fusão do RAGE da presente invenção pode ter seu aminoácido C-terminal separado por clivagem através de uma modificação pós tradução quando expressado em certos

sistemas recombinantes. (Ver por exemplo, Li, et al., BioProcessing J. 2005;4, 23-30). Em uma forma de realização, o aminoácido C-terminal separado por clivagem é lisina (K).

Assim, em várias formas de realização, o

5 polipeptídeo do RAGE pode compreender aminoácidos 23-116 do RAGE humano (SEQ ID Nº: 7) ou uma sequência pelo menos 90 % idêntica a esta, ou aminoácidos 24-116 do RAGE humano (SEQ ID Nº: 8) ou uma sequência pelo menos 90 % idêntica a esta, ou aminoácidos 24-116 do RAGE humano onde Q24 cicliza para

10 formar pE (SEQ ID Nº: 46) ou uma sequência pelo menos 90 % idêntica a esta, correspondendo ao domínio V do RAGE. Ou, o polipeptídeo do RAGE pode compreender aminoácidos 124-221 do RAGE humano (SEQ ID Nº: 11) ou uma sequência pelo menos 90 % idêntica a esta, correspondendo ao domínio C1 do RAGE. Em

15 uma outra forma de realização, o polipeptídeo do RAGE pode compreender aminoácidos 227-317 do RAGE humano (SEQ ID Nº: 12) ou uma sequência pelo menos 90 % idêntica a esta, correspondendo ao domínio C2 do RAGE. Ou, o polipeptídeo do RAGE pode compreender aminoácidos 23-123 do RAGE humano (SEQ

20 ID Nº: 13) ou uma sequência pelo menos 90 % idêntica a esta, ou aminoácidos 24-123 do RAGE humano (SEQ ID Nº: 14) ou uma sequência pelo menos 90 % idêntica a esta, correspondendo ao domínio V do RAGE e um ligador de interdomínio a jusante. Ou, o polipeptídeo do RAGE pode compreender aminoácidos 24-

25 123 do RAGE humano onde Q24 cicliza para formar pE (SEQ ID Nº: 48) ou uma sequência pelo menos 90 % idêntica a esta. Ou, o polipeptídeo do RAGE pode compreender aminoácidos 23-226 do RAGE humano (SEQ ID Nº: 17) ou uma sequência pelo

menos 90 % idêntica a esta, ou aminoácidos 24-226 do RAGE humano (SEQ ID Nº: 18) ou uma sequência pelo menos 90 % idêntica a esta, correspondendo ao domínio V, o domínio C1 e o ligador de interdomínio ligando estes dois domínios. Ou, o polipeptídeo do RAGE pode compreender aminoácidos 24-226 do RAGE humano onde Q24 cicliza para formar pE (SEQ ID Nº: 50), ou uma sequência 90 % idêntica a esta. Ou, o polipeptídeo do RAGE pode compreender aminoácidos 23-339 do RAGE humano (SEQ ID Nº: 5) ou uma sequência pelo menos 90 % idêntica a esta, ou 24-339 do RAGE humano (SEQ ID Nº: 6) ou uma sequência pelo menos 90 % idêntica a esta, correspondendo ao RAGEs (isto é, codificando os domínios V, C1, e C2 e ligadores de interdomínio). Ou, o polipeptídeo do RAGE pode compreender aminoácidos 24-339 do RAGE humano onde Q24 cicliza para formar pE (SEQ ID Nº: 45) ou uma sequência pelo menos 90 % idêntica a esta. Ou, fragmentos de cada uma destas sequências podem ser usados.

A proteína de fusão do RAGE pode incluir vários tipos de peptídeos que não são derivados do RAGE ou um fragmento deste. O segundo polipeptídeo da proteína de fusão do RAGE pode compreender um polipeptídeo derivado de uma imunoglobulina. Em uma forma de realização, o polipeptídeo da imunoglobulina pode compreender uma cadeia pesada de imunoglobulina ou uma porção (isto é, fragmento) desta. Por exemplo, o fragmento da cadeia pesada pode compreender um polipeptídeo derivado do fragmento Fc de uma imunoglobulina, em que o fragmento Fc compreende o polipeptídeo de articulação de cadeia pesada, e os domínios C_H2 e C_H3 da

cadeia pesada de imunoglobulina como um monômero. A cadeia pesada (ou porção desta) pode ser derivada de qualquer um dos isotipos de cadeia pesada conhecidos: IgG (γ), IgM (μ), IgD (δ), IgE (ϵ), ou IgA (α). Além disso, a cadeia pesada (ou porção desta) pode ser derivada de qualquer um dos subtipos de cadeia pesada conhecidos: IgG1 (γ 1), IgG2 (γ 2), IgG3 (γ 3), IgG4 (γ 4), IgA1 (α 1), IgA2 (α 2), ou mutações destes isotipos ou subtipos que alteram a atividade biológica. O segundo polipeptídeo pode compreender os domínios C_H2 e C_H3 de uma IgG1 humana ou porções de qualquer um ou ambos estes domínios. Como formas de realização de exemplo, o polipeptídeo compreendendo os domínios C_H2 e C_H3 de uma IgG1 humana ou uma porção desta pode compreender a SEQ ID N^o: 38 ou SEQ ID N^o: 40. O peptídeo da imunoglobulina pode ser codificado pela sequência de ácido nucléico da SEQ ID N^o: 39 ou SEQ ID N^o: 41. A sequência da imunoglobulina na SEQ ID N^o: 38 ou SEQ ID N^o: 40 também pode ser codificada pela SEQ ID N^o: 52 ou SEQ ID N^o: 53, onde mutações de base silenciosas para os códonos que codificam para prolina (CCG para CCC) e glicina (GGT para GGG) no C-terminal da sequência removem um sítio de união de RNA críptico próximo ao códon terminal.

A porção Fc da cadeia da imunoglobulina pode ser pró-inflamatória *in vivo*. Assim, em uma forma de realização, a proteína de fusão do RAGE da presente invenção compreende um ligador de interdomínio derivado do RAGE ao invés de um polipeptídeo de articulação de interdomínio derivado de uma imunoglobulina.

Assim, em uma forma de realização, a proteína de fusão do RAGE pode compreender um polipeptídeo do RAGE diretamente ligado a um polipeptídeo compreendendo um domínio C_H2 de uma imunoglobulina, ou um fragmento ou porção
5 do domínio C_H2 de uma imunoglobulina. Em uma forma de realização, o domínio C_H2, ou um fragmento deste compreende a SEQ ID N^o: 42. Em uma forma de realização, o fragmento da SEQ ID N^o: 42 compreende a SEQ ID N^o: 42 com os dez primeiros aminoácidos removidos. Em uma forma de realização,
10 o polipeptídeo do RAGE pode compreender um sítio de ligação do ligante. O sítio de ligação do ligante do RAGE pode compreender o domínio V do RAGE, ou uma porção deste. Em uma forma de realização, o sítio de ligação do ligante do RAGE compreende a SEQ ID N^o: 9 ou uma sequência pelo menos 90 %
15 idêntica a esta, ou SEQ ID N^o: 10 ou uma sequência pelo menos 90 % idêntica a esta, ou SEQ ID N^o: 47, ou uma sequência pelo menos 90 % idêntica a esta.

O polipeptídeo do RAGE usado nas proteínas de fusão do RAGE da presente invenção pode compreender um
20 domínio da imunoglobulina do RAGE. Adicional ou alternativamente, o fragmento do RAGE pode compreender um ligador de interdomínio. Ou, o polipeptídeo do RAGE pode compreender um domínio da imunoglobulina do RAGE ligado a um ligador de interdomínio a montante (isto é, mais próximo ao
25 N-terminal) ou a jusante (isto é, mais próximo ao C-terminal). Ainda em uma outra forma de realização, o polipeptídeo do RAGE pode compreender dois (ou mais) domínios da imunoglobulina do RAGE cada um ligado entre si

por um ligador de interdomínio. O polipeptídeo do RAGE pode compreender ainda múltiplos domínios da imunoglobulina do RAGE ligados entre si por um ou mais ligadores de interdomínio e tendo um ligador de interdomínio terminal
5 ligado ao domínio da imunoglobulina do RAGE N-terminal e/ou o domínio da imunoglobulina C-terminal. Combinações adicionais de domínios da imunoglobulina do RAGE e ligadores de interdomínio estão dentro do escopo da presente invenção.

Em uma forma de realização, o polipeptídeo do RAGE
10 compreende um ligador de interdomínio do RAGE ligado a um domínio da imunoglobulina do RAGE tal que o aminoácido C-terminal do domínio da imunoglobulina do RAGE seja ligado ao aminoácido N-terminal do ligador de interdomínio, e o aminoácido C-terminal do ligador de interdomínio do RAGE
15 seja diretamente ligado ao aminoácido N-terminal de um polipeptídeo compreendendo um domínio C_H2 de uma imunoglobulina, ou um fragmento deste. O polipeptídeo compreendendo um domínio C_H2 de uma imunoglobulina pode compreender os domínios C_H2 e C_H3 de uma IgG1 humana ou uma
20 porção de qualquer um ou ambos estes domínios. Como uma forma de realização de exemplo, o polipeptídeo compreendendo os domínios C_H2 e C_H3 , ou uma porção destes, de uma IgG1 humana pode compreender a SEQ ID N^o: 38 ou a SEQ ID N^o: 40.

Como descrito acima, a proteína de fusão do RAGE
25 da presente invenção pode compreender um domínio único ou domínios múltiplos do RAGE. Também, o polipeptídeo do RAGE compreendendo um ligador de interdomínio ligado a um domínio de polipeptídeo do RAGE pode compreender um fragmento de

proteína do RAGE de comprimento pleno. Por exemplo, o polipeptídeo do RAGE pode compreender aminoácidos 23-136 do RAGE humano (SEQ ID Nº: 15) ou uma sequência pelo menos 90 % idêntica a esta ou aminoácidos 24-136 do RAGE humano (SEQ ID

5 Nº: 16) ou uma sequência pelo menos 90 % idêntica a esta, ou aminoácidos 24-136 do RAGE humano onde Q24 cicliza para formar pE (SEQ ID Nº: 49), ou uma sequência pelo menos 90 % idêntica a esta, correspondendo ao domínio V do RAGE e um ligador de interdomínio a jusante. Ou, o polipeptídeo do

10 RAGE pode compreender aminoácidos 23-251 do RAGE humano (SEQ ID Nº: 19) ou uma sequência pelo menos 90 % idêntica a esta, ou aminoácidos 24-251 do RAGE humano (SEQ ID Nº: 20) ou uma sequência pelo menos 90 % idêntica a esta, ou aminoácidos 24-251 do RAGE humano onde Q24 cicliza para formar pE (SEQ ID

15 Nº: 51), ou uma sequência pelo menos 90 %. idêntica a esta, correspondendo ao domínio V, ao domínio C1, ao ligador de interdomínio ligando estes dois domínios, e um segundo ligador de interdomínio a jusante de C1.

Por exemplo, em uma forma de realização, a

20 proteína de fusão do RAGE pode compreender dois domínios da imunoglobulina derivados da proteína do RAGE e dois domínios da imunoglobulina derivados de um polipeptídeo Fc humano. A proteína de fusão do RAGE pode compreender um primeiro domínio da imunoglobulina do RAGE e um primeiro ligador de

25 interdomínio do RAGE ligado a um segundo domínio da imunoglobulina do RAGE e um segundo ligador de interdomínio do RAGE, tal que o aminoácido N-terminal do primeiro ligador de interdomínio seja ligado ao aminoácido C-terminal do

primeiro domínio da imunoglobulina do RAGE, o aminoácido N-terminal do segundo domínio da imunoglobulina do RAGE seja ligado ao aminoácido C-terminal do primeiro ligador de interdomínio, o aminoácido N-terminal do segundo ligador de interdomínio seja ligado ao aminoácido C-terminal do segundo domínio da imunoglobulina do RAGE, e o aminoácido C-terminal do segundo ligador de interdomínio do RAGE seja diretamente ligado ao aminoácido N-terminal do domínio C_H2 da imunoglobulina. Em uma forma de realização, uma proteína de fusão do RAGE de quatro domínios pode compreender SEQ ID N^o: 32. Nas formas de realização alternadas, uma proteína de fusão do RAGE de quatro domínios compreende SEQ ID N^o: 33, SEQ ID NO: 34, ou SEQ ID N^o: 56.

Alternativamente, uma proteína de fusão do RAGE de três domínios pode compreender um domínio da imunoglobulina derivado do RAGE e dois domínios da imunoglobulina derivados de um polipeptídeo de Fc humano. Por exemplo, a proteína de fusão do RAGE pode compreender um domínio da imunoglobulina do RAGE único ligado por intermédio de um ligador de interdomínio do RAGE ao aminoácido N-terminal de um domínio C_H2 da imunoglobulina ou uma porção de um domínio C_H2 da imunoglobulina. Em uma forma de realização, uma proteína de fusão do RAGE de três domínios pode compreender SEQ ID N^o: 35. Nas formas de realização alternadas, uma proteína de fusão do RAGE de três domínios pode compreender SEQ ID N^o: 36, SEQ ID N^o: 37, ou SEQ ID N^o: 57.

Um fragmento do ligador de interdomínio do RAGE pode compreender uma sequência de peptídeo que está

naturalmente a jusante de, e assim, ligada a, um domínio da imunoglobulina do RAGE. Por exemplo, para o domínio V do RAGE, o ligador de interdomínio pode compreender seqüências de aminoácido que estão naturalmente a jusante do domínio V.

5 Em uma forma de realização, o ligador pode compreender SEQ ID Nº: 21, correspondendo aos aminoácidos 117-123 do RAGE de comprimento pleno. Ou, o ligador pode compreender um peptídeo tendo porções adicionais da seqüência natural do RAGE. Por exemplo, um ligador de interdomínio compreendendo

10 vários aminoácidos (por exemplo, 1-3, 1-5, ou 1-10, ou 1-15 aminoácidos) a montante e a jusante da SEQ ID Nº: 21 pode ser usado. Assim, em uma forma de realização, o ligador de interdomínio compreende SEQ ID Nº: 23 compreendendo aminoácidos 117-136 do RAGE de comprimento pleno. Ou,

15 fragmentos da SEQ ID Nº: 21 deletando, por exemplo, 1, 2, ou 3, aminoácidos de qualquer uma extremidade do ligador podem ser usados. Nas formas de realização alternadas, o ligador pode compreender um peptídeo que é pelo menos 70 % idêntico, 75 % idêntico, 80 % idêntico, 85 % idêntico, 90 % idêntico,

20 95 % idêntico, 97 % idêntico, 98 % idêntico, ou 99 % idêntico à SEQ ID Nº: 21 ou SEQ ID Nº: 23.

Para o domínio C1 do RAGE, o ligador pode compreender seqüência de peptídeo que está naturalmente a jusante do domínio C1. Em uma forma de realização, o ligador

25 pode compreender SEQ ID Nº: 22, correspondendo aos aminoácidos 222-251 do RAGE de comprimento pleno. Ou, o ligador pode compreender um peptídeo tendo porções adicionais da seqüência natural do RAGE. Por exemplo, um

ligador compreendendo vários (1-3, 1-5, ou 1-10, ou 1-15 aminoácidos) aminoácidos a montante e a jusante da SEQ ID Nº: 22 pode ser usado. Ou, fragmentos da SEQ ID Nº: 22 podem ser usados, deletando por exemplo, 1-3, 1-5, ou 1-10, ou 1-15 aminoácidos de qualquer uma extremidade do ligador. Por exemplo, em uma forma de realização, um ligador de interdomínio do RAGE pode compreender SEQ ID Nº: 24, correspondendo aos aminoácidos 222-226. Ou um ligador de interdomínio pode compreender SEQ ID Nº: 44, correspondendo aos aminoácidos do RAGE 318-342.

Além disso, uma pessoa de habilidade reconhecerá que substituições, eliminações ou adições individuais que alteram, adicionam ou deletam um aminoácido único ou uma pequena porcentagem de aminoácidos (tipicamente menos do que cerca de 5 %, mais tipicamente menos do que cerca de 1 %) em uma sequência codificada são de forma conservadora variações modificadas onde o resultado das alterações na substituição de um aminoácido com um aminoácido quimicamente similar. Tabelas de substituição conservativa fornecendo aminoácidos funcionalmente similares são bem conhecidas na técnica. Os grupos de exemplo seguintes cada um contêm aminoácidos que são substituições conservativas entre si:

- 1) Alanina (A), Serina (S), Treonina (T);
- 2) Ácido aspártico (D), Ácido glutâmico (E);
- 3) Asparagina (N), Glutamina (Q);
- 4) Arginina (R), Lisina (K);
- 5) Isoleucina (I), Leucine (L), Metionina (M), Valina (V); e

6) Fenilalanina (F), Tirosina (Y), Triptofano (W).

Uma substituição conservativa é uma substituição em que o aminoácido substituinte (que ocorre naturalmente ou modificado) é estruturalmente relacionado ao aminoácido sendo substituído, isto é, tem cerca do mesmo tamanho e propriedades eletrônicas como o aminoácido sendo substituído. Assim, o aminoácido substituinte teria o mesmo ou um grupo funcional similar na cadeia lateral como o aminoácido original. Uma "substituição conservativa" também refere-se à utilização de um aminoácido substituinte que é idêntico ao aminoácido sendo substituído a menos que um grupo funcional na cadeia lateral seja protegido com um grupo de proteção adequado.

Como é conhecido na técnica, aminoácidos podem tornar-se quimicamente modificados de sua estrutura natural, por mecanismos de reação enzimáticos ou não enzimáticos. Por exemplo, em uma forma de realização, um ácido glutâmico ou glutamina N-terminal pode ciclizar, com perda de água, para formar ácido piroglutâmico (piroE ou pE) (Chelius et al., *Anal. Chem*, 78: 2370-2376 (2006) e Burstein et al, *Proc. National Acad. Sci.*, 73:2604-2608 (1976)). Além disso, uma proteína de fusão do RAGE da SEQ ID Nº: 56 pode potencialmente ser acessada através de uma sequência de ácido nucléico codificando para ácido glutâmico no resíduo 24 ao invés de uma glutamina no resíduo 24 (com base na numeração do RAGE de comprimento pleno).

Métodos de Produzir Proteínas de Fusão do RAGE

A presente invenção também compreende um método

para fabricar uma proteína de fusão do RAGE. Assim, em uma forma de realização, a presente invenção compreende um método de fabricar uma proteína de fusão do RAGE compreendendo a etapa de covalentemente ligar um polipeptídeo do RAGE ligado a um segundo, polipeptídeo não RAGE em que o polipeptídeo do RAGE compreende um sítio de ligação do ligante do RAGE. Por exemplo, o polipeptídeo do RAGE ligado e o segundo, polipeptídeo não RAGE podem ser codificados por uma construção de DNA recombinante. O método pode compreender ainda a etapa da incorporação de construção do DNA em um vetor de expressão. Também, o método pode compreender a etapa da introdução do vetor de expressão em uma célula hospedeira.

Por exemplo, formas de realização da presente invenção fornecem proteínas de fusão do RAGE compreendendo um polipeptídeo do RAGE ligado a um segundo, polipeptídeo não RAGE. Em uma forma de realização, a proteína de fusão do RAGE pode compreender um sítio de ligação do ligante do RAGE. Em uma forma de realização, o sítio de ligação do ligante compreende a maior parte do domínio N-terminal da proteína de fusão do RAGE. O sítio de ligação do ligante do RAGE pode compreender o domínio V do RAGE, ou uma porção deste. Em uma forma de realização, o sítio de ligação do ligante do RAGE compreende SEQ ID Nº: 9 ou uma sequência pelo menos 90 % idêntica a esta, ou SEQ ID Nº: 10 ou uma sequência pelo menos 90 % idêntica a esta; ou SEQ ID Nº: 47, ou uma sequência pelo menos 90 % idêntica a esta.

Em uma forma de realização, o polipeptídeo do RAGE

pode ser ligado a um polipeptídeo compreendendo um domínio da imunoglobulina ou uma porção (por exemplo, um fragmento desta) de um domínio da imunoglobulina. Em uma forma de realização, o polipeptídeo compreendendo um domínio da
5 imunoglobulina compreende pelo menos uma porção de pelo menos um dos domínios C_H2 ou C_H3 de uma IgG humana.

A proteína de fusão do RAGE pode ser engendrada por técnicas de DNA recombinante. Por exemplo, em uma forma de realização, a presente invenção pode compreender uma
10 sequência de ácido nucléico isolada compreendendo, complementar ou ter identidade significativa com uma sequência de polinucleotídeo que codifica para um polipeptídeo do RAGE ligado a um segundo, polipeptídeo não RAGE. Em uma forma de realização, o polipeptídeo do RAGE
15 pode compreender um sítio de ligação do ligante do RAGE.

A proteína ou polipeptídeo do RAGE pode compreender RAGE humano de comprimento pleno (por exemplo, SEQ ID Nº: 1), ou um fragmento do RAGE humano. Em uma forma de realização, o polipeptídeo do RAGE não inclui quaisquer
20 resíduos de sequência de sinal. A sequência de sinal do RAGE pode compreender os resíduos 1-22 ou os resíduos 1-23 do RAGE de comprimento pleno (SEQ ID Nº: 1). Nas formas de realização alternadas, o polipeptídeo do RAGE pode compreender uma sequência que é pelo menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 % ou 99 % idêntica ao RAGE
25 humano, ou um fragmento desta. Por exemplo, em uma forma de realização, o polipeptídeo do RAGE pode compreender RAGE humano, ou um fragmento deste, com Glicina como o primeiro

resíduo ao invés de uma Metionina (ver por exemplo, Neeper *et al.*, (1992)). Ou, o RAGE humano pode compreender RAGE de comprimento pleno com a seqüência de sinal removida (por exemplo, SEQ ID Nº: 2 ou SEQ ID Nº: 3) (FIGS. 1A e 1B) ou
5 uma porção dessa seqüência de aminoácido. As proteínas de fusão do RAGE da presente invenção também podem compreender RAGEs (por exemplo, SEQ ID Nº: 4), um polipeptídeo pelo menos 90 % idêntico ao RAGEs, ou um fragmento do RAGEs. Por exemplo, o polipeptídeo do RAGE pode compreender RAGEs
10 humano, ou um fragmento deste, com Glicina como o primeiro resíduo ao invés de uma Metionina (ver por exemplo, Neeper *et al.*, (1992)). Ou, o RAGE humano pode compreender RAGEs com a seqüência de sinal removida (Ver por exemplo, SEQ ID Nº: 5 ou SEQ ID Nº: 6 na FIG. 1C ou SEQ ID Nº: 45 na FIG.
15 16A) ou uma porção dessa seqüência de aminoácido. Em outras formas de realização, a proteína do RAGE pode compreender um domínio V (Ver por exemplo, SEQ ID Nº: 7 ou SEQ ID Nº: 8 na FIG. 1D ou SEQ ID Nº: 46 na FIG. 16A). Ou, uma seqüência pelo menos 90 % idêntica ao domínio V ou um fragmento desta
20 pode ser usado. Ou, a proteína do RAGE pode compreender um fragmento do RAGE compreendendo uma porção do domínio V (Ver por exemplo, SEQ ID Nº: 9 ou SEQ ID Nº: 10 na FIG. 1D ou SEQ ID Nº: 47 na FIG. 16A). Em uma forma de realização, o sítio de ligação do ligante pode compreender SEQ ID Nº: 9, ou uma
25 seqüência pelo menos 90 % idêntica a esta, ou SEQ ID Nº: 10, ou uma seqüência pelo menos 90 % idêntica a esta, ou SEQ ID Nº: 47, ou uma seqüência pelo menos 90 % idêntica a esta. Ainda em uma outra forma de realização, o fragmento do RAGE

é um peptídeo sintético.

Em uma forma de realização, a sequência de ácido nucléico compreende SEQ ID N°: 25 para codificar aminoácidos 1-118 do RAGE humano ou um fragmento deste. Por exemplo, uma
 5 sequência compreendendo nucleotídeos 1-348 da SEQ ID N°: 25 podem ser usadas para codificar aminoácidos 1-116 do RAGE humano. Ou, o ácido nucléico pode compreender SEQ ID N°: 26 para codificar aminoácidos 1-123 do RAGE humano. Ou, o ácido nucléico pode compreender SEQ ID N°: 27 para codificar
 10 aminoácidos 1-136 do RAGE humano. Ou, o ácido nucléico pode compreender SEQ ID N°: 28 para codificar aminoácidos 1-230 do RAGE humano. Ou, o ácido nucléico pode compreender SEQ ID N°: 29 para codificar aminoácidos 1-251 do RAGE humano. Ou fragmentos destas sequências de ácido nucléico podem ser
 15 usados para codificar fragmentos de polipeptídeo do RAGE.

A proteína de fusão do RAGE pode incluir vários tipos de peptídeos que não são derivados do RAGE ou um fragmento deste. O segundo polipeptídeo da proteína de fusão do RAGE pode compreender um polipeptídeo derivado de uma
 20 imunoglobulina. A cadeia pesada (ou porção desta) pode ser derivada de qualquer um dos isotipos de cadeia pesada conhecidos: IgG (γ), IgM (μ), IgD (δ), IgE (ϵ), ou IgA (α). Além disso, a cadeia pesada (ou porção desta) pode ser derivada de qualquer um dos subtipos de cadeia pesada
 25 conhecidos: IgG1 (γ 1), IgG2 (γ 2), IgG3 (γ 3), IgG4 (γ 4), IgA1 (α 1), IgA2 (α 2), ou mutações destes isotipos ou subtipos que alteram a atividade biológica. O segundo polipeptídeo pode compreender os domínios C_H2 e C_H3 de uma IgG1 humana ou uma

porção de qualquer um ou ambos estes domínios. Como formas de realização de exemplo, o polipeptídeo compreendendo os domínios C_H2 e C_H3 de uma IgG1 humana ou uma porção deste pode compreender SEQ ID N^o: 38 ou SEQ ID N^o: 40. O peptídeo da imunoglobulina pode ser codificado pela seqüência de ácido nucléico da SEQ ID N^o: 39 ou SEQ ID N^o: 41. Nas formas de realização alternadas, a seqüência da imunoglobulina na SEQ ID N^o: 38 ou na SEQ ID N^o: 40 também pode ser codificada pela SEQ ID N^o: 52 ou SEQ ID N^o: 53, respectivamente.

10 A porção Fc da cadeia da imunoglobulina pode ser pró-inflamatória *in vivo*. Assim, a proteína de fusão do RAGE da presente invenção pode compreender um ligador de interdomínio derivado do RAGE ao invés de um polipeptídeo de articulação de interdomínio derivado de uma imunoglobulina. 15 Por exemplo, em uma forma de realização, a proteína de fusão do RAGE pode ser codificada por uma construção de DNA recombinante. Também, o método pode compreender a etapa da incorporação da construção de DNA em um vetor de expressão. Também, o método pode compreender a transferência do vetor 20 de expressão em uma célula hospedeira.

Assim, em uma forma de realização, a presente invenção compreende um método de fabricar uma proteína de fusão do RAGE compreendendo a etapa de covalentemente ligar um polipeptídeo do RAGE a um polipeptídeo compreendendo um domínio C_H2 de uma imunoglobulina ou uma porção de um 25 domínio C_H2 de uma imunoglobulina. Em uma forma de realização, a proteína de fusão do RAGE pode compreender um sítio de ligação do ligante do RAGE. O sítio de ligação do

ligante do RAGE pode compreender o domínio V do RAGE, ou uma porção deste. Em uma forma de realização, o sítio de ligação do ligante do RAGE compreende SEQ ID N°: 9 ou uma sequência pelo menos 90 % idêntica a esta, ou SEQ ID N°: 10 ou uma
 5 sequência pelo menos 90 % idêntica a esta, ou SEQ ID N°: 47, ou uma sequência pelo menos 90 % idêntica a esta.

Por exemplo, em uma forma de realização, a presente invenção compreende um ácido nucléico codificando um polipeptídeo do RAGE diretamente ligado a um polipeptídeo
 10 compreendendo um domínio C_{H2} de uma imunoglobulina, ou um fragmento deste. Em uma forma de realização, o domínio C_{H2}, ou um fragmento deste, compreende SEQ ID N°: 42. Em uma forma de realização, o fragmento da SEQ N°: 42 compreende SEQ ID N°: 42 com os dez primeiros aminoácidos removidos. O
 15 segundo polipeptídeo pode compreender os domínios C_{H2} e C_{H3} de uma IgG1 humana. Como uma forma de realização de exemplo, o polipeptídeo compreendendo os domínios C_{H2} e C_{H3} de uma IgG1 humana pode compreender SEQ ID N°: 38 ou SEQ ID N°: 40. O peptídeo da imunoglobulina pode ser codificado pela
 20 sequência de ácido nucléico da SEQ ID N°: 39 ou SEQ ID N°: 41. A sequência da imunoglobulina na SEQ ID N°: 38 ou na SEQ ID N°: 40 também pode ser codificada pela SEQ ID N°: 52 ou SEQ ID N°: 53, onde mutações de base silenciosas para os códons que codificam para prolina (CCG para CCC) e glicina
 25 (GGT para GGG) no C-terminal da sequência removem um sítio de união de RNA críptico próximo ao códon terminal.

Em uma forma de realização, o polipeptídeo do RAGE pode compreender um ligador de interdomínio do RAGE ligado a

um domínio da imunoglobulina do RAGE tal que o aminoácido C-terminal do domínio da imunoglobulina do RAGE é ligado ao aminoácido N-terminal do ligador de interdomínio, e o aminoácido C-terminal do ligador de interdomínio do RAGE é
5 diretamente ligado ao aminoácido N-terminal de um polipeptídeo compreendendo um domínio C_H2 de uma imunoglobulina, ou um fragmento deste. O polipeptídeo compreendendo um domínio $CH2$ de uma imunoglobulina, ou um porção deste, pode compreender um polipeptídeo compreendendo
10 os domínios C_H2 e C_H3 de uma IgG1 humana ou uma porção de qualquer um ou ambos estes domínios. Como uma forma de realização de exemplo, o polipeptídeo compreendendo os domínios C_H2 e C_H3 de uma IgG1 humana, ou uma porção destes, pode compreender SEQ ID N°: 38 ou SEQ ID N°: 40.

15 A proteína de fusão do RAGE da presente invenção pode compreender um domínio único ou domínios múltiplos do RAGE. Também, o polipeptídeo do RAGE compreendendo um ligador de interdomínio ligado a um domínio da imunoglobulina do RAGE pode compreender um fragmento de um
20 proteína do RAGE de comprimento pleno. Por exemplo, em uma forma de realização, a proteína de fusão do RAGE pode compreender dois domínios da imunoglobulina derivados da proteína do RAGE e dois domínios da imunoglobulina derivados de um polipeptídeo Fc humano. A proteína de fusão do RAGE
25 pode compreender um primeiro domínio da imunoglobulina do RAGE e um primeiro ligador de interdomínio ligado a um segundo domínio da imunoglobulina do RAGE e um segundo ligador de interdomínio do RAGE, tal que o aminoácido N-

terminal do primeiro ligador de interdomínio é ligado ao aminoácido C-terminal do primeiro domínio da imunoglobulina do RAGE, o aminoácido N-terminal do segundo domínio da imunoglobulina do RAGE é ligado ao aminoácido C-terminal do primeiro ligador de interdomínio, o aminoácido N-terminal do segundo ligador de interdomínio é ligado ao aminoácido C-terminal do segundo domínio da imunoglobulina do RAGE, e o aminoácido C-terminal do segundo ligador de interdomínio do RAGE é diretamente ligado ao aminoácido N-terminal do polipeptídeo compreendendo um domínio da imunoglobulina C_H2 ou fragmento deste. Por exemplo, o polipeptídeo do RAGE pode compreender aminoácidos 23-251 do RAGE humano (SEQ ID N^o: 19) ou uma seqüência pelo menos 90 % idêntica a esta, ou aminoácidos 24-251 do RAGE humano (SEQ ID N^o: 20) ou uma seqüência pelo menos 90 % idêntica a esta, ou aminoácidos 24-251 do RAGE humano onde Q24 cicliza para formar pE (SEQ ID N^o: 51) ou uma seqüência pelo menos 90 % idêntica a esta, correspondendo ao domínio V, ao domínio C1, ao ligador de interdomínio ligando estes dois domínios, e um segundo ligador de interdomínio a jusante de C1. Em uma forma de realização, uma construção de ácido nucléico compreendendo SEQ ID N^o: 30 ou um fragmento desta pode codificar para uma proteína de fusão do RAGE de quatro domínios. Em uma outra forma de realização, a construção de ácido nucléico compreendendo SEQ ID N^o: 54 pode codificar para uma proteína de fusão do RAGE de quatro domínios, onde mutações de base silenciosas para os códons que codificam para prolina (CCG para CCC) e glicina (GGT para GGG) no C-terminal da

seqüência são penetradas para remover um sítio de união de RNA críptico próximo ao códon terminal.

Alternativamente, uma proteína de fusão do RAGE de três domínios pode compreender um domínio da imunoglobulina derivado do RAGE e dois domínios da imunoglobulina derivados de um polipeptídeo Fc humano. Por exemplo, a proteína de fusão do RAGE pode compreender um domínio da imunoglobulina do RAGE único ligado por intermédio de um ligador de interdomínio do RAGE ao aminoácido N-terminal do polipeptídeo compreendendo um domínio da imunoglobulina C_H2 ou um fragmento deste. Por exemplo, o polipeptídeo do RAGE pode compreender aminoácidos 23-136 do RAGE humano (SEQ ID Nº: 15) ou uma seqüência pelo menos 90 % idêntica a esta ou aminoácidos 24-136 do RAGE humano (SEQ ID Nº: 16) ou uma seqüência pelo menos 90 % idêntica a esta, ou aminoácidos 24-136 do RAGE humano onde Q24 cicliza para formar pE (SEQ ID Nº: 49) ou uma seqüência pelo menos 90 % idêntica a esta, correspondendo ao domínio V do RAGE e um ligador de interdomínio a jusante. Em uma forma de realização, uma construção de ácido nucléico compreendendo SEQ ID Nº: 31 ou um fragmento desta pode codificar para uma proteína de fusão do RAGE de três domínios. Em uma outra forma de realização, a construção de ácido nucléico compreendendo SEQ ID Nº: 55 pode codificar para uma proteína de fusão do RAGE de três domínios, onde mutações de base silenciosas para os códons que codificam para prolina (CCG para CCC) e glicina (GGT para GGG) no C-terminal da seqüência removem um sítio de união de RNA críptico próximo ao códon terminal.

Um fragmento do ligador de interdomínio do RAGE pode compreender uma seqüência de peptídeo que está naturalmente a jusante de, e assim, ligada a, um domínio da imunoglobulina do RAGE. Por exemplo, para o domínio V do RAGE, o ligador de interdomínio pode compreender seqüências de aminoácido que estão naturalmente a jusante do domínio V. Em uma forma de realização, o ligador pode compreender SEQ ID Nº: 21, correspondendo aos aminoácidos 117-123 do RAGE de comprimento pleno. Ou, o ligador pode compreender um peptídeo tendo porções adicionais da seqüência natural do RAGE. Por exemplo, um ligador de interdomínio compreendendo vários aminoácidos (por exemplo, 1-3, 1-5, ou 1-10, ou 1-15 aminoácidos) a montante e a jusante da SEQ ID Nº: 21 pode ser usado. Assim, em uma forma de realização, o ligador de interdomínio compreende SEQ ID Nº: 23 compreendendo aminoácidos 117-136 do RAGE de comprimento pleno. Ou, fragmentos da SEQ ID Nº: 21 deletando, por exemplo, 1, 2, ou 3, aminoácidos de qualquer uma extremidade do ligador podem ser usados. Nas formas de realização alternadas, o ligador pode compreender uma seqüência que é pelo menos 70 % idêntica, ou 80 % idêntica, ou 90 % idêntica à SEQ ID Nº: 21 ou à SEQ ID Nº: 23.

Para o domínio C1 do RAGE, o ligador pode compreender uma seqüência de peptídeo que está naturalmente a jusante do domínio C1. Em uma forma de realização, o ligador pode compreender SEQ ID Nº: 22, correspondendo aos aminoácidos 222-251 do RAGE de comprimento pleno. Ou, o ligador pode compreender um peptídeo tendo porções

adicionais da sequência natural do RAGE. Por exemplo, um ligador compreendendo vários (1-3, 1-5, ou 1-10, ou 1-15 aminoácidos) aminoácidos a montante e a jusante da SEQ ID Nº: 22 pode ser usado. Ou, fragmentos da SEQ ID Nº: 22 podem ser usados, deletando por exemplo, 1-3, 1-5, ou 1-10, ou 1-15 aminoácidos de qualquer uma extremidade do ligador. Por exemplo, em uma forma de realização, um ligador de interdomínio do RAGE pode compreender SEQ ID Nº: 24, correspondendo aos aminoácidos 222-226. Ou um ligador de interdomínio pode compreender SEQ ID Nº: 44, correspondendo aos aminoácidos do RAGE 318-342.

O método pode compreender ainda a etapa de incorporação da construção do DNA em um vetor de expressão. Assim, em uma forma de realização, a presente invenção compreende um vetor de expressão que codifica para uma proteína de fusão do RAGE compreendendo um polipeptídeo do RAGE diretamente ligado a um polipeptídeo compreendendo um domínio C_{H2} de uma imunoglobulina ou uma porção de um domínio C_{H2} de uma imunoglobulina. Em uma forma de realização, o polipeptídeo do RAGE compreende construções, tais como aquelas descritas aqui, tendo um ligador de interdomínio do RAGE ligado a um domínio da imunoglobulina do RAGE tal que o aminoácido C-terminal do domínio da imunoglobulina do RAGE é ligado ao aminoácido N-terminal do ligador de interdomínio, e o aminoácido C-terminal do ligador de interdomínio do RAGE é diretamente ligado ao aminoácido N-terminal de um polipeptídeo compreendendo um domínio C_{H2} de uma imunoglobulina, ou uma porção deste. Por

exemplo, o vetor de expressão usado para transfectar as células pode compreender a sequência de ácido nucléico SEQ ID Nº: 30, ou um fragmento desta, SEQ ID Nº: 54, ou um fragmento desta, SEQ ID Nº: 31, ou um fragmento desta, ou
5 SEQ ID Nº: 55, ou um fragmento desta.

O método pode compreender ainda a etapa de transfectar uma célula com o vetor de expressão da presente invenção. Assim, em uma forma de realização, a presente invenção compreende uma célula transfectada com o vetor de
10 expressão que expressou a proteína de fusão do RAGE da presente invenção, tal que a célula expressa uma proteína de fusão do RAGE compreendendo um polipeptídeo do RAGE diretamente ligado a um polipeptídeo compreendendo um domínio C_{H2} de uma imunoglobulina ou uma porção de um
15 domínio C_{H2} de uma imunoglobulina. Em uma forma de realização, o polipeptídeo do RAGE compreende construções, tais como aquelas descritas aqui, tendo um ligador de interdomínio do RAGE ligado a um domínio da imunoglobulina do RAGE tal que o aminoácido C-terminal do domínio da
20 imunoglobulina do RAGE é ligado ao aminoácido N-terminal do ligador de interdomínio, e o aminoácido C-terminal do ligador de interdomínio do RAGE é diretamente ligado ao aminoácido N-terminal de um polipeptídeo compreendendo um domínio C_{H2} de uma imunoglobulina, ou uma porção deste. Por
25 exemplo, o vetor de expressão pode compreender a sequência de ácido nucléico SEQ ID Nº: 30, ou um fragmento desta, SEQ ID Nº: 54, ou um fragmento desta, SEQ ID Nº: 31, ou um fragmento desta, ou SEQ ID Nº: 55, ou um fragmento desta.

Por exemplo, os plasmídeos podem ser construídos para expressar proteínas de fusão RAGE-IgG por fusão de diferente comprimentos de uma sequência de DNAC 5' do RAGE humano com uma sequência de DNA 3' da IgG1 humana (γ 1). As
5 sequências do cassette de expressão podem ser inseridas em um vetor de expressão tal como vetor de expressão pcDNA3.1 (Invitrogen, CA) usando técnicas recombinantes padrão.

Também, o método pode compreender transfectar o vetor de expressão em uma célula hospedeira. Proteínas de
10 fusão do RAGE podem ser expressadas em sistemas de expressão de mamífero, incluindo sistemas em que as construções de expressão são introduzidas nas células do mamífero usando vírus tais como retrovírus ou adenovírus. Linhagens de células de mamífero disponíveis como hospedeiras para a
15 expressão são bem conhecidas na técnica e incluem muitas linhagens de células imortalizadas disponíveis da American Type Culture Collection (ATCC). Estas incluem, *inter alia*, células de ovário de hamster chinês (CHO), NSO, células SP2, células HeLa, células renais de filhote de hamster (BHK),
20 células renais de macaco (COS), células de carcinoma hepatocelular humanas (por exemplo, Hep G2), células A549, e várias outras linhagens de células. As linhagens de células podem ser selecionadas através da determinação de que linhagens de células têm níveis de expressão altos de uma
25 proteína de fusão do RAGE. Outras linhagens de células que podem ser usadas são linhagens de células de inseto, tais como células Sf9. Células hospedeiras de plantas incluem, por exemplo, *Nicotiana*, *Arabidopsis*, lentilha d'água, milho,

trigo, batata, etc. Células hospedeiras bacterianas incluem espécies *E. coli* e *Streptomyces*. Células hospedeiras de levedura incluem *Schizosaccharomyces pombe*, *Saccharomyces cerevisiae* e *Pichia pastoris*. Quando vetores de expressão recombina-
5 tes codificando genes de proteína de fusão do RAGE são introduzidos em células hospedeiras do mamífero, as proteínas de fusão do RAGE são produzidas por cultura das células hospedeiras durante um período de tempo suficiente para levar em consideração a expressão da proteína de fusão
10 do RAGE nas células hospedeiras ou segregação da proteína de fusão do RAGE no meio da cultura em que as células hospedeiras são cultivadas. Proteínas de fusão do RAGE podem ser recuperadas do meio da cultura usando métodos de purificação de proteína padrão.

15 Moléculas de ácido nucléico codificando proteínas de fusão do RAGE e vetores de expressão compreendendo estas moléculas de ácido nucléico podem ser usados para transfecção de uma célula hospedeira de mamífero, planta, bacteriana ou de levedura adequada. A transformação pode ser
20 por qualquer método conhecido para introduzir polinucleotídeos em uma célula hospedeira. Métodos para introdução de polinucleotídeos heterólogos em células do mamífero são bem conhecidos na técnica e incluem transfecção mediada por dextrano, precipitação de fosfato de cálcio,
25 transfecção mediada por polibreno, fusão de protoplasta, eletroporação, encapsulamento do(s) polinucleotídeo(s) em lipossomas, e microinjeção direta do DNA nos núcleos. Além disso, moléculas de ácido nucléico podem ser introduzidas em

células do mamífero por vetores virais. Métodos de transformação de células de planta são bem conhecidos na técnica, incluindo, por exemplo, transformação mediada por *Agrobacterium*, transformação biolística, injeção direta, eletroporação e transformação viral. Métodos de transformação de células bacterianas e de levedura também são bem conhecidas na técnica.

Um vetor de expressão também pode ser liberado a um sistema de expressão usando biolísticas de DNA, em que o plasmídeo é precipitado em partículas microscópicas, preferivelmente ouro, e as partículas são impulsionadas em uma célula alvo ou sistema de expressão. técnicas biolísticas de DNA são bem conhecidas na técnica e dispositivos, por exemplo, uma "arma genética", são comercialmente disponíveis para a liberação das micropartículas em uma célula (por exemplo, Helios Gene Gun, Bio-Rad Labs., Hercules, CA) e na pele (PMED Device, PowderMed Ltd., Oxford, UK).

A expressão de proteínas de fusão do RAGE de linhagens de células de produção pode ser realçada usando várias técnicas conhecidas. Por exemplo, o sistema de expressão genética da glutamina sintetase (o sistema GS) e o sistema de resistência à neomicina codificado por plasma são métodos comuns para realçar a expressão sob certas condições.

As proteínas de fusão do RAGE expressadas por linhagens de células diferentes podem ter padrões de glicosilação diferentes entre si. Entretanto, todas as

proteínas de fusão do RAGE codificadas pelas moléculas de ácido nucléico fornecidas aqui, ou compreendendo as seqüências de aminoácido fornecidas aqui são parte da presente invenção, não obstante a glicosilação da proteína de fusão do RAGE.

Em uma forma de realização, um vetor de expressão recombinante pode ser transfectado em células de Ovário de Hamster Chinês (CHO) e expressão otimizada. Nas formas de realização alternadas, as células podem produzir 0,1 a 20 gramas/litro, ou 0,5 a 10 gramas/litro, ou cerca de 1 a 2 gramas/litro.

Como é conhecido na técnica, tais construções de ácido nucléico podem ser modificadas por mutação, como por exemplo, por ampliação de PCR de um modelo de ácido nucléico com iniciadores compreendendo a mutação de interesse. Desta maneira, polipeptídeos compreendendo variar a afinidade para ligantes do RAGE podem ser designados. Em uma forma de realização, as seqüências mutantes podem ser 90 % ou mais idênticas ao DNA de partida. Como tal, variantes podem incluir seqüências de nucleotídeo que hibridizam sob condições severas (isto é, equivalente a cerca de 20 a 27° C abaixo da temperatura de fusão (TM) do DNA duplo em sal de 1 molar).

A seqüência de codificação pode ser expressada por transfecção do vetor de expressão em um hospedeiro apropriado. Por exemplo, os vetores recombinantes podem ser estavelmente transfectados em células de Ovário de Hamster Chinês (CHO), e células expressando a proteína de fusão do

RAGE selecionadas e clonadas. Em uma forma de realização, células expressando a construção recombinante são selecionadas quanto a resistência à neomicina codificada por plasmídeo aplicando-se antibiótico G418. Clones individuais
5 podem ser selecionados e clones expressando níveis altos de proteína recombinante como detectado pela análise de Western Blot do sobrenadante da célula podem ser expandidos, e o produto genético purificado por cromatografia de afinidade usando colunas da Proteína A.

10 Formas de realização de amostra de ácidos nucleicos recombinantes que codificam as proteínas de fusão do RAGE da presente invenção são mostradas nas FIGS. 2 a 5 e FIGS. 17 a 20. Por exemplo, como descrito acima, a proteína de fusão do RAGE produzida pela construção de DNA
15 recombinante pode compreender um polipeptídeo do RAGE ligado a um segundo polipeptídeo não RAGE. A proteína de fusão do RAGE pode compreender dois domínios derivados da proteína do RAGE e dois domínios derivados de uma imunoglobulina.. Uma construção de ácido nucleico de exemplo codificando uma
20 proteína de fusão do RAGE, TTP-4000 (TT4), tendo este tipo de estrutura é mostrada na FIG. 2 (SEQ ID Nº: 30) e FIG. 17 (SEQ ID Nº: 54). Como mostrado na FIG. 2 e FIG. 17, a sequência de codificação 1-753 (destacada em negrito) codifica a sequência de proteína N-terminal do RAGE ao passo
25 que a sequência de 754-1386 codifica a sequência de proteína IgG.

Quando derivada da SEQ ID Nº: 30 ou SEQ ID Nº: 54, ou uma sequência pelo menos 90 % idêntica a esta, a proteína

de fusão do RAGE pode compreender a sequência de aminoácido de quatro domínios da SEQ ID Nº: 32, ou o polipeptídeo com a sequência de sinal removida (Ver por exemplo, SEQ ID Nº: 33 ou SEQ ID Nº: 34 na FIG. 4 ou SEQ ID Nº: 56 na FIG. 19. Na FIG. 4 e na FIG. 19, a sequência de aminoácido do RAGE é destacada com fonte em negrito. A sequência da imunoglobulina é os domínios C_H2 e C_H3 da imunoglobulina da IgG. Como mostrado na FIG. 6B, os primeiros 251 aminoácidos da proteína de fusão do RAGE TTP-4000 de comprimento pleno contêm como a sequência de polipeptídeo do RAGE, uma sequência de sinal compreendendo aminoácidos 1-22/23, o domínio V da imunoglobulina (incluindo o sítio de ligação do ligante) compreendendo aminoácidos 23/24-116, um ligador de interdomínio compreendendo aminoácidos 117 a 123, um segundo domínio da imunoglobulina (C1) compreendendo aminoácidos 124-221, e um ligador de interdomínio a jusante compreendendo aminoácidos 222-251.

Em uma forma de realização, a proteína de fusão do RAGE pode compreender, não necessariamente, o segundo domínio da imunoglobulina do RAGE. Por exemplo, a proteína de fusão do RAGE pode compreender um domínio da imunoglobulina derivado do RAGE e dois domínios da imunoglobulina derivados de um polipeptídeo Fc humano. Uma construção de ácido nucléico de exemplo codificando este tipo de proteína de fusão do RAGE é mostrada na FIG. 3 (SEQ ID Nº: 31) e na FIG. 18 (SEQ ID Nº: 55). Como mostrado na FIG. 3 e FIG. 18, a sequência de codificação de nucleotídeos 1 a 408 (destacada em negrito) codifica a sequência de

proteína N-terminal do RAGE, ao passo que a sequência de 409-1041 codifica a sequência de proteína da IgG1 (γ 1).

Quando derivada da SEQ ID N°: 31 ou SEQ ID N°: 55, ou uma sequência pelo menos 90 % idêntica a esta, a proteína de fusão do RAGE pode compreender a sequência de aminoácido de três domínios da SEQ ID N°: 35, ou o polipeptídeo com a sequência de sinal removida (Ver por exemplo, SEQ ID N°: 36 ou SEQ ID N°: 37 na FIG. 5 ou SEQ ID N°: 57 na FIG. 20). Na FIG. 5 e na FIG. 20, a sequência de aminoácido do RAGE é destacada com fonte em negrito. Como mostrado na FIG. 6B, os primeiros 136 aminoácidos da proteína de fusão do RAGE TTP-3000 de comprimento pleno contêm como o polipeptídeo do RAGE uma sequência de sinal compreendendo aminoácidos 1-22/23, o domínio V da imunoglobulina (incluindo o sítio de ligação do ligante) compreendendo aminoácidos 23/24-116, e um ligador de interdomínio compreendendo aminoácidos 117 a 136. A sequência de 137 a 346 inclui os domínios da imunoglobulina C_H2 e C_H3 da IgG.

As proteínas de fusão do RAGE da presente invenção podem compreender estabilidade *in vivo* melhorada sobre polipeptídeos do RAGE não compreendendo um segundo polipeptídeo. A proteína de fusão do RAGE pode ser ainda modificada para aumentar a estabilidade, eficácia, potência e biodisponibilidade. Assim, as proteínas de fusão do RAGE da presente invenção podem ser modificadas por processamento pós tradução ou por modificação química. Por exemplo, a proteína de fusão do RAGE pode ser sinteticamente preparada para incluir aminoácidos L-, D-, ou não naturais,

aminoácidos alfa-dissubstituídos, ou aminoácidos N-alquila. Adicionalmente, as proteínas podem ser modificadas por acetilação, acilação, ADP-ribosilação, amidação, anexação de lípídeos tais como fosfatidiinositol, formação de ligações de dissulfeto, e semelhantes. Além disso, polietileno glicol
5 pode ser adicionado para aumentar a estabilidade biológica da proteína de fusão do RAGE.

Ligação dos Antagonistas do RAGE às proteínas de fusão do RAGE

10 As proteínas de fusão do RAGE da presente invenção podem compreender várias aplicações. Por exemplo, a proteína de fusão do RAGE da presente invenção podem ser usadas em um ensaio de ligação para identificar ligantes do RAGE, tais como agonistas, antagonistas, ou moduladores do RAGE.

15 Por exemplo, em uma forma de realização, a presente invenção fornece um método para a detecção de moduladores do RAGE compreendendo: (a) fornecer uma proteína de fusão do RAGE compreendendo um polipeptídeo do RAGE ligado a um segundo, polipeptídeo não RAGE, onde o
20 polipeptídeo do RAGE compreende um sítio de ligação do ligante; (b) misturar um composto de interesse e um ligante tendo uma afinidade de ligação conhecida para o RAGE com a proteína de fusão do RAGE; e (c) medir a ligação do ligante do RAGE conhecido à proteína de fusão do RAGE na presença do
25 composto de interesse. Em uma forma de realização, o sítio de ligação do ligante compreende a maior parte do domínio N-terminal da proteína de fusão do RAGE.

As proteínas de fusão do RAGE também podem

fornecer kits para a detecção de moduladores do RAGE. Por exemplo, em uma forma de realização, um kit da presente invenção pode compreender (a) um composto tendo afinidade de ligação conhecida ao RAGE como um controle positivo; (b) uma
5 proteína de fusão do RAGE compreendendo um polipeptídeo do RAGE ligado a um segundo polipeptídeo não RAGE, em que o polipeptídeo do RAGE compreende um sítio de ligação do ligante do RAGE; e (c) instruções para o uso. Em uma forma de realização, o sítio de ligação do ligante compreende a
10 maior parte do domínio N-terminal da proteína de fusão do RAGE.

Por exemplo, a proteína de fusão do RAGE podem ser usadas em um ensaio de ligação para identificar ligantes do RAGE potenciais. Em uma forma de realização de exemplo de um
15 tal ensaio de ligação, um ligante do RAGE conhecido pode ser revestido em um substrato sólido (por exemplo, placas Maxisorb) em uma concentração de cerca de 5 microgramas por reservatório, onde cada reservatório contém um volume total de cerca de 100 microlitros (μ L). As placas podem ser
20 incubadas a 4° C durante a noite para permitir que o ligante seja absorvido. Alternativamente, períodos de incubação mais curtos em temperatura mais alta (por exemplo, temperatura ambiente) podem ser usados. Depois de um período de tempo para levar em consideração que o ligante seja ligado ao
25 substrato, os reservatórios de ensaio podem ser aspirados e um tampão de bloqueio (por exemplo, 1 % de BSA em 50 mM de tampão imidizol, pH 7,2) pode ser adicionado à ligação não específica de bloqueio. Por exemplo, o tampão de bloqueio

pode ser adicionado às placas durante 1 hora na temperatura ambiente. As placas depois podem ser aspiradas e/ou lavadas com um tampão de lavagem. Em uma forma de realização, um tampão compreendendo 20 mM de Imidizol, 150 mM de NaCl, 0,05
5 % de Tween-20, 5 mM de CaCl_2 e 5mM de MgCl_2 , pH 7,2 pode ser usado como um tampão de lavagem. A proteína de fusão do RAGE depois pode ser adicionada em diluições crescentes para os reservatórios de ensaio. A proteína de fusão do RAGE depois pode ser deixada incubar com o ligante imobilizado no
10 reservatório de ensaio tal que a ligação possa atingir o equilíbrio. Em uma forma de realização, a proteína de fusão do RAGE é deixada incubar com o ligante imobilizado durante cerca de uma hora a 37° C. Nas formas de realização alternadas, períodos de incubação mais longos em
15 temperaturas mais baixas podem ser usados. Depois que a proteína de fusão do RAGE e o ligante imobilizado foram incubados, a placa pode ser lavada para remover qualquer proteína de fusão do RAGE livre. A proteína de fusão do RAGE ligada ao ligante imobilizado pode ser detectada em uma
20 variedade de modos. Em uma forma de realização, a detecção utiliza um ELISA. Assim, em uma forma de realização, um complexo de imunodeteção contendo uma IgG1 anti-humana de camundongo monoclonal, IgG anti-camundongo de cabra biotinilada, e uma avidina a ligada fosfatase alcalina pode
25 ser adicionada à proteína de fusão do RAGE imobilizada no reservatório de ensaio. O complexo de imunodeteção pode ser deixado para ligar à proteína de fusão do RAGE imobilizada tal que a ligação entre a proteína de fusão do RAGE e o

complexo de imunodeteccção atinja o equilíbrio. Por exemplo, o complexo pode ser deixado para ligar à proteína de fusão do RAGE durante uma hora na temperatura ambiente. Naquele ponto, qualquer complexo livre pode ser removido lavando-se
5 o reservatório de ensaio com tampão de lavagem. O complexo ligado pode ser detectado adicionando-se o substrato de fosfatase alcalina, para-nitrofenilfosfato (PNPP), e medindo-se a conversão de PNPP para para-nitrofenol (PNP) como um aumento na absorvência a 405 nm.

10 Em uma forma de realização, ligante do RAGE liga-se à proteína de fusão do RAGE com afinidade nanomolar (nM) ou micromolar (μ M). Um experimento ilustrando a ligação de ligantes do RAGE à proteínas de fusão do RAGE da presente invenção é mostrado na FIG. 7. As soluções de TTP-3000 (TT3)
15 e TTP-4000 (TT4) tendo concentrações iniciais de 1,082 mg/mL, e 370 μ g/mL, respectivamente, foram preparadas. Como mostrado na FIG. 7, em várias diluições, as proteínas de fusão do RAGE TTP-3000 e TTP-4000 são capazes de ligarem-se a ligantes do RAGE imobilizados Amilóide beta (Abeta)
20 (Amiloyd beta (1-40) da Biosource), S100b (S100), e anfoterina (Ampho), resultando em um aumento na absorvência. Na ausência de ligante (isto é, revestimento apenas com BSA) não houve aumento na absorvência.

O ensaio de ligação da presente invenção pode ser
25 usado para quantificar a união do ligante ao RAGE. Nas formas de realização alternadas, ligantes do RAGE podem ligar-se à proteína de fusão do RAGE da presente invenção com afinidades de ligação variando de 0,1 a 1000 nanomolar

(nM), ou de 1 a 500 nM, ou de 10 a 80 nM.

A proteína de fusão do RAGE da presente invenção também podem ser usadas para identificar compostos tendo a capacidade de ligarem-se ao RAGE. Como mostrado nas FIGS. 8 e 9, respectivamente, um ligante do RAGE pode ser avaliado quanto a sua capacidade de competir com o beta amilóide imobilizado para ligar às proteínas de fusão do RAGE TTP-4000 (TT4) ou TTP-3000 (TT3). Assim, pode ser observado que um ligante do RAGE em uma concentração de ensaio final (FAC) de 10 μ M pode substituir a ligação de proteína de fusão do RAGE para o beta-amilóide em concentrações de 1:3, 1:10, 1:30, e 1:100 da solução de TTP-4000 inicial (FIG. 8) ou TTP-3000 (FIG. 9).

Modulação de Efetores Celulares

Formas de realização das proteínas de fusão do RAGE da presente invenção podem ser usadas para modular uma resposta biológica mediada por RAGE. Por exemplo, as proteínas de fusão do RAGE podem ser designadas para modular aumentos induzidos por RAGE na expressão gênica. Assim, em uma forma de realização, proteínas de fusão do RAGE da presente invenção podem ser usadas para modular a função de enzimas biológicas. Por exemplo, a interação entre RAGE e seus ligantes pode gerar tensão oxidativa e ativação de NF-KB, e genes regulados de NF-KB, tais como as citocinas IL-1 β , TNF- α , e semelhantes. Além disso, várias outras vias reguladoras, tais como aquelas envolvendo p21ras, cinases MAP, ERK1, e ERK2, foram mostradas ser ativadas por ligação de AGEs e outros ligantes ao RAGE.

O uso das proteínas de fusão do RAGE da presente invenção para modular a expressão do efector celular TNF- α é mostrado na FIG. 10. As células mielóides de THP-1 podem ser cultivadas em 1640 meios de RPMI suplementados com 10 % de FBS e induzidas para segregar TNF- α por intermédio de estimulação do RAGE com S100b. Quando tais estimulação ocorrem na presença de uma proteína de fusão do RAGE, a indução de TNF- α por S100b ligando ao RAGE pode ser inibida. Assim, como mostrado na FIG. 10, a adição de 10 μ g de proteína de fusão do RAGE TTP-3000 (TT3) ou TTP-4000 (TT4) reduz a indução por S100b de TNF- α por cerca de 50 % a 75 %. A proteína de fusão do RAGE TTP-4000 pode ser pelo menos tão eficaz no bloqueio da indução por S100b de TNF- α como é RAGEs (FIG. 10). A especificidade da inibição para as seqüências do RAGE de TTP-4000 e TTP-3000 é mostrada pelo experimento em que IgG sozinho foi adicionado a células estimuladas por S100b. A adição de IgG e S100b ao ensaio mostra os mesmos níveis de TNF- α como S100b sozinha.

Características Fisiológicas das Proteínas de Fusão do RAGE

Embora o RAGEs possa ter um benefício terapêutico na modulação de doenças mediadas por RAGE, RAGEs humano pode ter limitações como uma resistência terapêutica sozinha com base na meia vida relativamente curta do RAGEs no plasma. Por exemplo, ao passo que RAGEs de roedor tem uma meia vida em ratos normais e diabéticos de aproximadamente 20 horas, RAGEs humano tem uma meia vida de menos do que 2 horas quando avaliado por retenção de RAGEs de imunorreatividade

(Renard et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 290:1458-1466 (1999)).

Para gerar um RAGE terapêutico que tem características de ligação similares como RAGEs, mas um perfil farmacocinético mais estável, uma proteína de fusão do RAGE compreendendo um sítio de ligação do ligante do RAGE ligado a um ou mais domínios da imunoglobulina humana podem ser usadas. Como é conhecido na técnica, os domínios da imunoglobulina podem incluir a porção Fc da cadeia pesada da imunoglobulina.

A porção Fc de imunoglobulina pode conferir vários atributos a uma proteína de fusão do RAGE. Por exemplo, a proteína de fusão Fc pode aumentar a meia vida do soro de tais proteínas de fusão, freqüentemente de horas a vários dias. O aumento na estabilidade farmacocinética é geralmente um resultado da interação do ligador entre as regiões C_H2 e C_H3 do fragmento de Fc com o receptor FcRn (Wines et al., *J. Immunol.*, 164:5313-5318 (2000)).

Embora as proteínas de fusão compreendendo um polipeptídeo Fc da imunoglobulina possam fornecer a vantagem de estabilidade aumentada, proteínas de fusão da imunoglobulina podem evocar uma resposta inflamatória quando introduzidas em um hospedeiro. A resposta inflamatória pode ser devido, em grande parte, à porção Fc da imunoglobulina da proteína de fusão. A resposta pró inflamatória pode ser uma característica desejável se o alvo for expressado em um tipo de célula doente que necessita ser eliminada (por exemplo, uma célula cancerígena, uma ou a população de

linfócitos causando uma doença autoimune). A resposta pró inflamatória pode ser uma característica neutra se o alvo for uma proteína solúvel, como a maioria das proteínas solúveis não ativam imunoglobulinas. Entretanto, a resposta
5 pró inflamatória pode ser uma característica negativa se o alvo for expressado em tipos de célula cuja destruição levaria a efeitos colaterais desagradáveis. Também, a resposta pró inflamatória pode ser uma característica negativa se uma cascata inflamatória for estabilizada no
10 sítio de uma proteína de fusão ligando a um tecido alvo, visto que muitos mediadores de inflamação podem ser prejudiciais ao tecido adjacente, e/ou podem causar efeitos sistêmicos.

O sítio pró inflamatório primário nos fragmentos
15 Fc da imunoglobulina reside na região de articulação entre o C_{H1} e C_{H2} . Esta região de articulação interage com o FcR1-3 em várias leucócitos e ativa estas células para atacar o alvo. (Wines et al, *J. Immunol*, 164;5313-5318 (2000)).

Como terapêuticos para doenças mediadas por RAGE,
20 proteínas de fusão do RAGE podem não requerer a geração de uma resposta inflamatória. Assim, formas de realização das proteínas de fusão do RAGE da presente invenção podem compreender uma proteína de fusão do RAGE compreendendo um polipeptídeo do RAGE ligado a um domínio(s) da
25 imunoglobulina onde a região de articulação Fc da imunoglobulina é removida e substituída com um polipeptídeo do RAGE. Desta maneira, a interação entre a proteína de fusão do RAGE e receptores Fc nas células inflamatórias pode

ser minimizada. Pode ser importante, entretanto, manter empilhamento apropriado e outras interações estruturais tridimensionais entre os vários domínios da imunoglobulina da proteína de fusão do RAGE. Assim, formas de realização

5 das proteínas de fusão do RAGE da presente invenção podem substituir o ligador de interdomínio do RAGE biologicamente inerte, mas estruturalmente similar que separa os domínios V e C1 do RAGE, ou o ligador que separa os domínios C1 e C2 do RAGE, *in lieu* da região de articulação normal da cadeia

10 pesada da imunoglobulina. Assim, o polipeptídeo do RAGE da proteína de fusão do RAGE pode compreender uma sequência do ligador de interdomínio que é naturalmente encontrada a jusante de um domínio da imunoglobulina do RAGE para formar um fragmento do domínio/ligador da imunoglobulina do RAGE.

15 Desta maneira, as três interações dimensionais entre os domínios da imunoglobulina contribuídos pelo RAGE ou a imunoglobulina podem ser mantidas.

Em uma forma de realização, uma proteína de fusão do RAGE da presente invenção pode compreender um aumento

20 substancial na estabilidade farmacocinética quando comparada ao RAGEs. Por exemplo, a FIG. 11 mostra que uma vez que a proteína de fusão do RAGE TTP-4000 tenha saturado seus ligantes, ela pode reter uma meia vida de mais do que 300 horas. Isto pode ser contrastado com a meia vida para RAGEs

25 de apenas algumas horas em plasma humano.

Assim, em uma forma de realização, as proteínas de fusão do RAGE da presente invenção podem ser usadas para antagonizar a ligação de ligantes fisiológicos ao RAGE como

um meio para tratar doenças mediadas por RAGE sem gerar uma quantidade inaceitável de inflamação. As proteínas de fusão do RAGE da presente invenção podem exibir uma diminuição substancial na geração de uma resposta pró inflamatória quando comparadas à IgG. Por exemplo, como mostrado na FIG. 12, a proteína de fusão do RAGE TTP-4000 não estimula a liberação de TNF- α das células sob condições onde a estimulação da IgG humana da liberação de TNF- α é detectada.

10 Tratamento da Doença com Proteínas de Fusão do RAGE

A presente invenção também pode compreender métodos para o tratamento de distúrbio mediado por RAGE em um paciente humano. Em uma forma de realização, o método pode compreender administrar a um paciente uma proteína de fusão do RAGE compreendendo um polipeptídeo do RAGE compreendendo um sítio de ligação do ligante do RAGE ligado a um segundo polipeptídeo não RAGE.

Em uma forma de realização, uma proteína de fusão do RAGE da presente invenção pode ser administrada por várias vias. A administração da proteína de fusão do RAGE da presente invenção pode utilizar injeção intraperitoneal (IP). Alternativamente, a proteína de fusão do RAGE pode ser administrada oral e intranasalmente, ou como um aerossol. Em uma outra forma de realização, a administração é intravenosa (IV). A proteína de fusão do RAGE também pode ser injetada subcutaneamente. Em uma outra forma de realização, a administração da proteína de fusão do RAGE é infra-arterial. Em uma outra forma de realização, a administração é

sublingual. Também, a administração pode utilizar um cápsula de liberação com o tempo. Ainda em uma outra forma de realização, a administração pode ser transretal, como por um supositório ou semelhantes. Por exemplo, a administração
5 subcutânea pode ser útil para tratar distúrbios crônicos quando a auto-administração é desejável.

Uma variedade de modelos animais foi usada para validar o uso de compostos que modulam RAGE como terapêuticos. Exemplos destes modelos são como seguem:

10 a) RAGEs inibiu formação neoíntima em um modelo de rato com restenose a seguir de lesão arterial tanto em ratos diabéticos quanto normais inibindo-se a ativação endotelial, muscular lisa e de macrófago por intermédio do RAGE (Zhou et al., *Circulation* 107:2238-2243 (2003));

15 b) Inibição de interações do RAGE/ligante, usando RAGEs ou um anticorpo anti-RAGE, reduziu formação de placa amilóide em um modelo de camundongo de amiloidose sistêmica (Yan et al., *Nat. Med.*, 6:643-651 (2000)). Acompanhando a redução em placas amilóide foi uma redução nas citocinas
20 inflamatórias, interleucina-6 (IL-6) e fator de estimulação de colônia de macrófago (M-CSF) assim como ativação reduzida de NF-kB nos animais tratados;

 c) Camundongos transgênicos com RAGE (superexpressores do RAGE e expressores negativos
25 dominantes do RAGE) exibem formação de placa e déficits cognitivos em um modelo de camundongo de AD (Arancio et al, *EMBO J.*, 23:4096-4105 (2004));

 d) Tratamento de ratos diabéticos com RAGEs

reduziu a permeabilidade vascular (Bonnardel-Phu et al, *Diabetes*, 48:2052-2058 (1999));

e) Tratamento com RAGEs reduziu lesões ateroscleróticas em camundongos diabéticos com apolipoproteína E-nula e preveniu os índices funcionais e morfológicos de nefropatia diabética em camundongos db/db (Hudson et al., *Arch. Biochem. Biophys.*, 419:80-88 (2003)); e

f) RAGEs atenuou a severidade da inflamação em um modelo de camundongo com artrite induzida por colágeno (Hofmann et al, *Genes Immunol.*, 3:123-135 (2002)), um modelo de camundongo com encefalomielite alérgica experimental (Yan et al, *Nat. Med.* 9:28-293 (2003)) e um modelo de camundongo com doença inflamatória intestinal (Hofmann et al., *Cell*, 97:889-901 (1999)).

Assim, em uma forma de realização, as proteínas de fusão do RAGE da presente invenção podem ser usadas para tratar um sintoma de diabetes e/ou complicações resultantes de diabetes mediado por RAGE. Nas formas de realização alternadas, o sintoma de diabetes ou complicações diabéticas tardias pode compreender nefropatia diabética, retinopatia diabética, uma úlcera do pé diabético, uma complicação cardiovascular de diabetes, ou neuropatia diabética.

Originalmente identificado como um receptor para moléculas cuja expressão é associada com a patologia de diabetes, RAGE por si só é essencial à patofisiologia de complicações diabéticas. A inibição da interação do RAGE, *in vivo*, com seu(s) ligante(s) foi mostrada ser terapêutica em

modelos múltiplos de complicações diabéticas e inflamação (Hudson *et al.*, *Arch. Biochem. Biophys.*, 419:80-88 (2003)). Por exemplo, um tratamento de dois meses com anticorpos anti-RAGE normalizou função do rim e reduziu a histopatologia renal anormal em camundongos diabéticos (Flyvbjerg *et al.*, *Diabetes* 53:166-172 (2004)). Além disso, o tratamento com uma forma solúvel do RAGE (RAGEs) que liga aos ligantes do RAGE e inibe interações RAGE/ligante, reduziu lesões ateroscleróticas em camundongos E-nulo de apolipoproteína diabéticos e atenuou a patologia funcional e morfológica de nefropatia diabética em camundongos db/db (Bucciarelli *et al.*, *Circulation* 106:2827-2835 (2002)).

Também, foi mostrado que a glicoxidação não enzimática de macromoléculas finalmente resultando na formação de produtos finais de glicação avançada (AGEs) é realçada em sítios de inflamação, na falência renal, na presença de hiperglicemia e outras condições associadas com tensão oxidante sistêmica ou local (Dyer *et al.*, *J. Clin. Invest.*, 91:2463-2469 (1993); Reddy *et al.*, *Biochem.*, 34:10872-10878 (1995); Dyer *et al.*, *J. Biol. Chem.*, 266:11654-11660 (1991); Degenhardt *et al.*, *Cell Mol. Biol.*, 44:1139-1145 (1998)). O acúmulo de AGEs na vasculatura pode ocorrer de modo focal, como na junção amilóide composta de AGE- β_2 -microglobulina encontrada em pacientes com amiloidose relacionada à diálise (Miyata *et al.*, *J. Clin. Invest.*, 92:1243-1252 (1993); Miyata *et al.*, *J. Clin. Invest.*, 98:1088-1094 (1996)), ou geralmente, como exemplificado pela vasculatura e tecidos de pacientes com diabetes (Schmidt *et*

al, *Nature Med.*, 1;1002-1004 (1995)). O acúmulo progressivo de AGEs com o passar do tempo em pacientes com diabetes sugere que mecanismos de liberação do endógeno não são capazes de funcionar eficazmente em sítios de deposição do AGE. Tais AGEs acumulados têm a capacidade de alterar propriedades celulares por vários mecanismos. Embora RAGE seja expressado em níveis baixos nos tecidos e vasculatura normais, em um ambiente onde os ligantes do receptor se acumulam, foi mostrado que RAGE torna-se supra-regulado (Li et al, *J. Biol. Chem.*, 272:16498-16506 (1997); Li et al, *J. Biol. Chem.*, 273:30870-30878 (1998); Tanaka et al., *J. Biol. Chem.*, 275:25781-25790 (2000)). A expressão do RAGE é aumentada no endotélio, células musculares lisas e infiltração dos fagócitos mononucleares na vasculatura diabética. Também, os estudos em cultura celular têm demonstrado que a interação AGE-RAGE causa mudanças em propriedades celulares importantes na homeostase vascular.

O uso das proteínas de fusão do RAGE no tratamento de patologia relacionada à diabetes é ilustrado na FIG. 13. A proteína de fusão do RAGE TTP-4000 foi avaliada em um modelo de rato diabético com restenose que envolveu medição de proliferação muscular lisa e expansão íntima a seguir de lesão vascular. Como ilustrado na FIG. 13, tratamento com TTP-4000 pode significativamente reduzir a razão íntima/média (I/M) (FIG. 13A; Tabela 1) na restenose associada com diabetes em uma maneira de resposta à dose. Também, o tratamento com TTP-4000 pode reduzir significativamente a proliferação de célula muscular lisa vascular associada com

restenose em uma maneira de resposta à dose.

Tabela 1

Efeito de TTP-4000 em Modelo de Rato com Restenose

	IgG (n=9)	TTP-4000 (n=9) Dose baixa** (0,3 mg/animal dias alternados x 4)	TTP-4000 (n=9) Dose alta** (1,0 mg/animal dias alternados x 4)
Área Luminal (mm ²)	0,2 ± 0,03	0,18 ± 0,04	0,16 ± 0,02
Área Medial (mm ²)	0,12 ± 0,01	0,11 ± 0,02	0,11 ± 0,01
Razão I/M	1,71 ± 0,27	1,61 ± 0,26	1,44* ± 0,15

*P<0,05; ** Tanto para dose alta quanto baixa, uma dose de carregamento de 3 mg/animal foi usada.

Em outras formas de realização, as proteínas de fusão do RAGE da presente invenção também podem ser usadas para tratar ou reverter amiloidoses e doença de Alzheimer. O RAGE é um receptor para beta amiloide (A β) assim como outras proteínas amiloidogênicas incluindo SAA e amilina (Yan et al, *Nature*, 382:685-691 (1996); Yan et al, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 94:5296-5301 (1997); Yan et al., *Nat. Med.*, 6:643-651 (2000); Sousa et al, *Lab Invest.*, 80:1101-1110 (2000)). Também, os ligantes do RAGE, incluindo AGEs, S100b e proteínas A β , são encontrados no tecido adjacente à placa senil no ser humano (Luth et al., *Cereb. Cortex* 15:211-220 (2005); Petzold et al, *Neurosci. Lett.*, 336:167-170 (2003); Sasaki et al, *Brian Res.*, 12:256-262 (2001; Yan et al, *Reston Neurol Nerusci.*, 12:167-173 (1998)). Foi mostrado que RAGE liga o material fibrilar da β -folha não obstante da

composição das subunidades (peptídeo amilóide- β , amilina, soro amilóide A, peptídeo derivado de príon) (Van et al., *Nature*, 382:685-691 (1996); Yan et al., *Nat. Med.*, 6:643-651 (2000)). Além disso, a deposição de amilóide foi mostrada
5 para resultar na expressão realçada do RAGE. Por exemplo, nos cérebros de pacientes com doença de Alzheimer (AD), a expressão do RAGE aumenta em neurônios e neuróglio (Yan, et al., *Nature* 382:685-691 (1996)). Concorrente com a expressão de ligantes do RAGE, o RAGE é supra-regulado em astrócitos e
10 células microgliais no hipocampo de indivíduos com AD mas não é supra-regulado em indivíduos que não têm AD (Lue et al., *Exp. Neurol.*, 171:29-45 (2001)). Essas descobertas sugerem que células expressando RAGE sejam ativadas por intermédio de interações do ligante do RAGE/RAGE na
15 adjacência da placa senil. Também, *in vitro*, a ativação mediada por A β de células microgliais pode ser bloqueada com anticorpos dirigidos contra o domínio de ligação do ligante do RAGE (Yan et al., *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 94:5296-5301 (1997)). Também foi demonstrado que RAGE pode servir
20 como um ponto focal para conjunto da fibrila (Deane et al., *Nat. Med.* 9:907-913 (2003)).

Também, a inibição *in vivo* de interações do RAGE/ligante usando RAGEs ou um anticorpo anti-RAGE pode reduzir a formação de placa amilóide em um modelo de
25 camundongo de amiloidose sistêmica (Yan et al., *Nat. Med.*, 6:643-651 (2000)). Camundongos transgênicos duplos que superexpressam RAGE humano e proteína precursora amilóide humana (APP) com as mutações Suecas e Londrinhas (mutante

hAPP) em neurônios desenvolvem déficits de aprendizagem e anormalidades neuropatológicas precocemente em relação as suas contrapartes transgênicas de hAPP mutante únicas. Ao contrário, camundongos transgênicos duplos com capacidade de sinalização de A β diminuída devido a neurônios expressando uma forma negativa dominante do RAGE nos mesmos fundamentos de hAPP mutante, mostram um princípio retardado de anormalidades neuropatológicas e de aprendizagem comparadas a sua contraparte transgênica de APP única (Arancio et al., 10 *EMBO J.*, 23:4096-4105 (2004)).

Além disso, a inibição da interação RAGE-amilóide foi mostrada para diminuir a expressão de RAGE celular e marcadores de tensão celular (assim como ativação de NF- κ B), e diminuir a deposição amilóide (Yan et al, *Nat. Med.*, 15 6:643-651 (2000)) sugerindo um papel para a interação RAGE-amilóide tanto na perturbação de propriedades celulares em um ambiente enriquecido com amilóide (mesmo em estágios precoces) assim como em acúmulo de amilóide.

Assim, as proteínas de fusão do RAGE da presente invenção também podem ser usadas para tratar a redução de 20 amiloidose e para reduzir as placas amilóide e disfunção cognitiva associadas com Doença de Alzheimer (AD). Como descrito acima, RAGEs foi mostrado para reduzir tanto a formação de placa amilóide no cérebro quanto o aumento 25 subsequente nos marcadores inflamatórios em um modelo animal de AD. As FIGS. 14A e 14B mostram que camundongos que têm AD, e são tratados durante 3 meses com TTP-4000 ou RAGEs de camundongo tiveram poucas placas beta amilóide (A β) e menos

disfunção cognitiva do que animais que receberam um veículo ou um controle negativo da IgG humana (IgG1). Semelhante a RAGEs, TTP-4000 também pode reduzir as citocinas inflamatórias IL-1 e TNF- α (dados não mostrados) associados com AD.

Também, proteínas de fusão do RAGE da presente invenção podem ser usadas para tratar aterosclerose e outros distúrbios cardiovasculares. Assim, foi mostrado que cardiopatia isquêmica é particularmente alta em pacientes com diabetes (Robertson, et al, *Lab Invest.*, 18:538-551 (1968); Kannel et al, *J. Am. Med. Assoc.*, 241:2035-2038 (1979); Kannel et al., *Diab. Care*, 2:120-126 (1979)). Além disso, estudos mostraram que aterosclerose em pacientes com diabetes é mais acelerada e extensiva do que em pacientes não sofrendo de diabetes (ver por exemplo, Waller et al, *Am. J. Med.*, 69:498-506 (1980); Crall et al, *Am. J. Med.* 64:221-230 (1978); Hamby et al., *Chest*, 2:251-257 (1976); e Pyorala et al., *Diab. Metab. Rev.*, 3:463-524 (1978)), Embora as razões para aterosclerose acelerada no ajuste de diabetes sejam muitas, foi mostrado que a redução de AGEs pode reduzir a formação de placa.

Por exemplo, as proteínas de fusão do RAGE da presente invenção também podem ser usadas para tratar acidente vascular cerebral. Quando TTP-4000 foi comparado ao RAGEs em um modelo animal com doença relevante de acidente vascular cerebral, TTP-4000 foi encontrado para fornecer uma redução significativamente maior no volume de infarto. Neste modelo, a artéria carótida mediana de um camundongo é ligada

e depois reperfundada para formar um infarto. Para avaliar a eficácia de proteínas de fusão do RAGE para tratar ou prevenir acidente vascular cerebral, camundongos foram tratados com RAGEs ou TTP-4000 ou controle de imunoglobulina exatamente antes da reperfunção. Como pode ser observado na Tabela 2, TTP-4000 foi mais eficaz do que RAGEs em limitar a área de infarto nestes animais sugerindo que TTP-4000, por causa de sua meia vida superior no plasma, foi capaz de manter mais proteção do que RAGEs.

10

Tabela 2

Redução do Infarto no Acidente Vascular Cerebral

	% de Redução do Infarto**
RAGEs	15 %*
TTP-4000 (300 µg)	38 %*
TTP-4000 (300 µg)	21 %*
TTP-4000 (300 µg)	10 %*
Controle de Isotipo da IgG (300 µg)	4 %

*Significante para $p < 0,001$; **Comparado à solução salina

Em uma outra forma de realização, as proteínas de fusão do RAGE da presente invenção podem ser usadas para tratar câncer. Em uma forma de realização, o câncer tratado usando as proteínas de fusão do RAGE da presente invenção compreende células cancerígenas que expressam RAGE. Por exemplo, cânceres que podem ser tratados com a proteína de fusão do RAGE da presente invenção incluem alguns cânceres de pulmão, alguns gliomas, alguns papilomas, e semelhantes. Anfoterina é uma proteína de ligação do DNA cromossômico não

15

20

histona do grupo I de alta mobilidade (Rauvala et al., *J. Biol. Chem.*, 262:16625-16635 (1987); Parkikinen et al, *J. Biol. Chem.* 268:19726-19738 (1993)) que foi mostrada para interagir com RAGE. Foi mostrado que anfoterina promove
5 crescimento do neurito, assim como serve uma superfície para a reunião de complexos de protease no sistema fibrinolítico (também conhecido para contribuir para mobilidade da célula). Além disso, um efeito inibitório de crescimento de tumor local do RAGE de bloqueio foi observado em um modelo
10 de tumor primário (glioma C6), o modelo de metástase do pulmão de Lewis (Taguchi et al., *Nature* 405:354-360 (2000)), e espontaneamente surgindo de papilomas em camundongos expressando o transgene v-Ha-ras (Leder et al, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 87:9178-9182 (1990)).

15 Ainda em uma outra forma de realização, as proteínas de fusão do RAGE da presente invenção podem ser usadas para tratar inflamação. Nas formas de realização alternadas, as proteínas de fusão do RAGE da presente invenção podem ser usadas para tratar inflamação associada
20 com doença inflamatória intestinal, inflamação associada com artrite reumatóide, inflamação associada com psoríase, inflamação associada com esclerose múltipla, inflamação associada com hipoxia, inflamação associada com acidente vascular cerebral, inflamação associada com ataque cardíaco,
25 inflamação associada com choque hemorrágico, inflamação associada com sepsia, inflamação associada com transplante de órgão, inflamação associada com cura do ferimento prejudicada, ou inflamação associada com rejeição de

células, tecido, ou órgãos auto-suficientes (por exemplo, autoimunes) ou não auto-suficientes (por exemplo, transplantados).

Por exemplo, a seguir do tratamento trombolítico,

5 células inflamatórias tais como granulócitos infiltram no tecido isquêmico e produzem radicais de oxigênio que podem destruir mais células do que foram exterminadas pela hipoxia. A inibição do receptor no neutrófilo responsável pelos neutrófilos que são capazes de infiltrar no tecido com

10 anticorpos ou outros antagonistas de proteína foi mostrada para melhorar a resposta. Visto que RAGE é um ligante para seu receptor de neutrófilo, uma proteína de fusão do RAGE contendo um fragmento do RAGE pode agir como um decodificador e prevenir que o neutrófilo se movimente para

15 o sítio reperfusado e assim, prevenir ainda destruição do tecido. O papel do RAGE na prevenção da inflamação pode ser indicado por estudos mostrando que RAGEs inibiu expansão neoíntima em um modelo de rato com restenose a seguir da lesão arterial tanto em ratos diabéticos quanto normais,

20 presumidamente inibindo-se proliferação celular muscular lisa endotelial e ativação do macrófago por intermédio de RAGE (Thou et al., *Circulation*, 107:2238-2243 (2003)). Além disso, RAGEs inibiu modelos de inflamação incluindo hipersensibilidade do tipo retardada, encefalite autoimune

25 experimental e doença inflamatória intestinal (Flofman et al., *Cell*, 97:889-901 (1999)).

Em uma forma de realização, as proteínas de fusão do RAGE da presente invenção podem ser usadas para tratar

distúrbios com base em autoimunidade. Por exemplo, em uma forma de realização, as proteínas de fusão do RAGE da presente invenção podem ser usadas para tratar falência renal. Assim, as proteínas de fusão do RAGE da presente invenção podem ser usadas para tratar nefrite do lúpus sistêmica ou nefrite do lúpus inflamatória. Por exemplo, as S100/calgranulinas foram mostradas compreender uma família de polipeptídeos de ligação de cálcio intimamente relacionada caracterizada por duas regiões EF-hand ligadas por um peptídeo de conexão (Schafer et al., *TIBS*, 21:134-140 (1996); Zimmer et al., *Brain Res. Bull.*, 37:417-429 (1995); Rammes et al., *J. Biol. Chem.*, 272:9496-9502 (1997); Lugering et al., *Eur. Clin. Invest.*, 25:659-664 (1995)). Embora eles precisem de peptídeos de sinal, há muito foi conhecido que S100/calgranulinas ganham acesso ao espaço extracelular, especialmente em sítios de respostas imunes/inflamatórias crônicas, como em fibrose cística e artrite reumatóide. O RAGE é um receptor para muitos membros da família S100/calgranulina, mediando seus efeitos pró-inflamatórios em células tais como linfócitos e fagócitos mononucleares. Também, estudos de resposta de hipersensibilidade do tipo retardada, nos modelos de colite em camundongos IL-10 nulo, artrite induzida por colágeno, e encefalite autoimune experimental sugerem que interação do RAGE-ligante (presumivelmente com S-100/calgranulinas) tem um papel proximal na cascata inflamatória.

Diabetes Tipo I é um distúrbio autoimune que pode ser prevenido ou melhorado por tratamento com as proteínas

de fusão do RAGE da presente invenção. Por exemplo, foi
mostrado que RAGEs pode levar em consideração a
transferência de esplenócitos de camundongos diabéticos não
obesos (NOD) para camundongos NOD com severas
5 imunodeficiências combinadas (camundongos NOD-scid).
Camundongos NOD-scid não exibem diabetes espontaneamente,
mas requerem a presença de imunocitos capazes de destruir
células das ilhotas tais que diabetes depois é induzida. Foi
descoberto que receptores de NOD-scid tratados com RAGEs
10 exibiram princípio reduzido de diabetes induzidos por
esplenócitos transferidos de um camundongo diabético (NOD)
quando comparados a receptores de NOD-scid não tratados com
RAGEs (Publicação da Patente U.S. 2002/0122799). Como
estabelecido pelos inventores nesta publicação de patente,
15 os resultados experimentais usando RAGEs neste modelo são
relevantes à doença humana tais como colocações clínicas em
que terapias de imunidade futuras e transplante de ilhotas
possam ocorrer.

Assim, em uma forma de realização, uma proteína de
20 fusão do RAGE da presente invenção pode ser usada para
tratar inflamação associada com transplante de pelo menos um
de um órgão, um tecido, ou uma pluralidade de células de um
primeiro sítio a um segundo sítio. O primeiro e segundo
sítios podem estar em pacientes diferentes, ou no mesmo
25 paciente. Nas formas de realização alternadas, as células,
tecido ou órgão transplantados compreendem células de um
pâncreas, pele, fígado, rim, coração, pulmão, medula óssea,
sangue, osso, músculo, células endoteliais, artéria, veia,

cartilagem, tireóide, sistema nervoso, ou células tronco. Por exemplo, a administração das proteínas de fusão do RAGE da presente invenção podem ser usadas para facilitar a transplantação de células da ilhota de um primeiro paciente não diabético a um segundo paciente diabético.

Em uma outra forma de realização, a presente invenção pode fornecer um método de tratar osteoporose administrando-se a um paciente uma quantidade terapeuticamente eficaz de uma proteína de fusão do RAGE da presente invenção. (Zhou et al., *J. Exp. Med.*, 203:1067 - 1080 (2006)). Em uma forma de realização, o método de tratar osteoporose pode compreender ainda a etapa de aumentar a densidade do osso do paciente ou reduzir a taxa de diminuição na densidade do osso de um paciente.

Assim, em várias formas de realização selecionadas, a presente invenção pode fornecer um método para inibir a interação de um AGE com RAGE em um paciente administrando-se ao paciente uma quantidade terapeuticamente eficaz de uma proteína de fusão do RAGE da presente invenção. O paciente tratado usando as proteínas de fusão do RAGE da presente invenção pode ser um animal. Em uma forma de realização, o paciente é um ser humano. O paciente pode estar sofrendo de uma doença relacionada ao AGE tal como diabetes, complicações diabéticas tais como nefropatia, neuropatia, retinopatia, úlcera do pé, amiloidoses, ou falência renal, e inflamação. Ou, o paciente pode ser um indivíduo com doença de Alzheimer. Em uma forma de realização alternativa, o paciente pode ser um indivíduo com

câncer. Ainda em outras formas de realização, o paciente pode estar sofrendo de lúpus eritematoso sistêmico ou nefrite do lúpus inflamatório. Outras doenças podem ser mediadas por RAGE e assim, podem ser tratadas usando as

5 proteínas de fusão do RAGE da presente invenção. Assim, em formas de realização alternativas adicionais da presente invenção, as proteínas de fusão do RAGE podem ser usadas para tratamento de doença de Crohn, artrite, vasculite, nefropatias, retinopatias, e neuropatias em pacientes

10 humanos ou animais. Em outras formas de realização, inflamação envolvendo tanto respostas autoimunes (por exemplo, rejeição de auto-suficiência) e respostas não autoimunes (por exemplo, rejeição de não auto-suficiência) pode ser mediada por RAGE e assim, pode ser tratada usando

15 as proteínas de fusão do RAGE da presente invenção.

Uma quantidade terapeuticamente eficaz pode compreender uma quantidade que é capaz de prevenir a interação do RAGE com um AGE ou outros tipos de ligantes endógenos do RAGE em um paciente. Consequentemente, a

20 quantidade variará de acordo o paciente sendo tratado. A administração do composto pode ser de hora em hora, diariamente, semanalmente, mensalmente, anualmente, ou como um evento único. Em várias formas de realização alternativas, a quantidade eficaz da proteína de fusão do

25 RAGE pode variar de cerca de 1 mg/kg de peso corpóreo a cerca de 100 mg/kg de peso corpóreo, ou de cerca de 10 µg/kg de peso corpóreo a cerca de 50 mg/kg de peso corpóreo, ou de cerca de 100 µg/kg de peso corpóreo a cerca de 20 mg/kg de

peso corpóreo. A quantidade eficaz real pode ser estabilizada por ensaios de dose/resposta usando métodos padrão na técnica (Johnson et al., *Diabetes*. 42: 1179, (1993)). Assim, como é conhecido àqueles habilitados na
5 técnica, a quantidade eficaz pode depender da biodisponibilidade, bioatividade, e biodegradabilidade do composto.

Composições

A presente invenção pode compreender uma
10 composição compreendendo uma proteína de fusão do RAGE da presente invenção misturada com um carregador farmacologicamente aceitável. A proteína de fusão do RAGE pode compreender um polipeptídeo do RAGE ligado a um segundo polipeptídeo não RAGE. Em uma forma de realização, a
15 proteína de fusão do RAGE pode compreender um sítio de ligação do ligante do RAGE. Em uma forma de realização, o sítio de ligação do ligante compreende a maior parte do domínio N-terminal da proteína de fusão do RAGE. O sítio de ligação do ligante do RAGE pode compreender o domínio V do
20 RAGE, ou uma porção deste. Em uma forma de realização, o sítio de ligação do ligante do RAGE compreende SEQ ID Nº: 9 ou uma sequência pelo menos 90 % idêntica a esta, ou SEQ ID Nº: 10 ou uma sequência pelo menos 90 % idêntica a esta, ou
25 SEQ ID Nº: 47 ou uma sequência pelo menos 90 % idêntica a esta.

Em uma outra forma de realização, o sítio de ligação do ligante pode compreender aminoácidos 22-51 da SEQ ID Nº: 1. Em uma outra forma de realização, o sítio de

ligação do ligante pode compreender aminoácidos 23-51 da SEQ ID Nº: 1. Em uma outra forma de realização, o sítio de ligação do ligante pode compreender aminoácidos 31-51 da SEQ ID Nº: 1. Em uma outra forma de realização, o sítio de
5 ligação do ligante pode compreender aminoácidos 31-116 da SEQ ID Nº: 1.

Em uma forma de realização, o polipeptídeo do RAGE pode ser ligado a um polipeptídeo compreendendo um domínio da imunoglobulina ou uma porção (por exemplo, um fragmento
10 deste) de um domínio da imunoglobulina. Em uma forma de realização, o polipeptídeo compreendendo um domínio da imunoglobulina compreende pelo menos uma porção de pelo menos um dos domínios C_H2 ou C_H3 de uma IgG humana.

A proteína do RAGE ou polipeptídeo pode
15 compreender RAGE humano de comprimento pleno (por exemplo, SEQ ID Nº: 1), ou um fragmento do RAGE humano. Em uma forma de realização, o polipeptídeo do RAGE não inclui quaisquer resíduos de sequência de sinal. A sequência de sinal do RAGE pode compreender resíduos 1-22 ou resíduos 1-23 do RAGE de
20 comprimento pleno (SEQ ID Nº: 1). Nas formas de realização alternadas, o polipeptídeo do RAGE pode compreender uma sequência que é pelo menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 % ou 99 % idêntica ao RAGE humano, ou um fragmento deste. Por exemplo, em uma forma de realização, o
25 polipeptídeo do RAGE pode compreender RAGE humano, ou um fragmento deste, com Glicina como o primeiro resíduo ao invés de um Metionina (ver por exemplo, Neepet et al., (1992)). Ou, o RAGE humano pode compreender RAGE de

comprimento pleno com a sequência de sinal removida (por exemplo, SEQ ID Nº: 2 ou SEQ ID Nº: 3) (FIGS. 1A e 1B) ou uma porção daquela sequência de aminoácido.

As proteínas de fusão do RAGE da presente invenção
5 também pode compreender RAGEs (por exemplo, SEQ ID Nº: 4),
um polipeptídeo pelo menos 90 % idêntico ao RAGEs, ou um
fragmento do RAGEs. Por exemplo, o polipeptídeo do RAGE pode
compreender RAGEs humano, ou um fragmento deste, com Glicina
como o primeiro resíduo ao invés de uma Metionina (ver por
10 exemplo, Neeper et al., (1992)). Ou, o RAGE humano pode
compreender RAGEs com a sequência de sinal removida (Ver por
exemplo, SEQ ID Nº: 5 ou SEQ ID Nº: 6 na FIG. 1C ou SEQ ID
Nº: 45 na FIG. 16A) ou uma porção daquela sequência de
aminoácido. Em outras formas de realização, a proteína do
15 RAGE pode compreender um domínio V (Ver por exemplo, SEQ ID
Nº: 7 ou SEQ ID Nº: 8 na FIG. 1D ou SEQ ID Nº: 46 na FIG.
16A). Ou, uma sequência pelo menos 90 % idêntica ao domínio
V ou um fragmento deste pode ser usada. Ou, a proteína do
RAGE pode compreender um fragmento do RAGE compreendendo uma
20 porção do domínio V (Ver por exemplo, SEQ ID Nº: 9 ou SEQ ID
Nº: 10 na FIG. 1D ou SEQ ID Nº: 47 na FIG. 16A). Em uma
forma de realização, o sítio de ligação do ligante pode
compreender SEQ ID Nº: 9, ou uma sequência pelo menos 90 %
idêntica a esta, ou SEQ ID Nº: 10, ou uma sequência pelo
25 menos 90 % idêntica a esta, ou SEQ ID Nº: 47, ou uma
sequência pelo menos 90 % idêntica a esta. Ainda em uma
outra forma de realização, o fragmento do RAGE é um peptídeo
sintético.

Por exemplo, o polipeptídeo do RAGE pode compreender aminoácidos 23-116 do RAGE humano (SEQ ID Nº: 7) ou uma seqüência pelo menos 90 % idêntica a esta, ou aminoácidos 24-116 do RAGE humano (SEQ ID Nº: 8) ou uma
5 seqüência pelo menos 90 % idêntica a esta, ou aminoácidos 24-116 do RAGE humano onde Q24 cicliza para formar pE (SEQ ID Nº: 46), ou uma seqüência pelo menos 90 % idêntica a esta, correspondendo ao domínio V do RAGE. Ou, o polipeptídeo do RAGE pode compreender aminoácidos 124-221 do
10 RAGE humano (SEQ ID Nº: 11) ou uma seqüência pelo menos 90 % idêntica a esta, correspondendo ao domínio C1 do RAGE. Em uma outra forma de realização, o polipeptídeo do RAGE pode compreender aminoácidos 227-317 do RAGE humano (SEQ ID Nº: 12) ou uma seqüência pelo menos 90 % idêntica a esta,
15 correspondendo ao domínio C2 do RAGE. Ou, o polipeptídeo do RAGE pode compreender aminoácidos 23-123 do RAGE humano (SEQ ID Nº: 13) ou uma seqüência pelo menos 90 % idêntica a esta, ou aminoácidos 24-123 do RAGE humano (SEQ ID Nº: 14) ou uma seqüência pelo menos 90 % idêntica a esta, correspondendo ao
20 domínio V do RAGE e um ligador de interdomínio a jusante. Ou, o polipeptídeo do RAGE pode compreender aminoácidos 24-123 do RAGE humano onde Q24 cicliza para formar pE (SEQ ID Nº: 48), ou uma seqüência pelo menos 90 % idêntica a esta. Ou, o polipeptídeo do RAGE pode compreender aminoácidos 23-
25 226 do RAGE humano (SEQ ID Nº: 17) ou uma seqüência pelo menos 90 % idêntica a esta, ou aminoácidos 24-226 do RAGE humano (SEQ ID Nº: 18) ou uma seqüência pelo menos 90 % idêntica a esta, correspondendo ao domínio V, o domínio C1 e

o ligador de interdomínio ligando estes dois domínios. Ou, o polipeptídeo do RAGE pode compreender aminoácidos 24-226 do RAGE humano onde Q24 cicliza para formar pE (SEQ ID N^o: 50), ou uma sequência 90 % idêntica a esta. Ou, o polipeptídeo do

5 RAGE pode compreender aminoácidos 23-339 do RAGE humano (SEQ ID N^o: 5) ou uma sequência pelo menos 90 % idêntica a esta, ou 24-339 do RAGE humano (SEQ ID N^o: 6) ou uma sequência pelo menos 90 % idêntica a esta, correspondendo ao RAGEs (isto é, codificando os domínios V, C1, e C2 e ligadores de

10 interdomínio). Ou, o polipeptídeo do RAGE pode compreender aminoácidos 24-339 do RAGE humano onde Q24 cicliza para formar pE (SEQ ID N^o: 45), ou uma sequência pelo menos 90 % idêntica a esta. Ou, fragmentos de cada uma destas sequências podem ser usados.

15 A proteína de fusão do RAGE pode incluir vários tipos de peptídeos que não são derivados de RAGE ou um fragmento deste. O segundo polipeptídeo da proteína de fusão do RAGE pode compreender um polipeptídeo derivado de uma imunoglobulina. A cadeia pesada (ou porção desta) pode ser

20 derivada de qualquer um dos isotipos de cadeia pesada conhecidos: IgG (γ), IgM (μ), IgD (δ), IgE (ϵ), ou IgA (α). Além disso, a cadeia pesada (ou porção desta) pode ser derivada de qualquer um dos subtipos de cadeia pesada conhecidos: IgG1 (γ 1), IgG2 (γ 2), IgG3 (γ 3), IgG4 (γ 4), IgA1

25 (α 1), IgA2 (α 2), ou mutações destes isotipos ou subtipos que alteram a atividade biológica. O segundo polipeptídeo pode compreender os domínios C_H2 e C_H3 de uma IgG1 humana ou uma porção de qualquer um ou ambos estes domínios. Como uma

forma de realização de exemplo, o polipeptídeo compreendendo os domínios C_H2 e C_H3 de uma IgG1 humana ou uma porção deste pode compreender SEQ ID N^o: 38 ou SEQ ID N^o: 40. O peptídeo da imunoglobulina pode ser codificado pela seqüência de
5 ácido nucléico da SEQ ID N^o: 39 ou SEQ ID N^o: 41. A seqüência da imunoglobulina na SEQ ID N^o: 38 ou SEQ ID N^o: 40 também pode ser codificada pela SEQ ID N^o: 52 ou SEQ ID N^o: 53.

A porção Fc da cadeia da imunoglobulina pode ser
10 pró-inflamatória *in vivo*. Assim, em uma forma de realização, a proteína de fusão do RAGE da presente invenção compreende um ligador de interdomínio derivado de RAGE ao invés de um polipeptídeo de articulação de interdomínio derivado de uma imunoglobulina.

15 Assim, em uma forma de realização, a proteína de fusão do RAGE pode compreender ainda um polipeptídeo do RAGE ligado diretamente a um polipeptídeo compreendendo um domínio C_H2 de uma imunoglobulina, ou um fragmento deste. Em uma forma de realização, o domínio C_H2, ou um fragmento
20 deste compreende SEQ ID N^o: 42. Em uma forma de realização, o fragmento da SEQ ID N^o: 42 compreende SEQ ID N^o: 42 com os dez primeiros aminoácidos removidos.

Em uma forma de realização, o polipeptídeo do RAGE compreende um ligador de interdomínio do RAGE ligado a um
25 domínio da imunoglobulina do RAGE tal que o aminoácido C-terminal do domínio da imunoglobulina do RAGE é ligado ao aminoácido N-terminal do ligador de interdomínio, e o aminoácido C-terminal do ligador de interdomínio do RAGE é

ligado diretamente ao aminoácido N-terminal de um polipeptídeo compreendendo um domínio C_H2 de uma imunoglobulina, ou um fragmento deste. O polipeptídeo compreendendo um domínio C_H2 de uma imunoglobulina, ou uma
5 porção deste, pode compreender os domínios C_H2 e C_H3 de uma IgG1 humana, ou uma porção de qualquer um ou ambos estes domínios. Como uma forma de realização de exemplo, o polipeptídeo compreendendo os domínios C_H2 e C_H3 de uma IgG1 humana, ou uma porção deste, pode compreender SEQ ID N^o: 38
10 ou SEQ ID N^o: 40.

A proteína de fusão do RAGE da presente invenção pode compreender um domínio único ou domínios múltiplos de RAGE. Também, o polipeptídeo do RAGE compreendendo um ligador de interdomínio ligado a um domínio da
15 imunoglobulina do RAGE pode compreender um fragmento de uma proteína do RAGE de comprimento pleno. Por exemplo, em uma forma de realização, a proteína de fusão do RAGE pode compreender dois domínios da imunoglobulina derivados da proteína do RAGE e dois domínios da imunoglobulina derivados
20 de um polipeptídeo Fc humano. A proteína de fusão do RAGE pode compreender um primeiro domínio da imunoglobulina do RAGE e um primeiro ligador de interdomínio ligado a um segundo domínio da imunoglobulina do RAGE e um segundo ligador de interdomínio do RAGE, tal que o aminoácido N-
25 terminal do primeiro ligador de interdomínio é ligado ao aminoácido C-terminal do primeiro domínio da imunoglobulina do RAGE, o aminoácido N-terminal do segundo domínio da imunoglobulina do RAGE é ligado ao aminoácido C-terminal do

primeiro ligador de interdomínio, o aminoácido N-terminal do segundo ligador de interdomínio é ligado ao aminoácido C-terminal do segundo domínio da imunoglobulina do RAGE, e o aminoácido C-terminal do segundo ligador de interdomínio do RAGE é ligado diretamente ao aminoácido N-terminal do polipeptídeo compreendendo um domínio da imunoglobulina de C_H2 ou fragmento deste. Por exemplo, o polipeptídeo do RAGE pode compreender aminoácidos 23-251 do RAGE humano (SEQ ID N^o: 19) ou uma sequência pelo menos 90 % idêntica a esta, ou aminoácidos 24-251 do RAGE humano (SEQ ID N^o: 20) ou uma sequência pelo menos 90 % idêntica a esta, ou aminoácidos 24-251 do RAGE humano onde Q24 cicliza para formar pE, ou uma sequência pelo menos 90 % idêntica a esta (SEQ ID N^o: 51), correspondendo ao domínio V, o domínio C1, o ligador de interdomínio ligando estes dois domínios, e um segundo ligador de interdomínio a jusante de C1. Em uma forma de realização, uma construção de ácido nucléico compreendendo SEQ ID N^o: 30 ou um fragmento deste pode codificar para uma proteína de fusão do RAGE de quatro domínios. Em uma outra forma de realização, construção de ácido nucléico compreendendo SEQ ID N^o: 54 pode codificar para uma proteína de fusão do RAGE de quatro domínios, onde mutações de base silenciosas para os códons que codificam para prolina (CCG para CCC) e glicina (GGT para GGG) no C-terminal da sequência são penetradas para remover um sítio de união de RNA críptico próximo ao códon terminal.

Alternativamente, uma proteína de fusão do RAGE de três domínios pode compreender um domínio da imunoglobulina

derivado de RAGE e dois domínios da imunoglobulina derivados de um polipeptídeo Fc humano. Por exemplo, a proteína de fusão do RAGE pode compreender um domínio da imunoglobulina do RAGE único ligado por intermédio de um ligador de interdomínio do RAGE ao aminoácido N-terminal do polipeptídeo compreendendo um domínio da imunoglobulina de C_H2 ou um fragmento deste. Por exemplo, o polipeptídeo do RAGE pode compreender aminoácidos 23-136 do RAGE humano (SEQ ID N^o: 15) ou uma sequência pelo menos 90 % idêntica a esta ou aminoácidos 24-136 do RAGE humano (SEQ ID N^o: 16) ou uma sequência pelo menos 90 % idêntica a esta, ou aminoácidos 24-136 do RAGE humano onde Q24 cicliza para formar pE, ou uma sequência pelo menos 90 % idêntica a esta (SEQ ID N^o: 49), correspondendo ao domínio V do RAGE e um ligador de interdomínio a jusante. Em uma forma de realização, uma construção de ácido nucléico compreendendo SEQ ID N^o: 31 ou um fragmento deste pode codificar para uma proteína de fusão do RAGE de três domínios. Em uma outra forma de realização, construção de ácido nucléico compreendendo SEQ ID N^o: 55 pode codificar para uma proteína de fusão do RAGE de três domínios, onde mutações de base silenciosas para os códons que codificam para prolina (CCG para CCC) e glicina (GGT para GGG) no C-terminal da sequência são penetradas para remover um sítio de união de RNA críptico próximo ao códon terminal.

Um fragmento do ligador de interdomínio do RAGE pode compreender uma sequência de peptídeo que é naturalmente a jusante de, e assim, ligada a um domínio da

imunoglobulina do RAGE. Por exemplo, para o domínio V do RAGE, o ligador de interdomínio pode compreender seqüências de aminoácido que são naturalmente a jusante do domínio V. Em uma forma de realização, o ligador pode compreender SEQ ID Nº: 21, correspondendo aos aminoácidos 117-123 do RAGE de comprimento pleno. Ou, o ligador pode compreender um peptídeo tendo porções adicionais da seqüência natural do RAGE. Por exemplo, um ligador de interdomínio compreendendo vários aminoácidos (por exemplo, 1-3, 1-5, ou 1-10, ou 1-15 aminoácidos) a montante e a jusante da SEQ ID Nº: 21 pode ser usado. Assim, em uma forma de realização, o ligador de interdomínio compreende SEQ ID Nº: 23 compreendendo aminoácidos 117-136 do RAGE de comprimento pleno. Ou, fragmentos da SEQ ID Nº: 21 deletando, por exemplo, 1, 2, ou 3, aminoácidos de cada uma extremidade do ligador podem ser usados. Nas formas de realização alternadas, o ligador pode compreender uma seqüência que é pelo menos 70 % idêntica, ou 80 % idêntica, ou 90 % idêntica à SEQ ID Nº: 21 ou SEQ ID Nº: 23.

Para o domínio C1 do RAGE, o ligador pode compreender uma seqüência de peptídeo que é naturalmente a jusante do domínio C1. Em uma forma de realização, o ligador pode compreender SEQ ID Nº: 22, correspondendo aos aminoácidos 222-251 do RAGE de comprimento pleno. Ou, o ligador pode compreender um peptídeo tendo porções adicionais da seqüência natural do RAGE. Por exemplo, um ligador compreendendo vários (1-3, 1-5, ou 1-10, ou 1-15 aminoácidos) aminoácidos a montante e a jusante da SEQ ID

Nº: 22 pode ser usado. Ou, fragmentos da SEQ ID Nº: 22 pode ser usados, deletando por exemplo, 1-3, 1-5, ou 1-10, ou 1-15 aminoácidos de cada uma extremidade do ligador. Por exemplo, em uma forma de realização, um ligador de interdomínio do RAGE pode compreender SEQ ID Nº: 24, correspondendo aos aminoácidos 222-226. Ou um ligador de interdomínio pode compreender SEQ ID Nº: 44, correspondendo aos aminoácidos 318-342 do RAGE.

Carregadores farmacêuticamente aceitáveis podem compreender qualquer um dos carregadores farmacêuticamente aceitos padrão conhecidos na técnica. Em uma forma de realização, o carregador farmacêutico pode ser um líquido e a proteína de fusão do RAGE ou construção de ácido nucléico pode estar na forma de uma solução. Em uma outra forma de realização, o carregador farmacêuticamente aceitável pode ser um sólido na forma de um pó, um pó liofilizado, ou um tablete. Ou, o carregador farmacêutico pode ser um gel, supositório, ou creme. Nas formas de realização alternadas, o carregador pode compreender um lipossoma, uma microcápsula, uma célula encapsulada de polímero, ou um vírus. Assim, o termo carregador farmacêuticamente aceitável abrange, mas não é limitado a, qualquer um dos carregadores farmacêuticamente aceitos padrão, tais como água, álcoois, solução salina tamponada com fosfato, açúcares (por exemplo, sacarose ou manitol), óleos ou emulsões tais como emulsões de óleo/água ou uma emulsão de triglicerídeo, vários tipos de agentes umectantes, tabletes, tabletes revestidos e cápsulas.

A administração das proteínas de fusão do RAGE da presente invenção pode utilizar várias vias. Assim, a administração da proteína de fusão do RAGE da presente invenção pode utilizar injeção intraperitoneal (IP).

5 Alternativamente, a proteína de fusão do RAGE pode ser administrada oralmente, intranasalmente ou como um aerossol. Em uma outra forma de realização, administração é intravenosa (IV). A proteína de fusão do RAGE também pode ser injetada subcutaneamente. Em uma outra forma de

10 realização, administração da proteína de fusão do RAGE é intra-arterial. Em uma outra forma de realização, a administração é sublingual. Também, a administração pode utilizar uma cápsula de liberação com o tempo. Por exemplo, administração subcutânea pode ser útil para tratar

15 distúrbios crônicos quando a auto-administração é desejável.

As composições farmacêuticas podem estar na forma de uma solução injetável estéril em um solvente ou veículo parenteralmente não tóxico aceitável. Entre os veículos aceitáveis e solventes que podem ser utilizados estão água,

20 solução de Ringer, 3-butanodiol, solução isotônica de cloreto de sódio, ou tampões aquosos, como por exemplo, citrato, acetato, glicina, histidina, fosfato, tampões de tris ou succinato fisiologicamente aceitáveis. A solução injetável pode conter estabilizadores para proteger contra

25 degradação química e formação de agregado. Os estabilizadores podem incluir antioxidantes tais como hidróxi anisol butilado (BHA), e hidróxi tolueno butilado (BHT), tampões (citratos, glicina, histidina) ou tensoativos

(polissorbato 80, poloxâmeros). A solução também pode conter preservantes antimicrobianos, tais como álcool benzílico e parabenos. A solução também pode conter tensoativos para reduzir agregação, tais como Polissorbato 80, poloxômero, ou
5 outros tensoativos conhecidos na técnica. A solução também pode conter outro aditivos, tais como açúcar(es) ou solução salina, para ajustar a pressão osmótica da composição para ser similar ao sangue humano.

As composições farmacêuticas podem estar na forma
10 de um pó liofilizado estéril para injeção na reconstituição com um diluente. O diluente pode ser água para injeção, água bacteriostática para injeção, ou solução salina estéril. O pó liofilizado pode ser produzido por liofilização de uma solução da proteína de fusão para produzir a proteína na
15 forma seca. Como é conhecido na técnica, a proteína liofilizada geralmente tem estabilidade aumentada e uma vida em prateleira mais longa do que uma solução líquida da proteína. O pó liofilizado (torta) pode conter um tampão para ajustar o pH, como por exemplo citrato, acetato,
20 glicina, histidina, fosfato, tampão de tris ou succinato fisiologicamente aceitáveis. O pó liofilizado também pode conter lioprotetores para manter sua estabilidade física e química. Os lioprotetores comumente usados são açúcares de não redução e dissacarídeos tais como sacarose, manitol, ou
25 trealose. O pó liofilizado pode conter estabilizadores para proteger contra degradação química e formação de agregado. Estabilizadores podem incluir, mas não são limitados a antioxidantes (BHA, BHT), tampões (citratos, glicina,

histidina), ou tensoativos (polissorbato 80, poloxâmeros). O pó liofilizado também pode conter preservantes antimicrobianos, tais como álcool benzílico e parabenos. O pó liofilizado também pode conter tensoativos para reduzir
5 agregação, tais como, mas não limitados a, Polissorbato 80 e poloxômero. O pó liofilizado também pode conter aditivos (por exemplo, açúcares ou solução salina) para ajustar a pressão osmótica para ser similar ao sangue humano na reconstituição do pó. O pó liofilizado também pode conter
10 agentes encorpantes, tais como açúcares e dissacarídeos.

As composições farmacêuticas para injeção também podem estar na forma de uma suspensão oleaginosa. Esta suspensão pode ser formulada de acordo com os métodos conhecidos usando agentes dispersantes ou umectantes
15 adequados e agentes de suspensão descritos acima. Além disso, óleos estéreis, fixos são convenientemente utilizados como solvente ou meio de suspensão. Para este propósito, qualquer óleo fixo suave pode ser utilizado usando mono- ou diglicerídeos sintéticos. Também, suspensões oleosas podem
20 ser formuladas suspendendo-se o ingrediente ativo em um óleo vegetal, por exemplo óleo de amendoim, óleo de oliva, óleo de gergelim ou óleo de coco, ou em um óleo mineral tal como uma parafina líquida. Por exemplo, ácidos graxos tais como ácido oléico encontram uso na preparação de injetáveis. As
25 suspensões oleosas podem conter um agente espessante, por exemplo cera de abelha, parafina dura ou álcool cetílico. Estas composições podem ser preservadas pela adição de um antioxidante tal como ácido ascórbico.

As composições farmacêuticas da presente invenção também podem estar na forma de emulsões de óleo-em-água ou suspensões aquosas. A fase oleosa pode ser um óleo vegetal, por exemplo, óleo de oliva ou óleo de amendoim, ou um óleo mineral, por exemplo uma parafina líquida, ou uma mistura destes. Agentes emulsificantes adequados podem ser gomas que ocorrem naturalmente, por exemplo goma acácia ou goma tragacanto, fosfatídeos que ocorrem naturalmente, por exemplo soja, lecitina, e ésteres ou ésteres parciais derivados de ácidos graxos e anidridos hexitol, por exemplo monooleato de sorbitano, e produtos de condensação dos ditos ésteres parciais com óxido de etileno, por exemplo polioxietileno sorbitano.

Suspensões aquosas também podem conter os compostos ativos em mistura com excipientes. Tais excipientes podem incluir agentes de suspensão, por exemplo carboximetilcelulose de sódio, metilcelulose, hidroxipropilmetilcelulose, alginato de sódio, polivinilpirrolidona, goma tragacanto e goma acácia; agentes dispersantes ou umectantes, tais como um fosfatídeo ocorrendo naturalmente tais como lecitina, ou produtos de condensação de um óxido de alquilenos com ácidos graxos, por exemplo estearato de polioxietileno, ou produtos de condensação de óxido de etileno com álcoois alifáticos de cadeia longa, por exemplo, heptadecaetil-eneoxicetanol, ou produtos de condensação de óxido de etileno com ésteres parciais derivados de ácidos graxos e um hexitol tais como monooleato de polioxietileno sorbitol, ou produtos de

condensação de óxido de etileno com ésteres parciais derivados de ácidos graxos e anidridos hexitol, por exemplo monooleato de polietileno sorbitano.

Pós dispersáveis e grânulos adequados para
5 preparação de uma suspensão aquosa pela adição de água podem fornecer o composto ativo em mistura com um agente dispersante, agente de suspensão, e um ou mais preservantes. Preservantes, agentes dispersantes, e agentes de suspensão adequados são descritos acima.

10 As composições também podem estar na forma de supositórios para administração retal dos compostos da invenção. Estas composições podem ser preparadas misturando-se o medicamento com um excipiente não irritante adequado que é sólido em temperaturas habituais mas líquido na
15 temperatura retal e assim, fundirá no reto para liberar o medicamento. Tais materiais incluem manteiga de cacau e polietileno glicóis, por exemplo.

Para uso tópico, cremes, ungüentos, geléias, soluções ou suspensões contendo os compostos da invenção
20 podem ser usados. Aplicações tópicas também podem incluir colutórios e gargarejos. Preservantes e antioxidantes adequados tais como BHA e BHT, dispersantes, tensoativos, ou tampões podem ser usados.

Os compostos da presente invenção também podem ser
25 administrados na forma de sistemas de liberação de lipossoma, tais como vesículas unilamelares pequenas, vesículas unilamelares grandes, e vesículas multilamelares. Lipossomas podem ser formados de uma variedade de

fosfolipídeos, tais como colesterol, estearilamina, ou fosfatidilcolinas.

Em certas formas de realização, os compostos da presente invenção podem ser modificados para reparar ainda a
5 liberação da circulação por enzimas metabólicas. Em uma forma de realização, os compostos podem ser modificados pela ligação covalente de polímeros solúveis em água tais como polietileno glicol (PEG), copolímeros de PEG e polipropileno
gilcol, polivinilpirrolidona ou poliprolina, carboximetil
10 celulose, dextrano, álcool polivinílico, e semelhantes. Tais modificações também podem aumentar a solubilidade do composto em solução aquosa. Polímeros tais como PEG podem ser covalentemente ligados a um ou mais resíduos de amino reativos, resíduos de sulfidril ou resíduos de carboxila.
15 Numerosas formas ativadas de PEG foram descritas, incluindo ésteres ativos de ácido carboxílico ou derivados de carbonato, particularmente aqueles em que os grupos de partida são N-hidroxissuccinimida, p-nitrofenol, imdazol ou 1-hidróxi-2-nitrobenzeno-3 sulfona para reação com grupos
20 amino, derivados de multimodo ou de halo acetila para reação com grupos sulfidril, e derivados de amino hidrazina ou de hidrazida para reação com grupos carboidrato.

Métodos adicionais para preparação de formulações de proteína que podem ser usadas com as proteínas de fusão
25 da presente invenção são descritos nas Patentes U.S. Nºs 6.267.958, e 5.567.677.

Em um outro aspecto da presente invenção, as proteínas de fusão do RAGE da invenção podem ser utilizadas

em tratamentos terapêuticos adjuvantes ou terapêuticos de combinação com outros agentes terapêuticos conhecidos. A seguinte é uma listagem não exaustiva de adjuvantes e agentes terapêuticos adicionais que podem ser utilizados em
 5 combinação com os moduladores de proteína de fusão do RAGE da presente invenção:

Classificações farmacológicas de agentes anticâncer:

1. Agentes alquilantes: Ciclofosfamida,
 10 nitrosouréias, carboplatina, cisplatina, procarbazona

2. Antibióticos: Bleomicina, Daunorrubicina, Doxorubicina

3. Antimetabólitos: Metotrexato, Citarabina, Fluorouracila, Azatioprina, 6-Mercaptopurina, e agentes
 15 quimioterápicos do câncer citotóxicos

4. Alcalóides de plantas: Vinblastina, Vincristina, Etoposida, Paclitaxel,

5. Hormônios: Tamoxifeno, Acetato de octreotida, Finasterida, Flutamida

20 6. Modificadores de resposta biológica: Interferons, Interleucinas

Classificações farmacológicas de tratamento para Artrite Reumatóide

1. Analgésicos: Aspirina

25 2. NSAIDs (medicamentos anti-inflamatórios não esteroidais): Ibuprofeno, Naproxeno, Diclofenaco

3. DMARDs (Medicamentos anti-reumáticos que modificam a doença): Metotrexato, preparações de ouro,

hidroxicloroquina, sulfasalazina

- 4.Modificadores de resposta biológica, DMARDs:
Etanercept, Infliximab, Glucocorticóides, tais como
beclometasona, metilprednisolona, betametasona, prednisona,
5 dexametasona, e hidrocortisona

Classificações farmacológicas de tratamento para
Diabetes Melito

- 1.Sulfoniluréias: Tolbutamida, Tolazamida,
Gliburida, Glipizida
10 2.Biguanidas: Metformina
3.Agentes orais diversos: Acarbose, Troglitazona
4.Insulina

Classificações farmacológicas de tratamento para
Doença de Alzheimer

- 15 1.Inibidor Colinesterase: Tacrina, Donepezila
2.Antipsicóticos: Haloperidol, Tioridazina
3.Antidepressivos: Desipramina, Fluoxetina,
Trazodona, Paroxetina
4.Anticonvulsivos: Carbamazepina, Ácido valpróico

- 20 Em uma forma de realização, as composições da
presente invenção podem compreender uma quantidade
terapeuticamente eficaz de uma proteína de fusão do RAGE em
combinação com um único ou múltiplos agentes terapêuticos
adicionais. Além dos agentes descritos até aqui, os
25 seguintes agentes terapêuticos podem ser usados em
combinação com as proteínas de fusão do RAGE da presente
invenção: imunossupressores, tais como ciclosporina,
tacrolimus, rapamicina e outros imunossupressores do tipo

FK-506.

Em uma forma de realização, a presente invenção pode fornecer portanto um método de tratar doenças mediadas por RAGE, o método compreende administrar a um paciente em
5 necessidade deste, uma quantidade terapeuticamente eficaz de uma proteína de fusão do RAGE em combinação com agentes terapêuticos selecionados do grupo que consiste de agentes alquilantes, antimetabólitos, alcalóides de planta, antibióticos, hormônios, modificadores de resposta
10 biológica, analgésicos, NSAIDs, DMARDs, modificadores de resposta biológica (por exemplo, glucocorticóides), sulfoniluréias, biguanidas, insulina, inibidores de colinesterase, antipsicóticos, antidepressivos, anticonvulsivos, e imunossuppressores, tais como
15 ciclosporina, tacrolimus, rapamicina e outros imunossuppressores do tipo FK-506. Em uma outra forma de realização, a presente invenção fornece a composição farmacêutica, da invenção como descrito acima, compreendendo ainda um ou mais agentes terapêuticos selecionados do grupo
20 que consiste de agentes alquilantes, antimetabólitos, alcalóides de planta, antibióticos, hormônios, modificadores de resposta biológica, analgésicos, NSAIDs, DMARDs, modificadores de resposta biológica (por exemplo, glucocorticóides), sulfoniluréias, biguanidas, insulina,
25 inibidores de colinesterase, antipsicóticos, antidepressivos, anticonvulsivos, e imunossuppressores, tais como ciclosporina, tacrolimus, rapamicina e outros imunossuppressores do tipo FK-506.

EXEMPLOS

Características e vantagens do conceito inventivo coberto pela presente invenção são ainda ilustrados nos exemplos que seguem.

5 Exemplo 1A: Produção de Proteínas de Fusão do RAGE

Dois plasmídios foram construídos para expressar proteínas de fusão RAGE-IgG. Ambos plasmídios foram construídos ligando-se comprimentos diferentes de uma sequência 5' de DNAC do RAGE humano com o mesma sequência 3' de DNAC da IgG humana ($\gamma 1$). Estas seqüências de expressão (isto é, produtos de ligação) depois foram inseridas no vetor de expressão pcDNA3,1 (Invitrogen, CA). As seqüências de ácido nucléico que codificam a proteína de fusão do RAGE codificando a região são mostradas nas FIGS. 2 e 3. Para 10 proteína de fusão do RAGE TTP-4000, a seqüência de ácido nucléico de 1 a 753 (destacada em negrito) codifica a seqüência de proteína N-terminal do RAGE, ao passo que a seqüência de ácido nucléico de 754 a 1386 codifica a seqüência de proteína da IgG (FIG. 2). Para TTP-3000, a 15 seqüência de ácido nucléico de 1 a 408 (destacada em negrito) codifica a seqüência de proteína N-terminal do RAGE, ao passo que a seqüência de ácido nucléico de 409 a 1041 codifica a seqüência de proteína da IgG (FIG. 3).

Para produzir as proteínas de fusão do RAGE, os 25 vetores de expressão compreendendo as seqüências de ácido nucléico da SEQ ID Nº: 30 ou SEQ ID Nº: 31 foram estavelmente transfectados nas células de CHO. Transformantes positivos foram selecionados para resistência

à neomicina conferida pelo plasmídio e clonados. Clones de alta produção como detectados por análise Western Blot de sobrenadante foram expandidos e o produto gênico foi purificado por cromatografia de afinidade usando colunas da Proteína A. A expressão foi otimizada de modo que células produziram TTP-4000 recombinante em níveis de cerca de 1,3 gramas por litro.

Exemplo 1B: Produção de Proteínas de Fusão do RAGE

Um plasmídio foi construído para expressar proteínas de fusão RAGE-IgG. O plasmídio foi construído ligando-se uma sequência 5' de DNAC do RAGE humano com uma sequência 3' de DNAC da IgG humana ($\gamma 1$). PCR foi usada para ampliar o DNAC. Além disso, na extremidade 5', o iniciador da PCR adicionou um sítio de enzima de restrição de Eco RI a partir da clonagem e uma sequência de iniciação de tradução de consenso Kozak. Na extremidade 3', o iniciador da PCR adicionou uma restrição de Xho I exatamente antes do códon terminal. Na extremidade 3', o iniciador da PCR também incluiu duas mutações de base silenciosas que removem um sítio de união de RNA críptico na porção da imunoglobulina próximas ao códon terminal. O códon codificando para prolina (resíduo 409 com base na numeração da sequência de proteína na SEQ ID N^o: 32) foi modificado de CCG para CCC, e o códon codificando para glicina (resíduo 410 com base na numeração da sequência de proteína na SEQ ID N^o: 32) foi modificado de GGT para GGG. O fragmento da PCR foi digerido com Eco RI e Xho I e depois inserido em um plasmídio retrovetor (pCNS-newMCS-WPRE (new ori), disponível da Gala, Inc.) que foi

digerido com Mfe I (para formar uma extremidade comparável à extremidade com Eco RI) e digerido com Xho I. A porção inserida do plasmídio clonado e junções de clonagem foram seqüenciadas para garantir que mutações não ocorressem durante a clonagem.

Para produzir a proteína de fusão do RAGE-IgG, o vetor de expressão compreendendo a seqüência de ácido nucléico SEQ ID Nº: 54 foi estavelmente transfectada em células de CHO.

A seqüência da proteína de fusão do RAGE TTP-4000 isolada expressada pelas células transfectadas foi confirmada por vários estudos de caracterização como SEQ DD Nº: 34 ou SEQ ID Nº: 56, ou tanto SEQ ID Nº: 34 quanto SEQ ID Nº: 56. Assim, a seqüência de sinal codificada pelos primeiros 23 aminoácidos da SEQ ID Nº: 32 foi clivada e o resíduo N-terminal foi glutamina (Q) ou ácido piroglutâmico (pE) ou uma mistura destes. Estudos de caracterização também mostraram sítios de glicosilação em N2 e N288 (com base na numeração da SEQ ID Nº: 34 ou SEQ ID Nº: 56) e mostraram que a região C_H3 da proteína de fusão do RAGE pode ter seu resíduo C-terminal separado por clivagem através de uma modificação pós tradução quando expressado neste sistema recombinante.

Exemplo 2: Método para testar a atividade de uma proteína de fusão do RAGE-IgG1

A.União do ligante *in vitro*:

Ligantes do RAGE conhecidos foram revestidos na superfície de placas Maxisorb em uma concentração de 5

microgramas por reservatório. Placas foram incubadas a 4° C durante a noite. A seguir da incubação do ligante, placas foram aspiradas e um tampão de bloqueio de 1 % de BSA em 50 mM de tampão de imidizol (pH 7,2) foi adicionado às placas

5 durante 1 hora na temperatura ambiente. As placas depois foram aspiradas e/ou lavadas com tampão de lavagem (20 mM de Imidizol, 150 mM de NaCl, 0,05 % de Tween-20, 5 mM de CaCl₂ e 5 mM de MgCl₂, pH 7,2). Uma solução de TTP-3000 (TT3) em

10 uma concentração inicial de 1,082 mg/mL e uma solução de TTP-4000 (TT4) em uma concentração inicial de 370 µg/mL foram preparadas. A proteína de fusão do RAGE foi adicionada em diluições crescentes da amostra inicial. A proteína de fusão do RAGE foi deixada incubar com o ligante imobilizado a 37° C durante uma hora depois que a placa foi lavada e

15 avaliada para a ligação da proteína de fusão do RAGE. Ligação foi detectada pela adição de um complexo de imunodeteccção contendo uma IgG1 humana anti-camundongo monoclonal diluída a 1:11,000 a uma concentração de ensaio final (FAC) de 21 ng/100 µL, uma IgG anti-camundongo de

20 cabra biotinilada diluída a 1:500, para um FAC de 500 ng/gL, e uma fosfatase alcalina ligada por avidina. O complexo foi incubado com a proteína de fusão do RAGE imobilizada durante uma hora na temperatura ambiente depois que a placa foi lavada e o substrato de fosfatase alcalina para-

25 nitrofenilfosfato (PNPP) foi adicionado. Ligação do complexo à proteína de fusão do RAGE imobilizada foi quantificada medindo-se a conversão de PNPP em para-nitrofenol (PNP) que foi medido espectrofotometricamente a 405 nm.

Como ilustrado na FIG. 7, as proteínas de fusão do RAGE TTP-4000 (TT4) e TTP-3000 (TT3) especificamente interagem com ligantes do RAGE conhecidos como beta amilóide (Abeta), S100b (S100), e anfoterina (Ampho). Na ausência de
5 ligante, isto é, revestimento de BSA sozinho (BSA ou BSA + lavagem) não houve aumento na absorvência em níveis atribuíveis para ligação não específica do complexo de imunodeteccção. Onde beta amilóide é usado como o ligante marcado, pode ser necessário pré-incubar o beta amilóide
10 antes do ensaio. Pré-incubação pode permitir que o beta amilóide se auto-agregue na forma de folha dobrada, como beta amilóide pode preferencialmente ligar ao RAGE na forma de uma folha dobrada.

Evidência adicional para uma interação específica
15 entre proteínas de fusão do RAGE TTP-4000 e TTP-3000 com ligantes do RAGE é exemplificada nos estudos mostrando que um ligante do RAGE é capaz de competir eficazmente com um ligante do RAGE conhecido para ligar às proteínas de fusão do RAGE. Nestes estudos, beta amilóide (A-beta) foi
20 imobilizado em uma placa Maxisorb e a proteína de fusão do RAGE adicionada como descrito acima. Além disso, um ligante do RAGE foi adicionado a alguns dos reservatórios ao mesmo tempo como a proteína de fusão do RAGE.

Foi descoberto que o ligante do RAGE pode bloquear
25 a ligação de TTP-4000 (TT4) em cerca de 25 % a 30 % onde TTP-4000 estava presente a 123 µg/mL (diluição de 1:3, FIG. 8). Quando a solução inicial de TTP-4000 foi diluída por um fator de 10 ou 30 (1:10 ou 1:30), a ligação da proteína de

fusão do RAGE ao ligante imobilizado foi completamente inibida pelo ligante do RAGE. Similarmente, o ligante do RAGE bloqueou a ligação de TTP-3000 (TT3) em cerca de 50 % onde TTP-3000 estava presente a 360 µg/mL (diluição de 1:3, FIG. 9). Quando a solução inicial de TTP-3000 foi diluída por um fator de 10 (1:10), a ligação da proteína de fusão do RAGE ao ligante imobilizado foi completamente inibida pelo ligante do RAGE. Assim, a especificidade de ligação da proteína de fusão do RAGE ao ligante do RAGE dependeu da dose. Também, como mostrado nas FIGS. 8 e 9, não houve essencialmente ligação detectada na ausência de proteína de fusão do RAGE, usando apenas o complexo de imunodeteção ("Complexo sozinho").

B. Efeito das proteínas de fusão do RAGE em ensaios com base celular

O trabalho anterior tem mostrado que as células THP-1 mielóides podem secretar TNF-α em resposta aos ligantes do RAGE. Neste ensaio, células THP-1 foram cultivadas em meio RPM-1640 suplementado com 10 % de FBS usando um protocolo provido por ATCC. As células foram induzidas para secretar TNF-α por intermédio de estimulação do RAGE com 0,1 mg/ml de S100b tanto na ausência quanto na presença das proteínas de fusão do RAGE TTP-3000 (TT3) ou TTP-4000 (TT4) (10 µg), RAGEs (10 µg), e uma IgG humana (10 µg) (isto é, como um controle negativo). A quantidade de TNF-α secretada pelas células THP-1 foi medida 24 horas depois da adição das proteínas à cultura da célula usando um kit ELISA comercialmente disponível para TNF-α. (R&D

Systems, Minneapolis, MN). Os resultados na FIG. 10 demonstram que as proteínas de fusão do RAGE inibem a produção induzida por S100b/RAGE de TNF- α nestas células. Como mostrado na FIG. 10, na adição de 10 μ g da proteína de fusão do RAGE TTP-3000 ou TTP-4000, a indução de TNF- α por S100b (0,1 mg/ml FAC) foi reduzida em cerca de 45 % a 70 %, respectivamente. A proteína de fusão TTP-4000 pode ser pelo menos tão eficaz em indução de bloqueio por S100b de TNF- α quanto é RAGEs (FIG. 10). Especificidade da inibição para as seqüências de RAGE de TTP-4000 e TTP-3000 é mostrada pelo experimento em que IgG sozinha foi adicionada às células estimuladas por S100b. Adição de IgG e S100b ao ensaio mostra os mesmos níveis de TNF- α como S100b sozinho. Especificidade da inibição de TNF- α indução por TTP-4000 e TTP-3000 para seqüências de RAGE da proteína de fusão do RAGE é mostrada por um experimento em que IgG sozinha foi adicionada às células estimuladas por S100b. Pode ser observado que a adição de IgG, isto é, IgG humana sem a seqüência do RAGE (IgG humana Sigma adicionada a 10 μ g/reservatório), e S100b ao ensaio mostra os mesmos níveis de TNF- α como S100b sozinho.

Exemplo 3: Perfil Farmacocinético de TTP-4000

Para determinar se TTP-4000 teria um perfil farmacocinético superior quando comparado ao RAGEs humano, ratos e primatas não humanos receberam uma injeção intravenosa (IV) de TTP-4000 (5 mg/kg) e depois o plasma foi avaliado quanto a presença de TTP-4000. Nestes experimentos, dois macacos machos puros receberam uma dose única de TTP-

4000 do bolo IV (5 mg/ml/kg) em uma veia periférica seguido por um fluxo de solução salina de 1,0 mililitro (mL) aproximado. Amostras de sangue (aproximadamente 1,0 mL) foram coletadas na pré-dose (isto é, antes da injeção de TTP-4000), ou a 0,083, 0,25, 0,5, 2, 4, 8, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 168, 240, 288, e 336 horas após a dose em tubos contendo heparina de lítio. Seguindo a coleta, os tubos foram colocados em gelo úmido (máximo de 30 minutos) até a centrifugação sob resfriamento (em 2 a 8° C) em 1500 x g durante 15 minutos. Cada amostra de plasma colhida depois foi armazenada congelada (-70° C $\pm$ 10° C) até ser avaliada para polipeptídeo do RAGE usando um ELISA em vários pontos no tempo a seguir da injeção, como descrito no Exemplo 6.

O perfil cinético mostrado na FIG. 11 revela que uma vez que TTF-4000 tenha saturado seus ligantes como evidenciado pela inclinação ligeiramente acentuada da fase alfa em 2 animais, ele retém uma meia vida terminal de mais do que 300 horas. Esta meia vida é significativamente maior do que a meia vida do RAGEs humano no plasma (geralmente cerca de 2 horas) e fornece uma oportunidade de injeções únicas para indicações agudas e semi-crônicas. Na FIG. 11 cada curva representa um animal diferente sob as mesmas condições experimentais.

Exemplo 4: Ativação de TTP-4000 Fc

Experimentos foram realizados para medir a ativação do receptor Fc por proteína de fusão do RAGE TTP-4000 quando comparados à IgG humana. Ativação do receptor Fc foi medida medindo-se a segregação de TNF- α das células THP-

1 que expressam o receptor de Fc. Nestes experimentos, uma
placa de 96 reservatórios foi revestida com 10
µg/reservatório de TTP-4000 ou IgG humana. A estimulação de
Fc resulta na segregação de TNF-α. A quantidade de TNF-α foi
5 medida por um Ensaio Imunoabsorvente Ligado a Enzima
(ELISA).

Assim, neste ensaio, a linhagem de célula
mielóide, THP-1 (ATTC # TIB-202) foi mantida no meio RPMI-
1640 suplementado com 10 % de soro bovino fetal de acordo
10 com as instruções da ATCC. Tipicamente, 40.000 a 80.000
células por reservatório foram induzidas para secretar TNF-
alfa por intermédio da estimulação do receptor Fc por pré-
revestimento do reservatório com 10 µg/reservatório de calor
agregado (63° C durante 30 min) TTP-4000 ou IgG1 humana. A
15 quantidade de TNF-alfa secretada pelas células THP-1 foi
medida nos sobrenadantes coletados de culturas de 24 horas
de células nos reservatórios tratados usando um kit TNF
ELISA comercialmente disponível (R&D Systems, Minneapolis,
MN # DTA00C) de acordo com as instruções.

20 Resultados são mostrados na FIG. 12 onde pode ser
observado que TTP-4000 gera menos do que 2 ng/reservatório
de TNF e IgG gerou mais do que 40 ng/reservatório.

Exemplo 5: Atividade *in vivo* de TTF-4000

A atividade de TTP-4000 foi comparada a RAGEs em
25 vários modelos *in vivo* de doença humana.

A.TTP-4000 em um modelo animal com restenose

A proteína de fusão do RAGE TTP-4000 foi avaliada
em um modelo de rato diabético com restenose que envolveu

medir a proliferação muscular lisa e expansão íntima de 21 dias a seguir da lesão vascular. Nestes experimentos, lesão por balão da artéria carótida comum esquerda foi realizada em ratos diabéticos e não diabéticos Zucker usando
5 procedimento padrão. Uma dose de carga (3 mg/rato) de IgG, TTP-4000 ou solução salina tamponada com fosfato (PBS) foi administrada intraperitonealmente (IP) um dia antes da lesão. Uma dose de manutenção foi liberada em dias alternados até o 7º dia depois da lesão (isto é, no 1, 3, 5
10 e 7 dia depois da lesão). A dose de manutenção foi alta = 1 mg/animal para um grupo, ou baixa = 0,3 mg/animal para o segundo grupo. Para medir a proliferação da célula muscular lisa vascular (VSMC), animais foram sacrificados no 4º e 21º dia depois da lesão.

15 Para a medição da proliferação celular, animais no 4º dia receberam injeção intraperitoneal de bromodeoxiuridina (BrdU) de 50 mg/kg em 18, 12, e 2 horas antes da eutanásia. Depois do sacrifício, as artérias carótidas esquerda e direita inteiras foram colhidas.
20 Espécimes foram armazenados em Histochoice durante pelo menos 24 horas antes da inclusão. Avaliação da proliferação de VSMC foi realizada usando anticorpo monoclonal anti-BrdU de camundongo. Um anticorpo secundário anti-camundongo de cabra marcado com fluorescência foi aplicado. O número de
25 núcleos de BrdU positivos por seção foi contado por dois observadores que desconheciam os regimes de tratamento.

Os ratos remanescentes foram sacrificados em 21 dias para análise morfométrica. Análises morfométricas foram

realizadas por um observador alheio aos grupos de estudo, usando software de planimetria microscópica digital computadorizada Image-Pro Plus em seções em série, (5 mm separados), artérias carótidas coloridas por coloração de Van Gieson. Todos os dados foram expressados como médio $\pm$ SD. Análise estatística foi realizada com uso do software SPSS. Variáveis contínuas foram comparadas usando testes t não emparelhados. Um valor de $P < 0,05$ foi considerado ser estatisticamente significativa.

10 Como observado nas FIGS. 13A e 13B, tratamento com TTP-4000 significativamente reduziu a razão íntima/meio e proliferação celular muscular lisa vascular em uma forma de dose responsiva. Na FIG. 13B, o eixo y representa o número de células proliferativas de BrdU.

15 B.TTP4000 em um modelo animal de AD

Experimentos foram realizados para avaliar se TTP-4000 pode afetar a formação amilóide e disfunção cognitiva em um modelo de camundongo de AD. Os experimentos utilizaram camundongos transgênicos expressando a proteína precursora amilóide mutante Swedish humana (APP) sob o controle do promotor de cadeia PDGF-B. Com o passar do tempo, estes camundongos geraram níveis altos do ligante do RAGE, beta amilóide ($A\beta$). Previamente, tratamento do RAGEs durante 3 meses foi mostrado para reduzir tanto a formação de placa amilóide no cérebro quanto o aumento associado nos marcadores inflamatórios neste modelo.

20 Os camundongos APP (macho) usados neste experimento foram designados por microinjeção do gene APP

humano (com as mutações de Swedish e London) em óvulos de camundongo sob o controle do promotor gênico de cadeia do fator B de crescimento derivado da plaqueta (PDGF-B). Os camundongos foram gerados em uma base C57BL/6 e foram desenvolvidos por Molecular Therapeutics Inc. Animais foram alimentados à vontade e mantidos por empareiramento irmão-irmã. Os camundongos gerados desta construção desenvolvem depósitos amilóide a partir dos 6 meses de idade. Animais foram envelhecidos durante 6 meses e depois mantidos durante 90 dias e sacrificados para quantificação de amilóide.

Camundongos transgênicos APP administraram o veículo ou TTP4000 em dias intercalados [qod (i.p.)] durante 90 dias a partir dos 6 meses de idade. No final do experimento, animais foram sacrificados e examinados quanto à carga da placa A β no cérebro (isto é, número de placa). Um grupo APP de controle de 6 meses foi usado para determinar o valor de referência de depósitos de amilóide. Além disso, no final do estudo, os animais foram submetidos a análise comportamental (labirinto de água Morris). Os investigadores desconheciam os compostos do estudo. Amostras foram fornecidas aos camundongos a 0,25 ml/camundongo/em dias intercalados. Além disso, a um grupo de camundongos foram fornecidos 200 μ g/dia do RAGEs humano.

1. Deposição de Beta Amilóide

Para examinação histológica, os animais foram anestesiados com uma injeção intraperitoneal (IP) de pentobarbital de sódio (50 mg/kg). Os animais foram transcardialmente perfusados com 4° C de solução salina

tamponada de fosfato (PBS) seguido por 4 % de paraformaldeído. Os cérebros foram removidos e colocados em 4 % de paraformaldeído durante a noite. Os cérebros foram processados quanto à parafina e embebidos. Dez seções em
5 série de 30 μ m de espessura através do cérebro foram obtidas. Seções foram submetidas ao anticorpo primário durante a noite a 4° C (anticorpo de peptídeo A β) de modo a detectar os depósitos de amilóide no cérebro dos animais transgênicos (Guo et al., *J. Neurosci.*, 22:5900-5909
10 (2002)). Seções foram lavadas em solução salina tamponada com Tris (TBS) e anticorpo secundário foi adicionado e incubado durante 1 hora na temperatura ambiente. Depois da lavagem, as seções foram incubadas como instruído no kit Vector ABC Elite (Vector Laboratories) e coloridas com ácido
15 diaminobenzóico (DAB). As reações foram interrompidas em água e revestidas depois do tratamento com xileno. A área amilóide em cada seção foi determinada com um sistema de análise de imagem auxiliado por computador, que consiste de um computador Power Macintosh equipado com uma câmera
20 Hitachi CCD de cartão de captura de quadro Quick Capture, montada em um microscópio Olympus e suporte de câmera. Software de Análise de Imagem NIH, v. 1,55 foi usado. As imagens foram capturadas e a área total de amilóide foi determinada nas dez seções. Um único operador que
25 desconhecia o estado do tratamento realizou todas as medições. A soma dos volumes de amilóide das seções e a divisão pelo número total de seções foram feitas para calcular o volume de amilóide.

Para análise quantitativa, um ensaio imunossorvente ligado a enzima (ELISA) foi usado para medir os níveis de $A\beta$, $A\beta_{total}$ e $A\beta_{1-42}$ totais humanos nos cérebros de camundongos transgênicos APP (Biosource International, Camarillo, CA). $A\beta_{total}$ e $A\beta_{1-42}$ foram extraídas de cérebros de camundongo por cloridreto de guanidina e quantificadas como descrito pelo fabricante. Este ensaio extrai o peptídeo $A\beta$ total do cérebro (tanto solúvel quanto agregado).

2. Função Cognitiva

O teste de labirinto de água Morris foi realizado como segue: Todos os camundongos foram testados uma vez no teste de labirinto de água Morris no final do experimento. Camundongos foram treinados em um labirinto de água de campo aberto de 1,2 m. O tanque foi enchido com uma profundidade de 30 cm com água e mantido a 25° C. A plataforma de saída (10 cm quadrados) foi colocada 1 cm abaixo da superfície da água. Durante as experiências, a plataforma foi removida do tanque. O teste condicionado foi realizado no tanque circundado com cortinas brancas para esconder quaisquer condicionamentos extra labirinto. Todos os animais sofreram pré-treinamento não espacial (NSP) durante três dias consecutivos. Estas experiências são para preparar os animais para o teste comportamental final para determinar a retenção de memória para encontrar a plataforma. Estas experiências não foram registradas, mas foram apenas para propósitos de treinamento. Para os estudos de treinamento e aprendizagem, as cortinas foram removidas para condicionamentos extra labirinto (isto permitiu a

identificação de animais com dificuldades para nadar). No 1º dia, os camundongos foram colocados na plataforma encoberta durante 20 segundos (experiência 1), para as experiências 2 a 3 animais foram liberados na água em uma distância de 10 cm da plataforma condicionada ou plataforma encoberta (experiência 4) e deixados nadar na plataforma. No segundo dia de experiências, a plataforma encoberta foi movida aleatoriamente entre o centro do tanque ou o centro de cada quadrante. Os animais foram liberados no tanque, aleatoriamente diante da parede e foram permitidos 60 segundos para atingir a plataforma (3 experiências). Na terceira experiência, animais passaram por três experiências, duas com uma plataforma encoberta e uma com uma plataforma condicionada. Dois dias após o NSP, animais foram submetidos às experiências comportamentais finais (teste de labirinto de água Morris). Para estas experiências (3 por animal), a plataforma foi colocada no centro de um quadrante do tanque e os animais liberados diante da parede em uma forma aleatória. Ao animal foi permitido encontrar a plataforma ou nadar durante 60 segundos (período de latência, o tempo que ele leva para encontrar a plataforma). Todos os animais foram testados dentro de 4 a 6 horas de dosagem e foram aleatoriamente selecionados para teste por um operador que desconhecia o grupo de teste.

Os resultados são expressados como a média $\pm$ desvios padrão (SD). A significância das diferenças nos estudos de amilóide e comportamental foram analisados usando um teste t. Comparações foram feitas entre o grupo de

controle APP de 6 meses de idade e os animais tratados com TTP-4000, assim como, o grupo tratado com veículo de APP de 9 meses de idade e os animais tratados com TTP-4000. As diferenças abaixo de 0,05 foram consideradas significantes.

- 5 Alterações percentuais em amilóide e comportamento foram determinados tomando-se a soma dos dados em cada grupo e divisão pela comparação (isto é, 1, i.p./controle de seis meses = % de alteração).

As FIGS. 14A e 14B mostram que camundongos
10 tratados durante 3 meses com TTP-4000 ou RAGEs de camundongo tiveram poucas placas A β e menos disfunção cognitiva do que o veículo e os animais tratados com IgG1 humana (IgG1) de controle negativo. Estes dados indicam que TTP-4000 é eficaz em reduzir patologia de AD em um modelo de camundongo
15 transgênico. Também foi descoberto que como RAGEs, TTP-4000 pode reduzir as citocinas inflamatórias IL-1 e TNF- α (dados não mostrados).

C.Eficácia de TTP-4000 em um modelo animal de acidente vascular cerebral

20 TTP-4000 foi também comparado ao RAGEs em uma doença relevante do modelo animal de acidente vascular cerebral. Neste modelo, a artéria carótida mediana de um camundongo foi ligada durante 1 hora seguido por 23 horas de reperfusão no ponto em que camundongos foram sacrificados e
25 a área do infarto no cérebro foi avaliada. Camundongos foram tratados com RAGEs ou TTP-4000 ou imunoglobulina de controle exatamente antes da reperfusão.

Nestes experimentos, machos C57BL/6 foram

injetados com veículo a 250 µl/camundongo ou artigos de teste de TTP (TTP-3000, TTP-4000 a 250 µl/camundongo). Camundongos receberam injeções intraperitoneais, 1 hora depois da iniciação da isquemia. Camundongos foram

5 submetidos a uma hora de isquemia cerebral seguido por 24 horas de reperfusão. Para induzir isquemia, cada camundongo foi anestesiado e a temperatura corpórea foi mantida em 36 a 37° C por aquecimento externo. A artéria carótida comum esquerda (CCA) foi exposta através de uma incisão mediana no

10 pescoço. Um grampo microcirúrgico foi colocado em torno da origem da artéria carótida interna (ICA). A extremidade distal de ECA foi ligada com seda e transectada. UM fio de seda 6-0 foi passado frouxamente em torno do toco da ECA. A extremidade polida em quente de uma sutura de náilon foi

15 suavemente inserida no toco da ECA. O laço da seda 6-0 foi apertado em torno do toco e a sutura de náilon foi avançada em e através da artéria carótida interna (ICA), até repousar na artéria cerebral anterior, desse modo ocluindo a comunicação anterior e as artérias cerebrais medianas.

20 Depois que a sutura de náilon foi colocada no lugar durante 1 hora, o animal foi reanestesiado, a temperatura retal foi registrada e a sutura foi removida e a incisão fechada.

O volume do infarto foi determinado por anestesia dos animais com uma injeção intraperitoneal de pentobarbital

25 sódio (50 mg/kg) e depois removidos os cérebros. Os cérebros depois foram seccionados em quatro seções de 2 mm através da região infratada e colocados em 2 % de cloreto de trifeniltetrazólio (TTC) durante 30 minutos. Depois a as

seções foram colocadas em 4 % de paraformaldeído durante a noite. A área de infarto em cada seção foi determinada com um sistema de análise de imagem auxiliado por computador, que consiste de uma computador Power Macintosh equipado com
5 uma câmera Hitachi CCD de cartão de captura de quadro Quick Capture, montada em um suporte de câmera. NIH Image Analysis Software, v. 1,55 foi usado. As imagens foram capturadas e a área total do infarto foi determinada nas seções. Um operador único que desconhecia o estado do tratamento
10 realizou todas as medições. A soma dos volumes do infarto das seções calculou o volume total do infarto. Os resultados são expressados como a média $\pm$ desvio padrão (SD). A significância da diferença nos dados do volume do infarto foi analisada usando um teste t.

15 Como ilustrado pelos dados na Tabela 2, TTP-4000 foi mais eficaz do que RAGEs em limitar a área de infarto nestes animais sugerindo que TTP-4000, por causa de sua meia vida útil no plasma, seja capaz de manter maior proteção nestes camundongos.

20 Exemplo 6: Detecção de Proteína de Fusão RAGE por ELISA

Inicialmente, 50 uL do anticorpo monoclonal específico do RAGE 1HB101 em uma concentração de 10 ug/mL em 1 X PBS pH 7,3 foram revestido em placas por intermédio de
25 incubação durante a noite. Quando prontas para o uso, as placas foram lavadas três vezes com 300 uL de tampão de lavagem 1 x Imidazol-Tween e bloqueadas com 1 % de BSA. As amostras (diluídas) e diluições padrão de diluições de TTP-

4000 conhecidas são adicionadas a um volume final de 100 uL. As amostras são deixadas incubar na temperatura ambiente durante uma hora. Depois da incubação, as placas são lavadas três vezes. Um conjugado da IgG1 1 (Sigma A3312) AP Anti-
 5 humana de cabra em 1XPBS com 1 % de BSA é adicionado e deixado incubar na temperatura ambiente durante 1 hora. As placas são lavadas três vezes. Cor foi elucidada com paranitrofenilfosfato.

Exemplo 7: Quantificação da União do ligante do 10 RAGE à Proteína de Fusão do RAGE

A Figura 15 mostra curvas de saturação-ligação com TTP-4000 para vários ligantes do RAGE conhecidos imobilizados. Os ligantes são imobilizados em uma placa microtituladora e incubados na presença de aumentos nas
 15 concentrações da proteína de fusão do RAGE de 0 a 360 nM. A interação proteína-ligante de fusão do RAGE é detectada usando um anticorpo policlonal conjugado com fosfatase alcalina que é específico para a porção IgG da quimera de fusão. Kds relativos foram calculados usando software
 20 Graphpad Prizm e comparados com valores da literatura estabelecidos de valores do ligante RAGE-RAGE. HMG1B = Anfoterina, CML= Carboximetil Lisina, A beta = Beta amilóide 1-40.

Exemplo 8: Uso da Proteína de Fusão do RAGE para 25 Prevenir Rejeição ao Transplante Alogênico

O bloqueio do RAGE pode ser esperado para bloquear rejeição ao transplante alogênico. Estes experimentos seriam explorados se o bloqueio das interações ligante-RAGE usando

uma proteína de fusão do RAGE da invenção atenuar a rejeição de células das ilhotas que foram transplantadas de um doador saudável em um animal diabético como medido pelo comprimento de tempo que os animais transplantados mantiveram um nível de glicose no sangue abaixo de uma concentração alvo. Como debatido aqui, foi descoberto que a administração de uma proteína de fusão do RAGE (por exemplo, TTP-4000) a animais diabéticos que receberam transplantes de célula da ilhota significativamente retardou a recaída de hiperglicemia e assim, a rejeição de células das ilhotas transplantadas (allogênica e singênica) em dois modelos animais de transplante.

A. Transplantação de Ilhotas Alogênicas em Camundongos

O primeiro conjunto de experimentos foi testado para a administração de uma proteína de fusão do RAGE (TTP-4000) modular a rejeição allogênica de células das ilhotas transplantadas e a recaída de diabetes em um modelo de camundongo C57BL/6J (B6) de diabetes.

Modelo Animal de Diabetes

Camundongos C57BL/6J (6 a 8 semanas de idade) (B6) foram feitos diabéticos por uma injeção intravenosa única de estreptozotocina (STZ) (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) em 200 mg/kg. Camundongos BALB/cJ (6 a 8 semanas de idade) (BALB) serviram como doadores para transplantação da ilhota, assim, fornecendo uma alo-ligação imperfeita para transplantes das ilhotas.

Isolamento da Ilhota

Camundongos (BALB/c) foram anestesiados com solução de HCl quetamina /HCl xilazina (Sigma, St. Louis MO). Depois da injeção intraductal de 3 ml de solução salina balanceada de Hank fria (HBSS, Gibco, Grand Island NY) contendo 1,5 mg/ml de collagenase P (Roche Diagnostics, Branchburg, NJ), pancreata foram cirurgicamente procuradas e digeridas a 37° C durante 20 mins. Ilhotas foram lavadas com HBSS e purificadas por centrifugação de gradiente descontínua usando Polysucrose 400 (Cellgro, Herndon VA) tendo quatro densidades diferentes (26 %, 23 %, 20 %, e 11 %). Os fragmentos de tecido na interface das camadas de 20 % e 23 % foram coletados, lavados e recolocados em suspensão em HBSS. Ilhotas individuais, livres de tecidos acinares, vasculares e ductais ligados foram escolhidas sob um microscópio invertido, produzindo ilhotas altamente purificadas para transplantação.

Transplantação da ilhota

Camundongos diabéticos induzidos por Estreptozotocina C57BL/6 (B6) receberam enxertos de ilhotas dentro de 2 dias da diagnose de diabetes. Camundongos BALB/cJ (6 a 8 semanas de idade) (BALB) serviram como doadores para transplantação da ilhota alogênica. Para a transplantação, 500 a 600 ilhotas recém isoladas (isto é, aproximadamente 550 ilhotas equivalentes) de camundongos doadores foram acumuladas com um conjunto de infusão e transplantadas no espaço subcapular do rim direito de um receptor.

Tratamento Com Compostos de Teste

Compostos de teste foram administrados assim que as ilhotas foram transplantadas; a administração continuou durante cerca de 60 dias, dependendo de como o animal de controle se comportou. Camundongos foram injetados com 0,25 ml de solução salina tamponada de fosfato (PBS), TIP-4000 em PBS, ou IgG em PBS de acordo com o regime abaixo (Tabela 3).

Tabela 3

Administração de Compostos e/ou Veículo de Teste

Grupo de Teste	Número de camundongos	Dose de Carregamento	Dose de Manutenção	Regime
Controle Não Tratado	8			
Veículo de Controle (PBS)	8	0,25 ml/dose/camundongo no 1º dia	0,25 ml/dose/camundongo a partir do 2º dia	Uma vez em dias alternados (DIAS ALTERNADOS) x 60 dias; IP
IgG	8	(300 µg) 0,25 ml/dose/camundongo no 1º dia	(100 µg) 0,25 ml/dose/camundongo a partir do 2º dia	(100 µg) Uma vez em dias alternados (DIAS ALTERNADOS) x 60 dias; IP

TTP-4000	8	(300 µg) 0,25 ml/dose/camundongo no 1º dia	(100 µg) 0,25 ml/dose/camundongo a partir do 2º dia	(100 µg) Uma vez em dias alternados (DIAS ALTERNADOS) x 60 dias; IP
TTP-4000	8	(300 µg) 0,25 ml/dose/camundongo no 1º dia	(30 µg) 0,25 ml/dose/camundongo a partir do 2º dia	(30 µg) Uma vez em dias alternados (DIAS ALTERNADOS) x 60 dias; IP

Monitoramento da Função de Enxerto da Ilhota

A função de enxerto da ilhota foi monitorada por medições de glicose no sangue seriadas diariamente durante as primeiras 2 semanas depois da transplantação da ilhota, seguido por dias alternados desde então. Reversão de diabetes foi definida como nível de glicose no sangue de menos do que 200 mg/dl em duas medições consecutivas. Perda de enxerto foi determinada quando a glicose no sangue excedeu a 250 mg/dl em duas medições consecutivas. Os resultados são mostrados na Tabela 4.

Tabela 4

Efeitos de TTP-4000 no Transplante da Ilhota de

Aloenxerto*

	TTP-4000 300 µg LD + 100 µg dias alternado s ip (Grupo 1)	PBS (Grupo 2)	TTP-4000 300 µg LD + 30 µg dias alternado s ip (Grupo 3)	IgG 300 µg LD + 100 µg dias alternado s ip (Grupo 4)	Controle não tratado
	14	9	13	8	9
	16	8	14	9	8
	13	10	12	10	9
	13	8	12	8	10
	12	11	11	8	9
	16	8	11	8	8
	15	8	8	9	11
	14	8	8	11	9
					7
					9
					8
					9
Média	14,125	8,75	11,125	8,875	8,833333
SD	1,457738	1,164965	2,167124	1,125992	1,029857
n	8	8	8	8	12

* Valores refletem o dia de perda de enxerto para cada animal como definido por recaída de níveis de glicose no sangue aumentados.

5 Os efeitos da administração de TTP-4000 na rejeição de aloenxerto para ilhotas BALB/c em 136

camundongos são mostrados como um Gráfico de Sobrevivência Cumulativa de Kaplan-Meier na FIG. 21. Pode ser observado que existe um aumento no tempo antes da detecção de falha de enxerto para animais tratados com TTP-4000 (Grupos 1 e 3) como oposto a animais que não são tratados em todos (Controle) ou animais tratados com o veículo (PBS) ou (IgG1 humana). Usando uma variedade de análises estatísticas (Mantel-Cox Logrank, Breslow-Gehan-Wilcoxon; Tarone-Ware, Peto-Peto-Wilcoxin; e Harrington-Fleming), as diferenças entre o Controle e TTP-4000 (Grupos 1 e 3) foram significantes (Tabela 5).

Tabela 5

Método Estatístico	Controle vs Grupo 1 (TTP 4000)			Controle vs Grupo 3 (TTP 4000)		
	Chi-Square	DF*	P-valor	Chi-Square	DF	P-valor
Logrank (Mantel-Cox)	18,777	1	<0,0001	7,662	1	0,0056
Breslow-Gehan-Wilcoxon	15,092	1	0,0001	4,904	1	0,0268
Tarone-Ware	16,830	1	<0,0001	6,212	1	0,0127
Peto-Peto-Wilcoxon	14,359	1	0,0002	4,315	1	0,0378
Harrington-Fleming (rho = 0,5)	16,830	1	<0,0001	6,212	1	0,0127

*Graus de imunidade

B. Transplantação da Ilhota em Camundongos NOD como um Modelo de Doença Autoimune

O segundo conjunto de experimentos testados se a

administração proteína de fusão do RAGE (isto é TTP-4000 ou TTP-3000) modulasse o curso de diabetes recorrente em camundongos NOD, usando um modelo de transplante NOD singênico.

5 Modelo Animal de Diabetes

Camundongos diabéticos não obesos autoimunes espontâneos (NOD/LtJ) (12 a 25 semanas de idade) serviram como receptores para células das ilhotas, enquanto camundongos NOD/LtJ pré diabéticos jovens (6 a 7 semanas de
10 idade) serviram como doadores em transplantação da ilhota singênica. As ilhotas para transplantação foram isoladas como descrito acima na Seção A (Transplantação da Ilhota Alogênica).

Transplantação da Ilhota

15 Camundongos NOD/LtJ diabéticos receberam enxertos de ilhotas dentro de 2 dias da diagnose de diabetes. 500 a 600 ilhotas recém isoladas (aproximadamente 550 ilhotas equivalentes) de camundongos doadores foram acumuladas com um conjunto de infusão e transplantadas no espaço subcapular
20 do rim direito.

Tratamento Com Compostos de Teste

Compostos de teste foram administrados assim que as ilhotas foram transplantadas e continuaram durante aproximadamente 8 semanas. Camundongos foram injetados com
25 0,25 ml de PBS, TTP-4000 em PBS, ou TTP-3000 em PBS de acordo com o regime abaixo (Tabela 6).

Tabela 6

Grupo	Nº de camundongos	Volume da Dose de Carregamento	Volume da Dose de Manutenção	Regime
TTP-4000	8	(300 µg) 0,25 ml/dose/camundongo no 1º dia	(100 µg) 0,25 ml/dose/camundongo no 2º dia	(100 µg) Uma vez em dias alternados (DIAS ALTERNADOS) x 8 semanas; IP
TTP-3000	8	(300 µg) 0,25 ml/dose/camundongo no 1º dia	(100 µg) 0,25 ml/dose/camundongo no 2º dia	(100 µg) Uma vez em dias alternados (DIAS ALTERNADOS) x 8 semanas; IP
PBS	8	0,25 ml/dose/camundongo no 1º dia	0,25 ml/dose/camundongo no 2º dia	Uma vez em dias alternados (DIAS ALTERNADOS) x 8 semanas; IP

Monitoramento da Função de Enxerto da Ilhota

A função de enxerto da ilhota foi monitorada por

medições de glicose do sangue seriadas diariamente durante as primeiras 2 semanas depois da transplantação da ilhota, seguido por dias alternados desde então. A reversão de diabetes foi definida como glicose no sangue menor do que 200 mg/dl em duas medições consecutivas. A perda de enxerto em porcentagem foi determinada quando glicose no sangue excedeu 250 mg/dl em duas medições consecutivas. Os resultados são mostrados na Tabela 7.

Tabela 7

10 Efeitos de TTP-4000 e TTP-3000 em Diabetes Recorrente Em Transplantes das Ilhotas Singênicos Em Camundongos NOD *

	TTP-4000 300 µg LD + 100 µg dias alternados ip (Grupo 1)	TTP-3000 300 µg + 100 µg dias alternados ip (Grupo 2)	CONTROLE
	35	44	23
	38	46	25
	40	42	26
	43	41	22
	36	34	22
	45	32	24
	44	30	21
	38		20
			22
			21
			24

Média	39,875	38,42857	22,727273
SD	3,758324	6,32079	1,8488326
n	8	7	11

* Valores refletem o dia de perda de enxerto para cada animal como definido por recaída de níveis de glicose no sangue aumentados.

Os efeitos de administrar TTP-4000 na rejeição de ilhotas transplantadas singênicas em camundongos NOD diabéticos são mostrados como um Gráfico de Sobrevida Cumulativa de Kaplan-Meier na FIG. 22. Como mostrado nos dados da Tabela 7, houve um aumento no tempo antes da detecção de falha de enxerto para animais tratados com TTP-4000 (Grupo 1) e TTP-3000 (Grupo 2) como oposto aos animais que não são tratados em todos (Controle). A FIG. 22 mostra o aumento em tempo antes da detecção de falha de enxerto para animais tratados com TTP-4000 (Grupo 1) e animais que não são tratados em todos. Usando uma variedade de análises estatísticas (Mantel-Cox Logrank, Breslow-Gehan-Wilcoxon; Tarone-Ware, Peto-Peto-Wilcoxin; Harrington-Fleming), as diferenças entre o Controle e TTP 4000 (Grupo I) e o Controle e TTP-3000 (Grupo 2) foram significantes (Tabela 8).

Tabela 8

Método Estatístico	Controle vs Grupo 1 (TTP-4000)			Controle vs Grupo 3 (TTP-3000)		
	Chi-Square	DF*	P-valor	Chi-Square	DF	P-valor

Logrank (Mantel-Cox)	18,410	1	<0,0001	16,480	1	<0,0001
Breslow-Gehan-Wilcoxon	14,690	1	0,0001	12,927	1	0,0001
Tarone-Ware	16,529	1	<0,0001	14,686	1	0,0001
Peto-Peto-Wilcoxon	14,812	1	0,0001	13,027	1	0,0003
Harrington-Fleming (rho = 0,5)	16,529	1	<0,0001	14,686	1	0,0001

*Graus de Imunidade

O precedente é considerado como ilustrativo apenas da principal da invenção. Visto que modificações numerosas e alterações ocorrerão prontamente àqueles habilitados na técnica, não é intencionado para limitar a invenção às formas de realização exatas mostradas e descritas, e todas as modificações adequadas e equivalentes caindo dentro do escopo das reivindicações anexas são consideradas dentro do presente conceito inventivo.

LISTAGEM DE SEQUÊNCIA

<110> TransTech Pharma, Inc.
 Mjalli, Adnan M.M.
 Rothlein, Robert
 Webster, Jeffrey C.
 Tian, Ye Edward

<120> Proteínas de Fusão do RAGE e Métodos de Uso

<130> 57739-339019

<150> US 60/771.619
 <151> 2006-02-09

<160> 57

<170> Patente na Versão 3.3

<210> 1
 <211> 404
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 1

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

Trp Gly Ala Val Val Gly Ala Gln Asn Ile Thr Ala Arg Ile Gly Glu
 20 25 30

Pro Leu Val Leu Lys Cys Lys Gly Ala Pro Lys Lys Pro Pro Gln Arg
 35 40 45

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

Ser Pro Gln Gly Gly Gly Pro Trp Asp Ser Val Ala Arg Val Leu Pro
 65 70 75 80

Asn Gly Ser Leu Phe Leu Pro Ala Val Gly Ile Gln Asp Glu Gly Ile
 85 90 95

Phe Arg Cys Gln Ala Met Asn Arg Asn Gly Lys Glu Thr Lys Ser Asn
 100 105 110

Tyr Arg Val Arg Val Tyr Gln Ile Pro Gly Lys Pro Glu Ile Val Asp
 115 120 125

Ser Ala Ser Glu Leu Thr Ala Gly Val Pro Asn Lys Val Gly Thr Cys
 130 135 140

Val Ser Glu Gly Ser Tyr Pro Ala Gly Thr Leu Ser Trp His Leu Asp
 145 150 155 160

Gly Lys Pro Leu Val Pro Asn Glu Lys Gly Val Ser Val Lys Glu Gln
 165 170 175

Thr Arg Arg His Pro Glu Thr Gly Leu Phe Thr Leu Gln Ser Glu Leu
 180 185 190

Met Val Thr Pro Ala Arg Gly Gly Asp Pro Arg Pro Thr Phe Ser Cys
 195 200 205

Ser Phe Ser Pro Gly Leu Pro Arg His Arg Ala Leu Arg Thr Ala Pro
 210 215 220

Ile Gln Pro Arg Val Trp Glu Pro Val Pro Leu Glu Glu Val Gln Leu
 225 230 235 240

Val Val Glu Pro Glu Gly Gly Ala Val Ala Pro Gly Gly Thr Val Thr
 245 250 255

Leu Thr Cys Glu Val Pro Ala Gln Pro Ser Pro Gln Ile His Trp Met
 260 265 270

Lys Asp Gly Val Pro Leu Pro Leu Pro Pro Ser Pro Val Leu Ile Leu
 275 280 285

Pro Glu Ile Gly Pro Gln Asp Gln Gly Thr Tyr Ser Cys Val Ala Thr
 290 295 300

His Ser Ser His Gly Pro Gln Glu Ser Arg Ala Val Ser Ile Ser Ile
 305 310 315 320

Ile Glu Pro Gly Glu Glu Gly Pro Thr Ala Gly Ser Val Gly Gly Ser
 325 330 335

Gly Leu Gly Thr Leu Ala Leu Ala Leu Gly Ile Leu Gly Gly Leu Gly
 340 345 350

Thr Ala Ala Leu Leu Ile Gly Val Ile Leu Trp Gln Arg Arg Gln Arg
 355 360 365

Arg Gly Glu Glu Arg Lys Ala Pro Glu Asn Gln Glu Glu Glu Glu
 370 375 380

Arg Ala Glu Leu Asn Gln Ser Glu Glu Pro Glu Ala Gly Glu Ser Ser
385 390 395 400

Thr Gly Gly Pro

<210> 2
<211> 382
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 2

Ala Gln Asn Ile Thr Ala Arg Ile Gly Glu Pro Leu Val Leu Lys Cys
1 5 10 15

Lys Gly Ala Pro Lys Lys Pro Pro Gln Arg Leu Glu Trp Lys Leu Asn
20 25 30

Thr Gly Arg Thr Glu Ala Trp Lys Val Leu Ser Pro Gln Gly Gly Gly
35 40 45

Pro Trp Asp Ser Val Ala Arg Val Leu Pro Asn Gly Ser Leu Phe Leu
50 55 60

Pro Ala Val Gly Ile Gln Asp Glu Gly Ile Phe Arg Cys Gln Ala Met
65 70 75 80

Asn Arg Asn Gly Lys Glu Thr Lys Ser Asn Tyr Arg Val Arg Val Tyr
85 90 95

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

Ala Gly Val Pro Asn Lys Val Gly Thr Cys Val Ser Glu Gly Ser Tyr
115 120 125

Pro Ala Gly Thr Leu Ser Trp His Leu Asp Gly Lys Pro Leu Val Pro
130 135 140

Asn Glu Lys Gly Val Ser Val Lys Glu Gln Thr Arg Arg His Pro Glu
145 150 155 160

Thr Gly Leu Phe Thr Leu Gln Ser Glu Leu Met Val Thr Pro Ala Arg
165 170 175

Gly Gly Asp Pro Arg Pro Thr Phe Ser Cys Ser Phe Ser Pro Gly Leu
180 185 190

Pro Arg His Arg Ala Leu Arg Thr Ala Pro Ile Gln Pro Arg Val Trp
195 200 205

Glu Pro Val Pro Leu Glu Glu Val Gln Leu Val Val Glu Pro Glu Gly
210 215 220

Gly Ala Val Ala Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Glu Val Pro
225 230 235 240

Ala Gln Pro Ser Pro Gln Ile His Trp Met Lys Asp Gly Val Pro Leu
245 250 255

Pro Leu Pro Pro Ser Pro Val Leu Ile Leu Pro Glu Ile Gly Pro Gln
260 265 270

Asp Gln Gly Thr Tyr Ser Cys Val Ala Thr His Ser Ser His Gly Pro
275 280 285

Gln Glu Ser Arg Ala Val Ser Ile Ser Ile Ile Glu Pro Gly Glu Glu
290 295 300

Gly Pro Thr Ala Gly Ser Val Gly Gly Ser Gly Leu Gly Thr Leu Ala
305 310 315 320

Leu Ala Leu Gly Ile Leu Gly Gly Leu Gly Thr Ala Ala Leu Leu Ile
325 330 335

Gly Val Ile Leu Trp Gln Arg Arg Gln Arg Arg Gly Glu Glu Arg Lys
340 345 350

Ala Pro Glu Asn Gln Glu Glu Glu Glu Glu Arg Ala Glu Leu Asn Gln
355 360 365

Ser Glu Glu Pro Glu Ala Gly Glu Ser Ser Thr Gly Gly Pro
370 375 380

<210> 3

<211> 381

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

Gln Asn Ile Thr Ala Arg Ile Gly Glu Pro Leu Val Leu Lys Cys Lys
1 5 10 15

Gly Ala Pro Lys Lys Pro Pro Gln Arg Leu Glu Trp Lys Leu Asn Thr
 20 25 30

Gly Arg Thr Glu Ala Trp Lys Val Leu Ser Pro Gln Gly Gly Gly Pro
 35 40 45

Trp Asp Ser Val Ala Arg Val Leu Pro Asn Gly Ser Leu Phe Leu Pro
 50 55 60

Ala Val Gly Ile Gln Asp Glu Gly Ile Phe Arg Cys Gln Ala Met Asn
 65 70 75 80

Arg Asn Gly Lys Glu Thr Lys Ser Asn Tyr Arg Val Arg Val Tyr Gln
 85 90 95

Ile Pro Gly Lys Pro Glu Ile Val Asp Ser Ala Ser Glu Leu Thr Ala
 100 105 110

Gly Val Pro Asn Lys Val Gly Thr Cys Val Ser Glu Gly Ser Tyr Pro
 115 120 125

Ala Gly Thr Leu Ser Trp His Leu Asp Gly Lys Pro Leu Val Pro Asn
 130 135 140

Glu Lys Gly Val Ser Val Lys Glu Gln Thr Arg Arg His Pro Glu Thr
 145 150 155 160

Gly Leu Phe Thr Leu Gln Ser Glu Leu Met Val Thr Pro Ala Arg Gly
 165 170 175

Gly Asp Pro Arg Pro Thr Phe Ser Cys Ser Phe Ser Pro Gly Leu Pro
 180 185 190

Arg His Arg Ala Leu Arg Thr Ala Pro Ile Gln Pro Arg Val Trp Glu
 195 200 205

Pro Val Pro Leu Glu Glu Val Gln Leu Val Val Glu Pro Glu Gly Gly
 210 215 220

Ala Val Ala Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Glu Val Pro Ala
 225 230 235 240

Gln Pro Ser Pro Gln Ile His Trp Met Lys Asp Gly Val Pro Leu Pro
 245 250 255

Leu Pro Pro Ser Pro Val Leu Ile Leu Pro Glu Ile Gly Pro Gln Asp
260 265 270

Gln Gly Thr Tyr Ser Cys Val Ala Thr His Ser Ser His Gly Pro Gln
275 280 285

Glu Ser Arg Ala Val Ser Ile Ser Ile Ile Glu Pro Gly Glu Glu Gly
290 295 300

Pro Thr Ala Gly Ser Val Gly Gly Ser Gly Leu Gly Thr Leu Ala Leu
305 310 315 320

Ala Leu Gly Ile Leu Gly Gly Leu Gly Thr Ala Ala Leu Leu Ile Gly
325 330 335

Val Ile Leu Trp Gln Arg Arg Gln Arg Arg Gly Glu Glu Arg Lys Ala
340 345 350

Pro Glu Asn Gln Glu Glu Glu Glu Glu Arg Ala Glu Leu Asn Gln Ser
355 360 365

Glu Glu Pro Glu Ala Gly Glu Ser Ser Thr Gly Gly Pro
370 375 380

<210> 4
<211> 339
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 4

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

Trp Gly Ala Val Val Gly Ala Gln Asn Ile Thr Ala Arg Ile Gly Glu
20 25 30

Pro Leu Val Leu Lys Cys Lys Gly Ala Pro Lys Lys Pro Pro Gln Arg
35 40 45

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

Ser Pro Gln Gly Gly Gly Pro Trp Asp Ser Val Ala Arg Val Leu Pro
65 70 75 80

Asn Gly Ser Leu Phe Leu Pro Ala Val Gly Ile Gln Asp Glu Gly Ile
85 90 95

Phe Arg Cys Gln Ala Met Asn Arg Asn Gly Lys Glu Thr Lys Ser Asn
 100 105 110

Tyr Arg Val Arg Val Tyr Gln Ile Pro Gly Lys Pro Glu Ile Val Asp
 115 120 125

Ser Ala Ser Glu Leu Thr Ala Gly Val Pro Asn Lys Val Gly Thr Cys
 130 135 140

Val Ser Glu Gly Ser Tyr Pro Ala Gly Thr Leu Ser Trp His Leu Asp
 145 150 155 160

Gly Lys Pro Leu Val Pro Asn Glu Lys Gly Val Ser Val Lys Glu Gln
 165 170 175

Thr Arg Arg His Pro Glu Thr Gly Leu Phe Thr Leu Gln Ser Glu Leu
 180 185 190

Met Val Thr Pro Ala Arg Gly Gly Asp Pro Arg Pro Thr Phe Ser Cys
 195 200 205

Ser Phe Ser Pro Gly Leu Pro Arg His Arg Ala Leu Arg Thr Ala Pro
 210 215 220

Ile Gln Pro Arg Val Trp Glu Pro Val Pro Leu Glu Glu Val Gln Leu
 225 230 235 240

Val Val Glu Pro Glu Gly Gly Ala Val Ala Pro Gly Gly Thr Val Thr
 245 250 255

Leu Thr Cys Glu Val Pro Ala Gln Pro Ser Pro Gln Ile His Trp Met
 260 265 270

Lys Asp Gly Val Pro Leu Pro Leu Pro Pro Ser Pro Val Leu Ile Leu
 275 280 285

Pro Glu Ile Gly Pro Gln Asp Gln Gly Thr Tyr Ser Cys Val Ala Thr
 290 295 300

His Ser Ser His Gly Pro Gln Glu Ser Arg Ala Val Ser Ile Ser Ile
 305 310 315 320

Ile Glu Pro Gly Glu Glu Gly Pro Thr Ala Gly Ser Val Gly Gly Ser
 325 330 335

Gly Leu Gly

<210> 5
 <211> 317
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 5

Ala Gln Asn Ile Thr Ala Arg Ile Gly Glu Pro Leu Val Leu Lys Cys
 1 5 10 15

Lys Gly Ala Pro Lys Lys Pro Pro Gln Arg Leu Glu Trp Lys Leu Asn
 20 25 30

Thr Gly Arg Thr Glu Ala Trp Lys Val Leu Ser Pro Gln Gly Gly Gly
 35 40 45

Pro Trp Asp Ser Val Ala Arg Val Leu Pro Asn Gly Ser Leu Phe Leu
 50 55 60

Pro Ala Val Gly Ile Gln Asp Glu Gly Ile Phe Arg Cys Gln Ala Met
 65 70 75 80

Asn Arg Asn Gly Lys Glu Thr Lys Ser Asn Tyr Arg Val Arg Val Tyr
 85 90 95

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

Ala Gly Val Pro Asn Lys Val Gly Thr Cys Val Ser Glu Gly Ser Tyr
 115 120 125

Pro Ala Gly Thr Leu Ser Trp His Leu Asp Gly Lys Pro Leu Val Pro
 130 135 140

Asn Glu Lys Gly Val Ser Val Lys Glu Gln Thr Arg Arg His Pro Glu
 145 150 155 160

Thr Gly Leu Phe Thr Leu Gln Ser Glu Leu Met Val Thr Pro Ala Arg
 165 170 175

Gly Gly Asp Pro Arg Pro Thr Phe Ser Cys Ser Phe Ser Pro Gly Leu
 180 185 190

Pro Arg His Arg Ala Leu Arg Thr Ala Pro Ile Gln Pro Arg Val Trp
195 200 205

Glu Pro Val Pro Leu Glu Glu Val Gln Leu Val Val Glu Pro Glu Gly
210 215 220

Gly Ala Val Ala Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Glu Val Pro
225 230 235 240

Ala Gln Pro Ser Pro Gln Ile His Trp Met Lys Asp Gly Val Pro Leu
245 250 255

Pro Leu Pro Pro Ser Pro Val Leu Ile Leu Pro Glu Ile Gly Pro Gln
260 265 270

Asp Gln Gly Thr Tyr Ser Cys Val Ala Thr His Ser Ser His Gly Pro
275 280 285

Gln Glu Ser Arg Ala Val Ser Ile Ser Ile Ile Glu Pro Gly Glu Glu
290 295 300

Gly Pro Thr Ala Gly Ser Val Gly Gly Ser Gly Leu Gly
305 310 315

<210> 6
<211> 316
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 6

Gln Asn Ile Thr Ala Arg Ile Gly Glu Pro Leu Val Leu Lys Cys Lys
1 5 10 15

Gly Ala Pro Lys Lys Pro Pro Gln Arg Leu Glu Trp Lys Leu Asn Thr
20 25 30

Gly Arg Thr Glu Ala Trp Lys Val Leu Ser Pro Gln Gly Gly Gly Pro
35 40 45

Trp Asp Ser Val Ala Arg Val Leu Pro Asn Gly Ser Leu Phe Leu Pro
50 55 60

Ala Val Gly Ile Gln Asp Glu Gly Ile Phe Arg Cys Gln Ala Met Asn
65 70 75 80

Arg Asn Gly Lys Glu Thr Lys Ser Asn Tyr Arg Val Arg Val Tyr Gln
85 90 95

Ile Pro Gly Lys Pro Glu Ile Val Asp Ser Ala Ser Glu Leu Thr Ala
 100 105 110

Gly Val Pro Asn Lys Val Gly Thr Cys Val Ser Glu Gly Ser Tyr Pro
 115 120 125

Ala Gly Thr Leu Ser Trp His Leu Asp Gly Lys Pro Leu Val Pro Asn
 130 135 140

Glu Lys Gly Val Ser Val Lys Glu Gln Thr Arg Arg His Pro Glu Thr
 145 150 155 160

Gly Leu Phe Thr Leu Gln Ser Glu Leu Met Val Thr Pro Ala Arg Gly
 165 170 175

Gly Asp Pro Arg Pro Thr Phe Ser Cys Ser Phe Ser Pro Gly Leu Pro
 180 185 190

Arg His Arg Ala Leu Arg Thr Ala Pro Ile Gln Pro Arg Val Trp Glu
 195 200 205

Pro Val Pro Leu Glu Glu Val Gln Leu Val Val Glu Pro Glu Gly Gly
 210 215 220

Ala Val Ala Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Glu Val Pro Ala
 225 230 235 240

Gln Pro Ser Pro Gln Ile His Trp Met Lys Asp Gly Val Pro Leu Pro
 245 250 255

Leu Pro Pro Ser Pro Val Leu Ile Leu Pro Glu Ile Gly Pro Gln Asp
 260 265 270

Gln Gly Thr Tyr Ser Cys Val Ala Thr His Ser Ser His Gly Pro Gln
 275 280 285

Glu Ser Arg Ala Val Ser Ile Ser Ile Ile Glu Pro Gly Glu Glu Gly
 290 295 300

Pro Thr Ala Gly Ser Val Gly Gly Ser Gly Leu Gly
 305 310 315

<210> 7

<211> 94

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 7

Ala Gln Asn Ile Thr Ala Arg Ile Gly Glu Pro Leu Val Leu Lys Cys
1 5 10 15

Lys Gly Ala Pro Lys Lys Pro Pro Gln Arg Leu Glu Trp Lys Leu Asn
20 25 30

Thr Gly Arg Thr Glu Ala Trp Lys Val Leu Ser Pro Gln Gly Gly Gly
35 40 45

Pro Trp Asp Ser Val Ala Arg Val Leu Pro Asn Gly Ser Leu Phe Leu
50 55 60

Pro Ala Val Gly Ile Gln Asp Glu Gly Ile Phe Arg Cys Gln Ala Met
65 70 75 80

Asn Arg Asn Gly Lys Glu Thr Lys Ser Asn Tyr Arg Val Arg
85 90

<210> 8

<211> 93

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 8

Gln Asn Ile Thr Ala Arg Ile Gly Glu Pro Leu Val Leu Lys Cys Lys
1 5 10 15

Gly Ala Pro Lys Lys Pro Pro Gln Arg Leu Glu Trp Lys Leu Asn Thr
20 25 30

Gly Arg Thr Glu Ala Trp Lys Val Leu Ser Pro Gln Gly Gly Gly Pro
35 40 45

Trp Asp Ser Val Ala Arg Val Leu Pro Asn Gly Ser Leu Phe Leu Pro
50 55 60

Ala Val Gly Ile Gln Asp Glu Gly Ile Phe Arg Cys Gln Ala Met Asn
65 70 75 80

Arg Asn Gly Lys Glu Thr Lys Ser Asn Tyr Arg Val Arg
85 90

<210> 9

<211> 30

<212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 9

Ala Gln Asn Ile Thr Ala Arg Ile Gly Glu Pro Leu Val Leu Lys Cys
 1 5 10 15

Lys Gly Ala Pro Lys Lys Pro Pro Gln Arg Leu Glu Trp Lys
 20 25 30

<210> 10
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 10

Gln Asn Ile Thr Ala Arg Ile Gly Glu Pro Leu Val Leu Lys Cys Lys
 1 5 10 15

Gly Ala Pro Lys Lys Pro Pro Gln Arg Leu Glu Trp Lys
 20 25

<210> 11
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 11

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

Lys Val Gly Thr Cys Val Ser Glu Gly Ser Tyr Pro Ala Gly Thr Leu
 20 25 30

Ser Trp His Leu Asp Gly Lys Pro Leu Val Pro Asn Glu Lys Gly Val
 35 40 45

Ser Val Lys Glu Gln Thr Arg Arg His Pro Glu Thr Gly Leu Phe Thr
 50 55 60

Leu Gln Ser Glu Leu Met Val Thr Pro Ala Arg Gly Gly Asp Pro Arg
 65 70 75 80

Pro Thr Phe Ser Cys Ser Phe Ser Pro Gly Leu Pro Arg His Arg Ala
 85 90 95

Leu Arg

<210> 12
 <211> 91
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 12

Pro Arg Val Trp Glu Pro Val Pro Leu Glu Glu Val Gln Leu Val Val
 1 5 10 15

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

Cys Glu Val Pro Ala Gln Pro Ser Pro Gln Ile His Trp Met Lys Asp
 35 40 45

Gly Val Pro Leu Pro Leu Pro Pro Ser Pro Val Leu Ile Leu Pro Glu
 50 55 60

Ile Gly Pro Gln Asp Gln Gly Thr Tyr Ser Cys Val Ala Thr His Ser
 65 70 75 80

Ser His Gly Pro Gln Glu Ser Arg Ala Val Ser
 85 90

<210> 13
 <211> 101
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 13

Ala Gln Asn Ile Thr Ala Arg Ile Gly Glu Pro Leu Val Leu Lys Cys
 1 5 10 15

Lys Gly Ala Pro Lys Lys Pro Pro Gln Arg Leu Glu Trp Lys Leu Asn
 20 25 30

Thr Gly Arg Thr Glu Ala Trp Lys Val Leu Ser Pro Gln Gly Gly Gly
 35 40 45

Pro Trp Asp Ser Val Ala Arg Val Leu Pro Asn Gly Ser Leu Phe Leu
 50 55 60

Pro Ala Val Gly Ile Gln Asp Glu Gly Ile Phe Arg Cys Gln Ala Met
 65 70 75 80

Asn Arg Asn Gly Lys Glu Thr Lys Ser Asn Tyr Arg Val Arg Val Tyr
85 90 95

Gln Ile Pro Gly Lys
100

<210> 14
<211> 100
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 14

Gln Asn Ile Thr Ala Arg Ile Gly Glu Pro Leu Val Leu Lys Cys Lys
1 5 10 15

Gly Ala Pro Lys Lys Pro Pro Gln Arg Leu Glu Trp Lys Leu Asn Thr
20 25 30

Gly Arg Thr Glu Ala Trp Lys Val Leu Ser Pro Gln Gly Gly Gly Pro
35 40 45

Trp Asp Ser Val Ala Arg Val Leu Pro Asn Gly Ser Leu Phe Leu Pro
50 55 60

Ala Val Gly Ile Gln Asp Glu Gly Ile Phe Arg Cys Gln Ala Met Asn
65 70 75 80

Arg Asn Gly Lys Glu Thr Lys Ser Asn Tyr Arg Val Arg Val Tyr Gln
85 90 95

Ile Pro Gly Lys
100

<210> 15
<211> 114
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 15

Ala Gln Asn Ile Thr Ala Arg Ile Gly Glu Pro Leu Val Leu Lys Cys
1 5 10 15

Lys Gly Ala Pro Lys Lys Pro Pro Gln Arg Leu Glu Trp Lys Leu Asn
20 25 30

Thr Gly Arg Thr Glu Ala Trp Lys Val Leu Ser Pro Gln Gly Gly Gly
35 40 45

Pro Trp Asp Ser Val Ala Arg Val Leu Pro Asn Gly Ser Leu Phe Leu
50 55 60

Pro Ala Val Gly Ile Gln Asp Glu Gly Ile Phe Arg Cys Gln Ala Met
65 70 75 80

Asn Arg Asn Gly Lys Glu Thr Lys Ser Asn Tyr Arg Val Arg Val Tyr
85 90 95

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

Ala Gly

<210> 16
<211> 113
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 16

Gln Asn Ile Thr Ala Arg Ile Gly Glu Pro Leu Val Leu Lys Cys Lys
1 5 10 15

Gly Ala Pro Lys Lys Pro Pro Gln Arg Leu Glu Trp Lys Leu Asn Thr
20 25 30

Gly Arg Thr Glu Ala Trp Lys Val Leu Ser Pro Gln Gly Gly Gly Pro
35 40 45

Trp Asp Ser Val Ala Arg Val Leu Pro Asn Gly Ser Leu Phe Leu Pro
50 55 60

Ala Val Gly Ile Gln Asp Glu Gly Ile Phe Arg Cys Gln Ala Met Asn
65 70 75 80

Arg Asn Gly Lys Glu Thr Lys Ser Asn Tyr Arg Val Arg Val Tyr Gln
85 90 95

Ile Pro Gly Lys Pro Glu Ile Val Asp Ser Ala Ser Glu Leu Thr Ala
100 105 110

Gly

<210> 17

<211> 204
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 17

Ala Gln Asn Ile Thr Ala Arg Ile Gly Glu Pro Leu Val Leu Lys Cys
 1 5 10 15

Lys Gly Ala Pro Lys Lys Pro Pro Gln Arg Leu Glu Trp Lys Leu Asn
 20 25 30

Thr Gly Arg Thr Glu Ala Trp Lys Val Leu Ser Pro Gln Gly Gly Gly
 35 40 45

Pro Trp Asp Ser Val Ala Arg Val Leu Pro Asn Gly Ser Leu Phe Leu
 50 55 60

Pro Ala Val Gly Ile Gln Asp Glu Gly Ile Phe Arg Cys Gln Ala Met
 65 70 75 80

Asn Arg Asn Gly Lys Glu Thr Lys Ser Asn Tyr Arg Val Arg Val Tyr
 85 90 95

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

Ala Gly Val Pro Asn Lys Val Gly Thr Cys Val Ser Glu Gly Ser Tyr
 115 120 125

Pro Ala Gly Thr Leu Ser Trp His Leu Asp Gly Lys Pro Leu Val Pro
 130 135 140

Asn Glu Lys Gly Val Ser Val Lys Glu Gln Thr Arg Arg His Pro Glu
 145 150 155 160

Thr Gly Leu Phe Thr Leu Gln Ser Glu Leu Met Val Thr Pro Ala Arg
 165 170 175

Gly Gly Asp Pro Arg Pro Thr Phe Ser Cys Ser Phe Ser Pro Gly Leu
 180 185 190

Pro Arg His Arg Ala Leu Arg Thr Ala Pro Ile Gln
 195 200

<210> 18
 <211> 203
 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 18

Gln Asn Ile Thr Ala Arg Ile Gly Glu Pro Leu Val Leu Lys Cys Lys
1 5 10 15

Gly Ala Pro Lys Lys Pro Pro Gln Arg Leu Glu Trp Lys Leu Asn Thr
20 25 30

Gly Arg Thr Glu Ala Trp Lys Val Leu Ser Pro Gln Gly Gly Gly Pro
35 40 45

Trp Asp Ser Val Ala Arg Val Leu Pro Asn Gly Ser Leu Phe Leu Pro
50 55 60

Ala Val Gly Ile Gln Asp Glu Gly Ile Phe Arg Cys Gln Ala Met Asn
65 70 75 80

Arg Asn Gly Lys Glu Thr Lys Ser Asn Tyr Arg Val Arg Val Tyr Gln
85 90 95

Ile Pro Gly Lys Pro Glu Ile Val Asp Ser Ala Ser Glu Leu Thr Ala
100 105 110

Gly Val Pro Asn Lys Val Gly Thr Cys Val Ser Glu Gly Ser Tyr Pro
115 120 125

Ala Gly Thr Leu Ser Trp His Leu Asp Gly Lys Pro Leu Val Pro Asn
130 135 140

Glu Lys Gly Val Ser Val Lys Glu Gln Thr Arg Arg His Pro Glu Thr
145 150 155 160

Gly Leu Phe Thr Leu Gln Ser Glu Leu Met Val Thr Pro Ala Arg Gly
165 170 175

Gly Asp Pro Arg Pro Thr Phe Ser Cys Ser Phe Ser Pro Gly Leu Pro
180 185 190

Arg His Arg Ala Leu Arg Thr Ala Pro Ile Gln
195 200

<210> 19

<211> 229

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 19

Ala Gln Asn Ile Thr Ala Arg Ile Gly Glu Pro Leu Val Leu Lys Cys
1 5 10 15

Lys Gly Ala Pro Lys Lys Pro Pro Gln Arg Leu Glu Trp Lys Leu Asn
20 25 30

Thr Gly Arg Thr Glu Ala Trp Lys Val Leu Ser Pro Gln Gly Gly Gly
35 40 45

Pro Trp Asp Ser Val Ala Arg Val Leu Pro Asn Gly Ser Leu Phe Leu
50 55 60

Pro Ala Val Gly Ile Gln Asp Glu Gly Ile Phe Arg Cys Gln Ala Met
65 70 75 80

Asn Arg Asn Gly Lys Glu Thr Lys Ser Asn Tyr Arg Val Arg Val Tyr
85 90 95

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

Ala Gly Val Pro Asn Lys Val Gly Thr Cys Val Ser Glu Gly Ser Tyr
115 120 125

Pro Ala Gly Thr Leu Ser Trp His Leu Asp Gly Lys Pro Leu Val Pro
130 135 140

Asn Glu Lys Gly Val Ser Val Lys Glu Gln Thr Arg Arg His Pro Glu
145 150 155 160

Thr Gly Leu Phe Thr Leu Gln Ser Glu Leu Met Val Thr Pro Ala Arg
165 170 175

Gly Gly Asp Pro Arg Pro Thr Phe Ser Cys Ser Phe Ser Pro Gly Leu
180 185 190

Pro Arg His Arg Ala Leu Arg Thr Ala Pro Ile Gln Pro Arg Val Trp
195 200 205

Glu Pro Val Pro Leu Glu Glu Val Gln Leu Val Val Glu Pro Glu Gly
210 215 220

Gly Ala Val Ala Pro
225

<210> 20
 <211> 228
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 20

Gln Asn Ile Thr Ala Arg Ile Gly Glu Pro Leu Val Leu Lys Cys Lys
 1 5 10 15

Gly Ala Pro Lys Lys Pro Pro Gln Arg Leu Glu Trp Lys Leu Asn Thr
 20 25 30

Gly Arg Thr Glu Ala Trp Lys Val Leu Ser Pro Gln Gly Gly Gly Pro
 35 40 45

Trp Asp Ser Val Ala Arg Val Leu Pro Asn Gly Ser Leu Phe Leu Pro
 50 55 60

Ala Val Gly Ile Gln Asp Glu Gly Ile Phe Arg Cys Gln Ala Met Asn
 65 70 75 80

Arg Asn Gly Lys Glu Thr Lys Ser Asn Tyr Arg Val Arg Val Tyr Gln
 85 90 95

Ile Pro Gly Lys Pro Glu Ile Val Asp Ser Ala Ser Glu Leu Thr Ala
 100 105 110

Gly Val Pro Asn Lys Val Gly Thr Cys Val Ser Glu Gly Ser Tyr Pro
 115 120 125

Ala Gly Thr Leu Ser Trp His Leu Asp Gly Lys Pro Leu Val Pro Asn
 130 135 140

Glu Lys Gly Val Ser Val Lys Glu Gln Thr Arg Arg His Pro Glu Thr
 145 150 155 160

Gly Leu Phe Thr Leu Gln Ser Glu Leu Met Val Thr Pro Ala Arg Gly
 165 170 175

Gly Asp Pro Arg Pro Thr Phe Ser Cys Ser Phe Ser Pro Gly Leu Pro
 180 185 190

Arg His Arg Ala Leu Arg Thr Ala Pro Ile Gln Pro Arg Val Trp Glu
 195 200 205

Pro Val Pro Leu Glu Glu Val Gln Leu Val Val Glu Pro Glu Gly Gly
 210 215 220

Ala Val Ala Pro
 225

<210> 21
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 21

Val Tyr Gln Ile Pro Gly Lys
 1 5

<210> 22
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 22

Thr Ala Pro Ile Gln Pro Arg Val Trp Glu Pro Val Pro Leu Glu Glu
 1 5 10 15

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

<210> 23
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 23

Val Tyr Gln Ile Pro Gly Lys Pro Glu Ile Val Asp Ser Ala Ser Glu
 1 5 10 15

Leu Thr Ala Gly
 20

<210> 24
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 24

Thr Ala Pro Ile Gln
 1 5

<210> 25

<211> 354
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 25
 atggcagccg gaacagcagt tggagcctgg gtgctggtcc tcagtctgtg gggggcagta 60
 gtaggtgctc aaaacatcac agcccggatt ggcgagccac tgggtgctgaa gtgtaagggg 120
 gcccccaaga aaccacccca gcggttgaa tggaaactga acacaggccg gacagaagct 180
 tggaaggtcc tgtctcccca gggaggaggc ccctgggaca gtgtggctcg tgtccttccc 240
 aacggctccc tcttccttcc ggctgtcggg atccaggatg aggggatttt cgggtgccag 300
 gcaatgaaca ggaatggaaa ggagaccaag tccaactacc gagtccgtgt ctac 354

<210> 26
 <211> 369
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 26
 atggcagccg gaacagcagt tggagcctgg gtgctggtcc tcagtctgtg gggggcagta 60
 gtaggtgctc aaaacatcac agcccggatt ggcgagccac tgggtgctgaa gtgtaagggg 120
 gcccccaaga aaccacccca gcggttgaa tggaaactga acacaggccg gacagaagct 180
 tggaaggtcc tgtctcccca gggaggaggc ccctgggaca gtgtggctcg tgtccttccc 240
 aacggctccc tcttccttcc ggctgtcggg atccaggatg aggggatttt cgggtgcoag 300
 gcaatgaaca ggaatggaaa ggagaccaag tccaactacc gagtccgtgt ctaccagatt 360
 cctgggaag 369

<210> 27
 <211> 408
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 27
 atggcagccg gaacagcagt tggagcctgg gtgctggtcc tcagtctgtg gggggcagta 60
 gtaggtgctc aaaacatcac agcccggatt ggcgagccac tgggtgctgaa gtgtaagggg 120
 gcccccaaga aaccacccca gcggttgaa tggaaactga acacaggccg gacagaagct 180
 tggaaggtcc tgtctcccca gggaggaggc ccctgggaca gtgtggctcg tgtccttccc 240
 aacggctccc tcttccttcc ggctgtcggg atccaggatg aggggatttt cgggtgccag 300
 gcaatgaaca ggaatggaaa ggagaccaag tccaactacc gagtccgtgt ctaccagatt 360
 cctgggaagc cagaaattgt agattctgcc tctgaactca cggctggt 408

<210> 28

<211> 690
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 28
 atggcagccg gaacagcagt tggagcctgg gtgctggtcc tcagtctgtg gggggcagta 60
 gtaggtgctc aaaacatcac agcccggatt ggcgagccac tgggtgctgaa gtgtaagggg 120
 gcccccaaga aaccacccca gcggttgaa tggaaactga acacaggccg gacagaagct 180
 tggaaaggtcc tgtctcccca gggaggaggc cctgggaca gtgtggctcg tgccttccc 240
 aacggctccc tcttcttcc ggctgtcggg atccaggatg aggggatttt ccgggtccag 300
 gcaatgaaca ggaatggaaa ggagaccaag tccaactacc gagtccgtgt ctaccagatt 360
 cctgggaagc cagaaattgt agattctgcc tctgaactca cggctggtgt tccaataag 420
 gtggggacat gtgtgtcaga ggggagctac cctgcaggga ctcttagctg gcacttgat 480
 gggaagcccc tgggtgcctaa tgagaaggga gtatctgtga aggaacagac caggagacac 540
 cctgagacag ggctcttcac actgcagtcg gagctaattg tgacccagc ccggggagga 600
 gatccccgtc ccaccttctc ctgtagcttc agcccaggcc tccccgaca ccgggccttg 660
 cgcacagccc ccatccagcc ccgtgtctgg 690

<210> 29
 <211> 753
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 29
 atggcagccg gaacagcagt tggagcctgg gtgctggtcc tcagtctgtg gggggcagta 60
 gtaggtgctc aaaacatcac agcccggatt ggcgagccac tgggtgctgaa gtgtaagggg 120
 gcccccaaga aaccacccca gcggttgaa tggaaactga acacaggccg gacagaagct 180
 tggaaaggtcc tgtctcccca gggaggaggc cctgggaca gtgtggctcg tgccttccc 240
 aacggctccc tcttcttcc ggctgtcggg atccaggatg aggggatttt ccgggtccag 300
 gcaatgaaca ggaatggaaa ggagaccaag tccaactacc gagtccgtgt ctaccagatt 360
 cctgggaagc cagaaattgt agattctgcc tctgaactca cggctggtgt tccaataag 420
 gtggggacat gtgtgtcaga ggggagctac cctgcaggga ctcttagctg gcacttgat 480
 gggaagcccc tgggtgcctaa tgagaaggga gtatctgtga aggaacagac caggagacac 540
 cctgagacag ggctcttcac actgcagtcg gagctaattg tgacccagc ccggggagga 600
 gatccccgtc ccaccttctc ctgtagcttc agcccaggcc tccccgaca ccgggccttg 660
 cgcacagccc ccatccagcc ccgtgtctgg gagcctgtgc ctctggagga ggtccaattg 720
 gtgggtggagc cagaaggtgg agcagtagct cct 753

<210> 30
 <211> 1386
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> Homo sapiens

<400> 30
 atggcagccg gaacagcagt tggagcctgg gtgctggtcc tcagtctgtg gggggcagta 60
 gtaggtgctc aaaacatcac agcccggatt ggcgagccac tggtgctgaa gtgtaagggg 120
 gcccccaaga aaccacccca gcggctggaa tggaaactga acacaggccg gacagaagct 180
 tggaaggtcc tgtctcccca gggaggaggc ccttgggaca gtgtggctcg tgtccttccc 240
 aacggctccc tcttccttcc ggctgtcggg atccaggatg aggggatttt cgggtgccag 300
 gcaatgaaca ggaatggaaa ggagaccaag tocaactacc gagtccgtgt ctaccagatt 360
 cctgggaagc cagaaattgt agattctgcc tctgaactca cggctggtgt tcccaataag 420
 gtggggacat gtgtgtcaga ggggagctac cctgcaggga ctcttagctg gcaactggat 480
 ggggaagcccc tgggtgcctaa tgagaaggga gtatctgtga aggaacagac caggagacac 540
 cctgagacag ggctcttcac actgcagtcg gagctaattg tgaccccagc cgggggagga 600
 gatccccgtc ccaccttctc ctgtagcttc agcccaggcc tccccgaca cggggccttg 660
 cgcacagccc ccatccagcc ccgtgtctgg gagcctgtgc ctctggagga ggtccaattg 720
 gtggtggagc cagaaggtgg agcagtagct cctccgtcag tcttcctctt cccccaaaa 780
 cccaaggaca ccctcatgat ctcccgacc cctgaggtca catgcgtggt ggtggacgtg 840
 agccacgaag accctgaggt caagttcaac tggtagctgg acggcgtgga ggtgcataat 900
 gccaaagaaa agccgcggga ggagcagtac aacagcacgt accgtgtggt cagcgtcctc 960
 accgtcctgc accaggactg gctgaatggc aaggagtaca agtgcaaggt ctccaacaaa 1020
 gccctcccag ccccatcga gaaaaccatc tccaaagcca aagggcagcc ccgagaacca 1080
 caggtgtaca ccctgcccc atcccgggat gagctgacca agaaccaggt cagcctgacc 1140
 tgcctggtca aaggcttcta tcccagcgac atcgccgtgg agtgggagag caatgggcag 1200
 ccggagaaca actacaagac cagcctccc gtgctggact ccgacggctc cttcttctc 1260
 tacagcaagc tcaccgtgga caagagcagg tggcagcagg ggaacgtctt ctcatgtccc 1320
 gtgatgcatg aggtctctgca caaccactac acgcagaaga gcctctccct gtctccgggt 1380
 aatga 1386

<210> 31

<211> 1041
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> Homo sapiens

<400> 31
 atggcagccg gaacagcagt tggagcctgg gtgctggtcc tcagtctgtg gggggcagta 60
 gtaggtgctc aaaacatcac agcccggatt ggcgagccac tgggtgctgaa gtgtaagggg 120
 gcccccaaga aaccacccca gcggctggaa tggaaactga acacaggccg gacagaagct 180
 tggaaggtcc tgctctccca gggaggaggc ccctgggaca gtgtggctcg tgccttccc 240
 aacggctccc tcttcttccc ggctgtcggg atccaggatg aggggatttt ccggtgccag 300
 gcaatgaaca ggaatggaaa ggagaccaag tccaactacc gagtccgtgt ctaccagatt 360
 cctgggaagc cagaaattgt agattctgcc tctgaactca cggctggtcc gtcagtcttc 420
 ctcttccccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggaccctga ggtcacatgc 480
 gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc 540
 gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagccg cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgt 600
 gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc 660
 aaggtctcca acaaagccct ccagccccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggg 720
 cagccccgag aaccacaggt gtacaccctg ccccatccc gggatgagct gaccaagaac 780
 caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctatccca gcgacatcg cgtggagtgg 840
 gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacgc ctcccgtgct ggactccgac 900
 ggctccttct tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcagggtggca gcaggggaac 960
 gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc 1020
 tccctgtctc cgggtaaata a 1041

<210> 32
 <211> 461
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Homo sapiens

<400> 32

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

Trp Gly Ala Val Val Gly Ala Gln Asn Ile Thr Ala Arg Ile Gly Glu
 20 25 30

Pro Leu Val Leu Lys Cys Lys Gly Ala Pro Lys Lys Pro Pro Gln Arg
35 40 45

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

Ser Pro Gln Gly Gly Gly Pro Trp Asp Ser Val Ala Arg Val Leu Pro
65 70 75 80

Asn Gly Ser Leu Phe Leu Pro Ala Val Gly Ile Gln Asp Glu Gly Ile
85 90 95

Phe Arg Cys Gln Ala Met Asn Arg Asn Gly Lys Glu Thr Lys Ser Asn
100 105 110

Tyr Arg Val Arg Val Tyr Gln Ile Pro Gly Lys Pro Glu Ile Val Asp
115 120 125

Ser Ala Ser Glu Leu Thr Ala Gly Val Pro Asn Lys Val Gly Thr Cys
130 135 140

Val Ser Glu Gly Ser Tyr Pro Ala Gly Thr Leu Ser Trp His Leu Asp
145 150 155 160

Gly Lys Pro Leu Val Pro Asn Glu Lys Gly Val Ser Val Lys Glu Gln
165 170 175

Thr Arg Arg His Pro Glu Thr Gly Leu Phe Thr Leu Gln Ser Glu Leu
180 185 190

Met Val Thr Pro Ala Arg Gly Gly Asp Pro Arg Pro Thr Phe Ser Cys
195 200 205

Ser Phe Ser Pro Gly Leu Pro Arg His Arg Ala Leu Arg Thr Ala Pro
210 215 220

Ile Gln Pro Arg Val Trp Glu Pro Val Pro Leu Glu Glu Val Gln Leu
225 230 235 240

Val Val Glu Pro Glu Gly Gly Ala Val Ala Pro Pro Ser Val Phe Leu
245 250 255

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
260 265 270

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
275 280 285

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
290 295 300

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
305 310 315 320

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
325 330 335

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
340 345 350

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
355 360 365

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
370 375 380

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
385 390 395 400

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
405 410 415

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
420 425 430

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
435 440 445

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455 460

<210> 33
<211> 439
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Homo sapiens

<400> 33

Ala Gln Asn Ile Thr Ala Arg Ile Gly Glu Pro Leu Val Leu Lys Cys
1 5 10 15

Lys Gly Ala Pro Lys Lys Pro Pro Gln Arg Leu Glu Trp Lys Leu Asn
20 25 30

Thr Gly Arg Thr Glu Ala Trp Lys Val Leu Ser Pro Gln Gly Gly Gly
35 40 45

Pro Trp Asp Ser Val Ala Arg Val Leu Pro Asn Gly Ser Leu Phe Leu
50 55 60

Pro Ala Val Gly Ile Gln Asp Glu Gly Ile Phe Arg Cys Gln Ala Met
65 70 75 80

Asn Arg Asn Gly Lys Glu Thr Lys Ser Asn Tyr Arg Val Arg Val Tyr
85 90 95

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

Ala Gly Val Pro Asn Lys Val Gly Thr Cys Val Ser Glu Gly Ser Tyr
115 120 125

Pro Ala Gly Thr Leu Ser Trp His Leu Asp Gly Lys Pro Leu Val Pro
130 135 140

Asn Glu Lys Gly Val Ser Val Lys Glu Gln Thr Arg Arg His Pro Glu
145 150 155 160

Thr Gly Leu Phe Thr Leu Gln Ser Glu Leu Met Val Thr Pro Ala Arg
165 170 175

Gly Gly Asp Pro Arg Pro Thr Phe Ser Cys Ser Phe Ser Pro Gly Leu
180 185 190

Pro Arg His Arg Ala Leu Arg Thr Ala Pro Ile Gln Pro Arg Val Trp
195 200 205

Glu Pro Val Pro Leu Glu Glu Val Gln Leu Val Val Glu Pro Glu Gly
210 215 220

Gly Ala Val Ala Pro Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
225 230 235 240

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
245 250 255

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
260 265 270

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
275 280 285

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
290 295 300

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
305 310 315 320

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
325 330 335

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys
340 345 350

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
355 360 365

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
370 375 380

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
385 390 395 400

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
405 410 415

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
420 425 430

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435

<210> 34
<211> 438
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Homo sapiens

<400> 34

Gln Asn Ile Thr Ala Arg Ile Gly Glu Pro Leu Val Leu Lys Cys Lys
1 5 10 15

Gly Ala Pro Lys Lys Pro Pro Gln Arg Leu Glu Trp Lys Leu Asn Thr
 20 25 30

Gly Arg Thr Glu Ala Trp Lys Val Leu Ser Pro Gln Gly Gly Gly Pro
 35 40 45

Trp Asp Ser Val Ala Arg Val Leu Pro Asn Gly Ser Leu Phe Leu Pro
 50 55 60

Ala Val Gly Ile Gln Asp Glu Gly Ile Phe Arg Cys Gln Ala Met Asn
 65 70 75 80

Arg Asn Gly Lys Glu Thr Lys Ser Asn Tyr Arg Val Arg Val Tyr Gln
 85 90 95

Ile Pro Gly Lys Pro Glu Ile Val Asp Ser Ala Ser Glu Leu Thr Ala
 100 105 110

Gly Val Pro Asn Lys Val Gly Thr Cys Val Ser Glu Gly Ser Tyr Pro
 115 120 125

Ala Gly Thr Leu Ser Trp His Leu Asp Gly Lys Pro Leu Val Pro Asn
 130 135 140

Glu Lys Gly Val Ser Val Lys Glu Gln Thr Arg Arg His Pro Glu Thr
 145 150 155 160

Gly Leu Phe Thr Leu Gln Ser Glu Leu Met Val Thr Pro Ala Arg Gly
 165 170 175

Gly Asp Pro Arg Pro Thr Phe Ser Cys Ser Phe Ser Pro Gly Leu Pro
 180 185 190

Arg His Arg Ala Leu Arg Thr Ala Pro Ile Gln Pro Arg Val Trp Glu
 195 200 205

Pro Val Pro Leu Glu Glu Val Gln Leu Val Val Glu Pro Glu Gly Gly
 210 215 220

Ala Val Ala Pro Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
 225 230 235 240

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
 245 250 255

Gly Ala Pro Lys Lys Pro Pro Gln Arg Leu Glu Trp Lys Leu Asn Thr
 20 25 30

Gly Arg Thr Glu Ala Trp Lys Val Leu Ser Pro Gln Gly Gly Gly Pro
 35 40 45

Trp Asp Ser Val Ala Arg Val Leu Pro Asn Gly Ser Leu Phe Leu Pro
 50 55 60

Ala Val Gly Ile Gln Asp Glu Gly Ile Phe Arg Cys Gln Ala Met Asn
 65 70 75 80

Arg Asn Gly Lys Glu Thr Lys Ser Asn Tyr Arg Val Arg Val Tyr Gln
 85 90 95

Ile Pro Gly Lys Pro Glu Ile Val Asp Ser Ala Ser Glu Leu Thr Ala
 100 105 110

Gly Val Pro Asn Lys Val Gly Thr Cys Val Ser Glu Gly Ser Tyr Pro
 115 120 125

Ala Gly Thr Leu Ser Trp His Leu Asp Gly Lys Pro Leu Val Pro Asn
 130 135 140

Glu Lys Gly Val Ser Val Lys Glu Gln Thr Arg Arg His Pro Glu Thr
 145 150 155 160

Gly Leu Phe Thr Leu Gln Ser Glu Leu Met Val Thr Pro Ala Arg Gly
 165 170 175

Gly Asp Pro Arg Pro Thr Phe Ser Cys Ser Phe Ser Pro Gly Leu Pro
 180 185 190

Arg His Arg Ala Leu Arg Thr Ala Pro Ile Gln Pro Arg Val Trp Glu
 195 200 205

Pro Val Pro Leu Glu Glu Val Gln Leu Val Val Glu Pro Glu Gly Gly
 210 215 220

Ala Val Ala Pro Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
 225 230 235 240

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
 245 250 255

Trp Gly Ala Val Val Gly Ala Gln Asn Ile Thr Ala Arg Ile Gly Glu
 20 25 30

Pro Leu Val Leu Lys Cys Lys Gly Ala Pro Lys Lys Pro Pro Gln Arg
 35 40 45

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

Ser Pro Gln Gly Gly Gly Pro Trp Asp Ser Val Ala Arg Val Leu Pro
 65 70 75 80

Asn Gly Ser Leu Phe Leu Pro Ala Val Gly Ile Gln Asp Glu Gly Ile
 85 90 95

Phe Arg Cys Gln Ala Met Asn Arg Asn Gly Lys Glu Thr Lys Ser Asn
 100 105 110

Tyr Arg Val Arg Val Tyr Gln Ile Pro Gly Lys Pro Glu Ile Val Asp
 115 120 125

Ser Ala Ser Glu Leu Thr Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 130 135 140

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 145 150 155 160

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 165 170 175

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 180 185 190

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 195 200 205

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 210 215 220

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 225 230 235 240

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
 245 250 255

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
260 265 270

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
275 280 285

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
290 295 300

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

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
325 330 335

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
340 345

<210> 36
<211> 324
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Homo sapiens

<400> 36

Ala Gln Asn Ile Thr Ala Arg Ile Gly Glu Pro Leu Val Leu Lys Cys
1 5 10 15

Lys Gly Ala Pro Lys Lys Pro Pro Gln Arg Leu Glu Trp Lys Leu Asn
20 25 30

Thr Gly Arg Thr Glu Ala Trp Lys Val Leu Ser Pro Gln Gly Gly Gly
35 40 45

Pro Trp Asp Ser Val Ala Arg Val Leu Pro Asn Gly Ser Leu Phe Leu
50 55 60

Pro Ala Val Gly Ile Gln Asp Glu Gly Ile Phe Arg Cys Gln Ala Met
65 70 75 80

Asn Arg Asn Gly Lys Glu Thr Lys Ser Asn Tyr Arg Val Arg Val Tyr
85 90 95

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

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

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
 130 135 140

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
 145 150 155 160

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
 165 170 175

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
 180 185 190

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
 195 200 205

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
 210 215 220

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
 225 230 235 240

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
 245 250 255

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 260 265 270

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
 275 280 285

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 290 295 300

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 305 310 315 320

Ser Pro Gly Lys

<210> 37
 <211> 323
 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Homo sapiens

<400> 37

Gln Asn Ile Thr Ala Arg Ile Gly Glu Pro Leu Val Leu Lys Cys Lys
1 5 10 15

Gly Ala Pro Lys Lys Pro Pro Gln Arg Leu Glu Trp Lys Leu Asn Thr
20 25 30

Gly Arg Thr Glu Ala Trp Lys Val Leu Ser Pro Gln Gly Gly Gly Pro
35 40 45

Trp Asp Ser Val Ala Arg Val Leu Pro Asn Gly Ser Leu Phe Leu Pro
50 55 60

Ala Val Gly Ile Gln Asp Glu Gly Ile Phe Arg Cys Gln Ala Met Asn
65 70 75 80

Arg Asn Gly Lys Glu Thr Lys Ser Asn Tyr Arg Val Arg Val Tyr Gln
85 90 95

Ile Pro Gly Lys Pro Glu Ile Val Asp Ser Ala Ser Glu Leu Thr Ala
100 105 110

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
115 120 125

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
130 135 140

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
145 150 155 160

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
165 170 175

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
180 185 190

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
195 200 205

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
210 215 220

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
225 230 235 240

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
245 250 255

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
260 265 270

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
275 280 285

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
290 295 300

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
305 310 315 320

Pro Gly Lys

<210> 38
<211> 210
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 38

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
1 5 10 15

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
20 25 30

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
35 40 45

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
50 55 60

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
65 70 75 80

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
85 90 95

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 100 105 110

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 115 120 125

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 130 135 140

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 145 150 155 160

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 165 170 175

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 180 185 190

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 195 200 205

Gly Lys
 210

<210> 39
 <211> 633
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 39
 ccgtcagttct tctcttctccc cccaaaacccc aaggacacccc tcatgatctc ccggaccctt 60
 gaggtcacat gcgtgggtggg ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 120
 tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac 180
 agcacgtacc gtgtgggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag 240
 gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatcttc 300
 aaagccaaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgggatgag 360
 ctgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctgggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 420
 gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctccccgtg 480
 ctggactccg acggtctcctt ctctctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 540
 cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg 600
 cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa tga 633

<210> 40
 <211> 220
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 40

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
 1 5 10 15

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
 20 25 30

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
 35 40 45

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
 50 55 60

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
 65 70 75 80

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
 85 90 95

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
 100 105 110

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
 115 120 125

Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
 130 135 140

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
 145 150 155 160

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
 165 170 175

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
 180 185 190

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
 195 200 205

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 210 215 220

<210> 41
 <211> 663
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 41
 ccgtgcccag cacctgaact cctgggggga ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc 60
 aaggacaccc tcatgatctc ccggacccct gaggtcacat gcgtgggtgt ggacgtgagc 120
 cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc 180
 aagacaaagc cgcgaggagga gcagtacaac agcacgtacc gtgtgggtcag cgtcctcacc 240
 gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc 300
 ctcccagccc ccacgagaa aaccatctcc aaagccaaag ggcagccccc agaaccacag 360
 gtgtacaccc tgcccccatc ccgggatgag ctgaccaaga accaggtcag cctgacctgc 420
 ctgggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccc 480
 gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg ctggactccg acggctcctt cttcctctac 540
 agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg 600
 atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa 660
 tga 663

<210> 42
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 42

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
 1 5 10 15

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
 20 25 30

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
 35 40 45

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
 50 55 60

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
 65 70 75 80

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
85 90 95

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
100 105 110

Lys

<210> 43
<211> 107
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 43

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp
1 5 10 15

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

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
35 40 45

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
50 55 60

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
65 70 75 80

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
85 90 95

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
100 105

<210> 44
<211> 25
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 44

Ile Ser Ile Ile Glu Pro Gly Glu Glu Gly Pro Thr Ala Gly Ser Val
1 5 10 15

Gly Gly Ser Gly Leu Gly Thr Leu Ala
20 25

<210> 45
 <211> 317
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> MISC_CHARACTERÍSTICA
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa = ácido piroglutâmico

<400> 45

Xaa Glu Asn Ile Thr Ala Arg Ile Gly Glu Pro Leu Val Leu Lys Cys
 1 5 10 15

Lys Gly Ala Pro Lys Lys Pro Pro Gln Arg Leu Glu Trp Lys Leu Asn
 20 25 30

Thr Gly Arg Thr Glu Ala Trp Lys Val Leu Ser Pro Gln Gly Gly Gly
 35 40 45

Pro Trp Asp Ser Val Ala Arg Val Leu Pro Asn Gly Ser Leu Phe Leu
 50 55 60

Pro Ala Val Gly Ile Gln Asp Glu Gly Ile Phe Arg Cys Gln Ala Met
 65 70 75 80

Asn Arg Asn Gly Lys Glu Thr Lys Ser Asn Tyr Arg Val Arg Val Tyr
 85 90 95

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

Ala Gly Val Pro Asn Lys Val Gly Thr Cys Val Ser Glu Gly Ser Tyr
 115 120 125

Pro Ala Gly Thr Leu Ser Trp His Leu Asp Gly Lys Pro Leu Val Pro
 130 135 140

Asn Glu Lys Gly Val Ser Val Lys Glu Gln Thr Arg Arg His Pro Glu
 145 150 155 160

Thr Gly Leu Phe Thr Leu Gln Ser Glu Leu Met Val Thr Pro Ala Arg
 165 170 175

Gly Gly Asp Pro Arg Pro Thr Phe Ser Cys Ser Phe Ser Pro Gly Leu
 180 185 190

Pro Arg His Arg Ala Leu Arg Thr Ala Pro Ile Gln Pro Arg Val Trp
 195 200 205

Glu Pro Val Pro Leu Glu Glu Val Gln Leu Val Val Glu Pro Glu Gly
 210 215 220

Gly Ala Val Ala Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Glu Val Pro
 225 230 235 240

Ala Gln Pro Ser Pro Gln Ile His Trp Met Lys Asp Gly Val Pro Leu
 245 250 255

Pro Leu Pro Pro Ser Pro Val Leu Ile Leu Pro Glu Ile Gly Pro Gln
 260 265 270

Asp Gln Gly Thr Tyr Ser Cys Val Ala Thr His Ser Ser His Gly Pro
 275 280 285

Gln Glu Ser Arg Ala Val Ser Ile Ser Ile Ile Glu Pro Gly Glu Glu
 290 295 300

Gly Pro Thr Ala Gly Ser Val Gly Gly Ser Gly Leu Gly
 305 310 315

<210> 46
 <211> 94
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> MISC_CARACTERÍSTICA
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa = ácido piroglutâmico

<400> 46

Xaa Glu Asn Ile Thr Ala Arg Ile Gly Glu Pro Leu Val Leu Lys Cys
 1 5 10 15

Lys Gly Ala Pro Lys Lys Pro Pro Gln Arg Leu Glu Trp Lys Leu Asn
 20 25 30

Thr Gly Arg Thr Glu Ala Trp Lys Val Leu Ser Pro Gln Gly Gly Gly
 35 40 45

Pro Trp Asp Ser Val Ala Arg Val Leu Pro Asn Gly Ser Leu Phe Leu
 50 55 60

Pro Ala Val Gly Ile Gln Asp Glu Gly Ile Phe Arg Cys Gln Ala Met
65 70 75 80

Asn Arg Asn Gly Lys Glu Thr Lys Ser Asn Tyr Arg Val Arg
85 90

<210> 47
<211> 30
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_CHARACTERÍSTICA
<222> (1)..(1)
<223> Xaa = ácido piroglutâmico

<400> 47

Xaa Glu Asn Ile Thr Ala Arg Ile Gly Glu Pro Leu Val Leu Lys Cys
1 5 10 15

Lys Gly Ala Pro Lys Lys Pro Pro Gln Arg Leu Glu Trp Lys
20 25 30

<210> 48
<211> 101
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_CHARACTERÍSTICA
<222> (1)..(1)
<223> Xaa = ácido piroglutâmico

<400> 48

Xaa Glu Asn Ile Thr Ala Arg Ile Gly Glu Pro Leu Val Leu Lys Cys
1 5 10 15

Lys Gly Ala Pro Lys Lys Pro Pro Gln Arg Leu Glu Trp Lys Leu Asn
20 25 30

Thr Gly Arg Thr Glu Ala Trp Lys Val Leu Ser Pro Gln Gly Gly Gly
35 40 45

Pro Trp Asp Ser Val Ala Arg Val Leu Pro Asn Gly Ser Leu Phe Leu
50 55 60

Pro Ala Val Gly Ile Gln Asp Glu Gly Ile Phe Arg Cys Gln Ala Met
65 70 75 80

Asn Arg Asn Gly Lys Glu Thr Lys Ser Asn Tyr Arg Val Arg Val Tyr
 85 90 95

Gln Ile Pro Gly Lys
 100

<210> 49
 <211> 114
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> MISC_CARACTERÍSTICA
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa = ácido piroglutâmico

<400> 49

Xaa Glu Asn Ile Thr Ala Arg Ile Gly Glu Pro Leu Val Leu Lys Cys
 1 5 10 15

Lys Gly Ala Pro Lys Lys Pro Pro Gln Arg Leu Glu Trp Lys Leu Asn
 20 25 30

Thr Gly Arg Thr Glu Ala Trp Lys Val Leu Ser Pro Gln Gly Gly Gly
 35 40 45

Pro Trp Asp Ser Val Ala Arg Val Leu Pro Asn Gly Ser Leu Phe Leu
 50 55 60

Pro Ala Val Gly Ile Gln Asp Glu Gly Ile Phe Arg Cys Gln Ala Met
 65 70 75 80

Asn Arg Asn Gly Lys Glu Thr Lys Ser Asn Tyr Arg Val Arg Val Tyr
 85 90 95

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

Ala Gly

<210> 50
 <211> 204
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> MISC_CARACTERÍSTICA
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa = ácido piroglutâmico

<400> 50

Xaa Glu Asn Ile Thr Ala Arg Ile Gly Glu Pro Leu Val Leu Lys Cys
 1 5 10 15

Lys Gly Ala Pro Lys Lys Pro Pro Gln Arg Leu Glu Trp Lys Leu Asn
 20 25 30

Thr Gly Arg Thr Glu Ala Trp Lys Val Leu Ser Pro Gln Gly Gly Gly
 35 40 45

Pro Trp Asp Ser Val Ala Arg Val Leu Pro Asn Gly Ser Leu Phe Leu
 50 55 60

Pro Ala Val Gly Ile Gln Asp Glu Gly Ile Phe Arg Cys Gln Ala Met
 65 70 75 80

Asn Arg Asn Gly Lys Glu Thr Lys Ser Asn Tyr Arg Val Arg Val Tyr
 85 90 95

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

Ala Gly Val Pro Asn Lys Val Gly Thr Cys Val Ser Glu Gly Ser Tyr
 115 120 125

Pro Ala Gly Thr Leu Ser Trp His Leu Asp Gly Lys Pro Leu Val Pro
 130 135 140

Asn Glu Lys Gly Val Ser Val Lys Glu Gln Thr Arg Arg His Pro Glu
 145 150 155 160

Thr Gly Leu Phe Thr Leu Gln Ser Glu Leu Met Val Thr Pro Ala Arg
 165 170 175

Gly Gly Asp Pro Arg Pro Thr Phe Ser Cys Ser Phe Ser Pro Gly Leu
 180 185 190

Pro Arg His Arg Ala Leu Arg Thr Ala Pro Ile Gln
 195 200

<210> 51
 <211> 229

<212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> MISC_CHARACTERÍSTICA
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa = ácido piroglutâmico

<400> 51

Xaa Glu Asn Ile Thr Ala Arg Ile Gly Glu Pro Leu Val Leu Lys Cys
 1 5 10 15

Lys Gly Ala Pro Lys Lys Pro Pro Gln Arg Leu Glu Trp Lys Leu Asn
 20 25 30

Thr Gly Arg Thr Glu Ala Trp Lys Val Leu Ser Pro Gln Gly Gly Gly
 35 40 45

Pro Trp Asp Ser Val Ala Arg Val Leu Pro Asn Gly Ser Leu Phe Leu
 50 55 60

Pro Ala Val Gly Ile Gln Asp Glu Gly Ile Phe Arg Cys Gln Ala Met
 65 70 75 80

Asn Arg Asn Gly Lys Glu Thr Lys Ser Asn Tyr Arg Val Arg Val Tyr
 85 90 95

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

Ala Gly Val Pro Asn Lys Val Gly Thr Cys Val Ser Glu Gly Ser Tyr
 115 120 125

Pro Ala Gly Thr Leu Ser Trp His Leu Asp Gly Lys Pro Leu Val Pro
 130 135 140

Asn Glu Lys Gly Val Ser Val Lys Glu Gln Thr Arg Arg His Pro Glu
 145 150 155 160

Thr Gly Leu Phe Thr Leu Gln Ser Glu Leu Met Val Thr Pro Ala Arg
 165 170 175

Gly Gly Asp Pro Arg Pro Thr Phe Ser Cys Ser Phe Ser Pro Gly Leu
 180 185 190

Pro Arg His Arg Ala Leu Arg Thr Ala Pro Ile Gln Pro Arg Val Trp
 195 200 205

Glu Pro Val Pro Leu Glu Glu Val Gln Leu Val Val Glu Pro Glu Gly
 210 215 220

Gly Ala Val Ala Pro
 225

<210> 52
 <211> 633
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> Homo sapiens

<400> 52
 ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggaccctc 60
 gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 120
 tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgaggagga gcagtacaac 180
 agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtctgcacc aggactggct gaatggcaag 240
 gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 300
 aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgggatgag 360
 ctgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 420
 gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg 480
 ctggactccg acggtctctt ctctctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 540
 cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg 600
 cagaagagcc tctccctgtc tcccgggaaa tga 633

<210> 53
 <211> 663
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> Homo sapiens

<400> 53
 ccgtgcccag cacctgaact cctgggggga ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc 60
 aaggacaccc tcatgatctc ccggaccctc gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc 120
 cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc 180
 aagacaaagc cgcgaggagga gcagtacaac agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc 240
 gtctgcacc aggactggct gaatggcaag gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc 300

```

ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc aaagccaaag ggcagccccc agaaccacag 360
gtgtacaccc tgcccccatc ccgggatgag ctgaccaaga accagggtcag cctgacotgc 420
ctgggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccc 480
gagaacaact acaagaccac gcctcccggtg ctggactccg acggctcctt ctctctctac 540
agcaagctca ccgtggacaa gagcagggtg gagcagggga acgtcttctc atgctccgtg 600
atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg cagaagagcc tctccctgtc tcccgggaaa 660
tga 663

```

```

<210> 54
<211> 1386
<212> DNA
<213> Artificial

```

```

<220>
<223> Homo sapiens

```

```

<400> 54
atggcagccg gaacagcagt tggagcctgg gtgctggtcc tcagtctgtg gggggcagta 60
gtaggtgctc aaaacatcac agcccggatt ggcgagccac tgggtgctgaa gtgtaagggg 120
gcccccaaga aaccacccca gcggctggaa tggaaactga acacaggccg gacagaagct 180
tggaaggtcc tgtctcccca gggaggaggg ccctgggaca gtgtggctcg tgtccttccc 240
aacggctccc tcttcttccc ggctgtcggg atccaggatg aggggatttt ccggtgccag 300
gcaatgaaca ggaatggaaa ggagaccaag tccaactacc gaggccgtgt ctaccagatt 360
cctgggaagc cagaaattgt agattctgcc tctgaactca cggctggtgt tccaataag 420
gtggggacat gtgtgtcaga ggggagctac cctgcaggga ctcttagctg gcacttggat 480
gggaagcccc tgggtgcctaa tgagaaggga gtatctgtga aggaacagac caggagacac 540
cctgagacag ggctcttcac actgcagtcg gagctaattg tgaccccagc ccggggagga 600
gatccccgtc ccaccttctc ctgtagcttc agcccaggcc ttccccgaca ccgggccttg 660
cgcacagccc ccatccagcc ccgtgtctgg gagcctgtgc ctctggagga ggtccaattg 720
gtggtggagc cagaagggtg agcagtagct cctccgtcag tcttctctt cccccaaaa 780
cccaaggaca cctcatgat ctcccggacc cctgaggtca catgcgtggt ggtggacgtg 840
agccacgaag accctgaggt caagttcaac tggtagctgg acggcgtgga ggtgcataat 900
gccaagacaa agccgcggga ggagcagtac aacagcacgt accgtgtggt cagcgtcctc 960
accgtcctgc accaggactg gctgaatggc aaggagtaca agtgcaaggt ctccaacaaa 1020
gccctcccag ccccatoga gaaaaccatc tccaaagcca aagggcagcc ccgagaacca 1080
cagggtgtaca ccctgcccc atcccgggat gagctgacca agaaccaggt cagcctgacc 1140

```

tgcctggtca aaggcttcta toccagcgac atcgccgtgg agtgggagag caatgggcag 1200
 ccggagaaca actacaagac cagcctccc gtgctggact ccgacggctc cttcttcctc 1260
 tacagcaagc tcaccgtgga caagagcagg tggcagcagg ggaacgtctt ctcatgctcc 1320
 gtgatgcatg aggctctgca caaccactac acgcagaaga gcctctccct gtctcccggg 1380
 aaatga 1386

<210> 55
 <211> 1041
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> Homo sapiens

<400> 55
 atggcagccg gaacagcagt tggagcctgg gtgctggtcc tcagtctgtg gggggcagta 60
 gtaggtgctc aaaacatcac agcccggatt ggcgagccac tgggtgctgaa gtgtaagggg 120
 gcccccaaga aaccacccca gcggctggaa tggaaactga acacaggccg gacagaagct 180
 tggaagggtcc tgtctcccca gggaggaggc ccctgggaca gtgtggctcg tgtccttccc 240
 aacggctccc tcttccttcc ggctgtcggg atccaggatg aggggatttt ccggtgccag 300
 gcaatgaaca ggaatggaaa ggagaccaag tccaactacc gagtccgtgt ctaccagatt 360
 cctgggaagc cagaaattgt agattctgcc tctgaactca cggctggtcc gtcagtcttc 420
 ctcttccccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggaccctga ggtcacatgc 480
 gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc 540
 gtggagggtgc ataatgccaa gacaaagccg cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgt 600
 gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc 660
 aaggtctcca acaaagccct ccagccccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggg 720
 cagccccgag aaccacaggt gtacaccctg ccccatccc gggatgagct gaccaagaac 780
 caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctatccca gcgacatcgc cgtggagtgg 840
 gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacgc ctcccgtgct ggactccgac 900
 ggctccttct tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcaggggaac 960
 gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaaco actacacgca gaagagcctc 1020
 tccctgtctc ccgggaaatg a 1041

<210> 56
 <211> 439
 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Homo sapiens

<220>

<221> MISC_CHARACTERÍSTICA

<222> (1)..(1)

<223> Xaa = ácido piroglutâmico

<400> 56

Xaa Glu Asn Ile Thr Ala Arg Ile Gly Glu Pro Leu Val Leu Lys Cys
1 5 10 15

Lys Gly Ala Pro Lys Lys Pro Pro Gln Arg Leu Glu Trp Lys Leu Asn
20 25 30

Thr Gly Arg Thr Glu Ala Trp Lys Val Leu Ser Pro Gln Gly Gly Gly
35 40 45

Pro Trp Asp Ser Val Ala Arg Val Leu Pro Asn Gly Ser Leu Phe Leu
50 55 60

Pro Ala Val Gly Ile Gln Asp Glu Gly Ile Phe Arg Cys Gln Ala Met
65 70 75 80

Asn Arg Asn Gly Lys Glu Thr Lys Ser Asn Tyr Arg Val Arg Val Tyr
85 90 95

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

Ala Gly Val Pro Asn Lys Val Gly Thr Cys Val Ser Glu Gly Ser Tyr
115 120 125

Pro Ala Gly Thr Leu Ser Trp His Leu Asp Gly Lys Pro Leu Val Pro
130 135 140

Asn Glu Lys Gly Val Ser Val Lys Glu Gln Thr Arg Arg His Pro Glu
145 150 155 160

Thr Gly Leu Phe Thr Leu Gln Ser Glu Leu Met Val Thr Pro Ala Arg
165 170 175

Gly Gly Asp Pro Arg Pro Thr Phe Ser Cys Ser Phe Ser Pro Gly Leu
180 185 190

Pro Arg His Arg Ala Leu Arg Thr Ala Pro Ile Gln Pro Arg Val Trp
195 200 205

Glu Pro Val Pro Leu Glu Glu Val Gln Leu Val Val Glu Pro Glu Gly
210 215 220

Gly Ala Val Ala Pro Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
225 230 235 240

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
245 250 255

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
260 265 270

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
275 280 285

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
290 295 300

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
305 310 315 320

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
325 330 335

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys
340 345 350

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
355 360 365

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
370 375 380

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
385 390 395 400

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
405 410 415

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
420 425 430

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435

<210> 57
<211> 324
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_CARACTERÍSTICA
<222> (1)..(1)
<223> Xaa = ácido piroglutâmico

<400> 57

Xaa Glu Asn Ile Thr Ala Arg Ile Gly Glu Pro Leu Val Leu Lys Cys
1 5 10 15

Lys Gly Ala Pro Lys Lys Pro Pro Gln Arg Leu Glu Trp Lys Leu Asn
20 25 30

Thr Gly Arg Thr Glu Ala Trp Lys Val Leu Ser Pro Gln Gly Gly Gly
35 40 45

Pro Trp Asp Ser Val Ala Arg Val Leu Pro Asn Gly Ser Leu Phe Leu
50 55 60

Pro Ala Val Gly Ile Gln Asp Glu Gly Ile Phe Arg Cys Gln Ala Met
65 70 75 80

Asn Arg Asn Gly Lys Glu Thr Lys Ser Asn Tyr Arg Val Arg Val Tyr
85 90 95

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

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

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
130 135 140

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
145 150 155 160

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
 165 170 175

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
 180 185 190

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
 195 200 205

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
 210 215 220

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
 225 230 235 240

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
 245 250 255

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 260 265 270

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
 275 280 285

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 290 295 300

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 305 310 315 320

Ser Pro Gly Lys

REIVINDICAÇÕES

1. Proteína de fusão, **CARACTERIZADA** pelo fato de que compreende um polipeptídeo do RAGE diretamente ligado a um polipeptídeo compreendendo um domínio C_H2 de uma imunoglobulina ou uma porção de um domínio C_H2 de uma imunoglobulina.

2. Proteína de fusão, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADA** pelo fato de que o polipeptídeo do RAGE compreende um ligador de interdomínio do RAGE ligado a um domínio da imunoglobulina do RAGE tal que o aminoácido C-terminal do domínio da imunoglobulina do RAGE é ligado ao aminoácido N-terminal do ligador de interdomínio, e o aminoácido C-terminal do ligador de interdomínio do RAGE é diretamente ligado ao aminoácido N-terminal de um polipeptídeo compreendendo um domínio C_H2 de uma imunoglobulina, ou uma porção deste.

3. Proteína de fusão, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADA** pelo fato de que o polipeptídeo do RAGE compreende um sítio de ligação do ligante.

4. Proteína de fusão, de acordo com a reivindicação 3, **CARACTERIZADA** pelo fato de que o sítio de ligação do ligante do RAGE compreende SEQ ID N^o: 9 ou uma sequência pelo menos 90 % idêntica a esta, ou SEQ ID N^o: 10 ou uma sequência pelo menos 90 % idêntica a esta.

5. Proteína de fusão, de acordo com a reivindicação 2, **CARACTERIZADA** pelo fato de que o polipeptídeo do RAGE compreende um ligador de interdomínio

ligado a um domínio da imunoglobulina do RAGE que compreende um fragmento de uma proteína do RAGE de comprimento pleno.

6. Proteína de fusão, de acordo com a reivindicação 5, **CARACTERIZADA** pelo fato de que compreende
5 ainda um primeiro domínio da imunoglobulina do RAGE e um primeiro ligador de interdomínio do RAGE ligado a um segundo domínio da imunoglobulina do RAGE e um segundo ligador de interdomínio do RAGE, tal que o aminoácido N-terminal do primeiro ligador de interdomínio é ligado ao aminoácido C-
10 terminal do primeiro domínio da imunoglobulina do RAGE, o aminoácido N-terminal do segundo domínio da imunoglobulina do RAGE é ligado ao aminoácido C-terminal do primeiro ligador de interdomínio, o aminoácido N-terminal do segundo ligador de interdomínio é ligado ao aminoácido C-terminal do
15 segundo domínio da imunoglobulina do RAGE, e o aminoácido C-terminal do segundo ligador de interdomínio do RAGE é diretamente ligado ao aminoácido N-terminal do domínio da imunoglobulina C_H2 ou uma porção de um domínio C_H2 de uma imunoglobulina.

20 7. Proteína de fusão, de acordo com a reivindicação 6, **CARACTERIZADA** pelo fato de que compreende a sequência de aminoácido SEQ ID N^o: 32, SEQ ID N^o: 33, SEQ ID N^o: 34, ou SEQ ID N^o: 56.

25 8. Proteína de fusão, de acordo com a reivindicação 6, **CARACTERIZADA** pelo fato de que compreende a sequência de aminoácido SEQ ID N^o: 33 sem o resíduo do aminoácido lisina C-terminal, SEQ ID N^o: 34 sem o resíduo do aminoácido lisina C-terminal, ou SEQ ID N^o: 56 sem o resíduo

do aminoácido lisina C-terminal.

9. Proteína de fusão, de acordo com a reivindicação 6, **CARACTERIZADA** pelo fato de que o ligador de interdomínio do RAGE diretamente ligado ao domínio C_H2 da imunoglobulina ou uma porção deste compreende SEQ ID N^o: 22 ou uma sequência pelo menos 90 % idêntica a esta, ou SEQ ID N^o: 24, ou uma sequência pelo menos 90 % idêntica a esta.

10. Proteína de fusão, de acordo com a reivindicação 5, **CARACTERIZADA** pelo fato de que compreende um domínio da imunoglobulina do RAGE único ligado por intermédio de um ligador de interdomínio do RAGE ao aminoácido N-terminal de um polipeptídeo compreendendo um domínio da imunoglobulina C_H2 ou uma porção de um domínio C_H2 de uma imunoglobulina.

15 11. Proteína de fusão, de acordo com a reivindicação 10, **CARACTERIZADA** pelo fato de que compreende a sequência de aminoácido SEQ ID N^o: 35, SEQ ID N^o: 36, SEQ ID N^o: 37, ou SEQ ID N^o: 57.

20 12. Proteína de fusão, de acordo com a reivindicação 10, **CARACTERIZADA** pelo fato de que compreende a sequência de aminoácido SEQ ID N^o: 36 sem o resíduo do aminoácido lisina C-terminal, SEQ ID N^o: 37 sem o resíduo do aminoácido lisina C-terminal, ou SEQ ID N^o: 57 sem o resíduo do aminoácido lisina C-terminal.

25 13. Proteína de fusão, de acordo com a reivindicação 10, **CARACTERIZADA** pelo fato de que o ligador do RAGE diretamente ligado à imunoglobulina C_H2 compreende SEQ ID N^o: 21 ou uma sequência pelo menos 90 % idêntica a

esta ou SEQ ID Nº: 23 ou uma sequência pelo menos 90 % idêntica a esta.

14. Sequência de ácido nucléico isolada, **CARACTERIZADA** pelo fato de que codifica a proteína de fusão de acordo com a reivindicação 1.

15. Sequência de ácido nucléico isolada, de acordo com a reivindicação 14, **CARACTERIZADA** pelo fato de que o polipeptídeo do RAGE compreende um ligador de interdomínio do RAGE ligado a um domínio da imunoglobulina do RAGE tal que o aminoácido C-terminal do domínio da imunoglobulina do RAGE é ligado ao aminoácido N-terminal do ligador de interdomínio, e o aminoácido C-terminal do ligador de interdomínio do RAGE é diretamente ligado ao aminoácido N-terminal de um polipeptídeo compreendendo um domínio C_H2 de uma imunoglobulina, ou uma porção deste.

16. Ácido nucléico, de acordo com a reivindicação 15, **CARACTERIZADO** pelo fato de que compreende a sequência da SEQ ID Nº: 30, ou um fragmento desta, ou a sequência da SEQ ID Nº: 31, ou um fragmento desta, a sequência da SEQ ID Nº: 54, ou um fragmento desta, ou a sequência da SEQ ID Nº: 55, ou um fragmento desta.

17. Vetor de expressão, **CARACTERIZADO** pelo fato de que codifica para a proteína de fusão do RAGE de acordo com a reivindicação 1.

18. Vetor de expressão, de acordo com a reivindicação 17, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o polipeptídeo do RAGE compreende um ligador de interdomínio do RAGE ligado a um domínio da imunoglobulina do RAGE tal

que o aminoácido C-terminal do domínio da imunoglobulina do RAGE é ligado ao aminoácido N-terminal do ligador de interdomínio, e o aminoácido C-terminal do ligador de interdomínio do RAGE é diretamente ligado ao aminoácido N-terminal de um polipeptídeo compreendendo um domínio C_H2 de uma imunoglobulina, ou uma porção deste.

19. Vetor de expressão, de acordo com a reivindicação 17, **CARACTERIZADO** pelo fato de que compreende a sequência SEQ ID N^o: 30, ou um fragmento desta, ou SEQ ID N^o: 31, ou um fragmento desta, SEQ ID N^o: 54, ou um fragmento desta, ou SEQ ID N^o: 55, ou um fragmento desta.

20. Célula transfectada com o vetor de expressão, de acordo com a reivindicação 17, **CARACTERIZADA** pelo fato de que a célula expressa uma proteína de fusão compreendendo um polipeptídeo do RAGE diretamente ligado a um polipeptídeo compreendendo um domínio C_H2 de uma imunoglobulina ou uma porção de um domínio C_H2 de uma imunoglobulina.

21. Célula transfectada com o vetor de expressão, de acordo com a reivindicação 17, **CARACTERIZADA** pelo fato de que a célula expressa uma proteína de fusão do RAGE compreendendo a sequência de aminoácido como apresentado na SEQ ID N^o: 32, SEQ ID N^o: 33, SEQ ID N^o: 34, SEQ ID N^o: 35, SEQ ID N^o: 36, SEQ ID N^o: 37, SEQ ID N^o: 56, ou SEQ ID N^o: 57.

22. Célula transfectada com o vetor de expressão, de acordo com a reivindicação 17, **CARACTERIZADA** pelo fato de que a célula expressa uma proteína de fusão do RAGE compreendendo a sequência de aminoácido SEQ ID N^o: 33 sem o

resíduo do aminoácido lisina C-terminal, SEQ ID Nº: 34 sem o
resíduo do aminoácido lisina C-terminal, SEQ ID Nº: 36 sem o
resíduo do aminoácido lisina C-terminal, SEQ ID Nº: 37 sem o
resíduo do aminoácido lisina C-terminal, SEQ ID Nº: 56 sem o
5 resíduo do aminoácido lisina C-terminal, ou SEQ ID Nº: 57
sem o resíduo do aminoácido lisina C-terminal.

23. Composição, **CARACTERIZADA** pelo fato de que
compreende uma quantidade terapeuticamente eficaz da
proteína de fusão do RAGE de acordo com a reivindicação 1.

10 24. Composição, de acordo com a reivindicação 23,
CARACTERIZADA pelo fato de que o polipeptídeo do RAGE
compreende um ligador de interdomínio do RAGE ligado a um
domínio da imunoglobulina do RAGE tal que o aminoácido C-
terminal do domínio da imunoglobulina do RAGE é ligado ao
15 aminoácido N-terminal do ligador de interdomínio, e o
aminoácido C-terminal do ligador de interdomínio do RAGE é
diretamente ligado ao aminoácido N-terminal de um
polipeptídeo compreendendo um domínio C_{H2} de uma
imunoglobulina, ou uma porção deste.

20 25. Composição, de acordo com a reivindicação 23,
CARACTERIZADA pelo fato de que o polipeptídeo do RAGE
compreende um sítio de ligação do ligante.

26. Composição, de acordo com a reivindicação 25,
CARACTERIZADA pelo fato de que o sítio de ligação do ligante
25 do RAGE compreende SEQ ID Nº: 9 ou uma sequência pelo menos
90 % idêntica a esta, ou SEQ ID Nº: 10 ou uma sequência pelo
menos 90 % idêntica a esta.

27. Composição, de acordo com a reivindicação 24,

CARACTERIZADA pelo fato de que o polipeptídeo do RAGE compreendendo um ligador de interdomínio ligado a um domínio da imunoglobulina do RAGE compreende um fragmento de uma proteína do RAGE de comprimento pleno.

5 28. Composição, de acordo com a reivindicação 23, **CARACTERIZADA** pelo fato de que o polipeptídeo do RAGE compreende um primeiro domínio da imunoglobulina do RAGE e um primeiro ligador de interdomínio do RAGE ligado a um segundo domínio da imunoglobulina do RAGE e um segundo
10 ligador de interdomínio do RAGE, tal que o aminoácido N-terminal do primeiro ligador de interdomínio é ligado ao aminoácido C-terminal do primeiro domínio da imunoglobulina do RAGE, o aminoácido N-terminal do segundo domínio da imunoglobulina do RAGE é ligado ao aminoácido C-terminal do
15 primeiro ligador de interdomínio, o aminoácido N-terminal do segundo ligador de interdomínio é ligado ao aminoácido C-terminal do segundo domínio da imunoglobulina do RAGE, e o aminoácido C-terminal do segundo ligador de interdomínio do RAGE é diretamente ligado ao aminoácido N-terminal do
20 domínio da imunoglobulina C_H2 ou uma porção de um domínio C_H2 de uma imunoglobulina.

29. Composição, de acordo com a reivindicação 28, **CARACTERIZADA** pelo fato de que a proteína de fusão do RAGE compreende a sequência de aminoácido SEQ ID N^o: 32, SEQ ID
25 N^o: 33, SEQ ID N^o: 34, ou SEQ ID N^o: 56.

30. Composição, de acordo com a reivindicação 28, **CARACTERIZADA** pelo fato de que a proteína de fusão do RAGE compreende a sequência de aminoácido SEQ ID N^o: 33 sem o

resíduo do aminoácido lisina C-terminal, SEQ ID Nº: 34 sem o resíduo do aminoácido lisina C-terminal, ou SEQ ID Nº: 56 sem o resíduo do aminoácido lisina C-terminal.

31. Composição, de acordo com a reivindicação 27,
5 **CARACTERIZADA** pelo fato de que a proteína de fusão compreende um domínio da imunoglobulina do RAGE único ligado por intermédio de um ligador de interdomínio do RAGE ao aminoácido N-terminal de um polipeptídeo compreendendo um domínio da imunoglobulina C_H2 ou uma porção de um domínio
10 C_H2 de uma imunoglobulina.

32. Composição, de acordo com a reivindicação 31,
CARACTERIZADA pelo fato de que a proteína de fusão do RAGE compreende a sequência de aminoácido SEQ ID Nº: 35, SEQ ID Nº: 36, SEQ ID Nº: 37, ou SEQ ID Nº: 57.

15 33. Composição, de acordo com a reivindicação 31,
CARACTERIZADA pelo fato de que a proteína de fusão do RAGE compreende a sequência de aminoácido SEQ ID Nº: 36 sem o resíduo do aminoácido lisina C-terminal, SEQ ID Nº: 37 sem o resíduo do aminoácido lisina C-terminal, ou SEQ ID Nº: 57
20 sem o resíduo do aminoácido lisina C-terminal.

34. Composição, de acordo com a reivindicação 23,
CARACTERIZADA pelo fato de que a proteína de fusão do RAGE é formulada como uma solução injetável.

35. Composição, de acordo com a reivindicação 23,
25 **CARACTERIZADA** pelo fato de que a proteína de fusão do RAGE é formulada como um pó liofilizado estéril.

36. Método de fabricar a proteína de fusão do RAGE, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo

fato de que compreende a etapa de covalentemente ligar um polipeptídeo do RAGE a um polipeptídeo compreendendo um domínio C_H2 de uma imunoglobulina ou uma porção de um domínio C_H2 de uma imunoglobulina.

5 37. Método, de acordo com a reivindicação 36, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o polipeptídeo do RAGE compreende um ligador de interdomínio do RAGE ligado a um domínio da imunoglobulina do RAGE tal que o aminoácido C-terminal do domínio da imunoglobulina do RAGE é ligado ao
10 aminoácido N-terminal do ligador de interdomínio, e o aminoácido C-terminal do ligador de interdomínio do RAGE é diretamente ligado ao aminoácido N-terminal de um polipeptídeo compreendendo um domínio C_H2 de uma imunoglobulina, ou uma porção deste.

15 38. Método, de acordo com a reivindicação 36, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o polipeptídeo do RAGE compreende um sítio de ligação do ligante.

 39. Método, de acordo com a reivindicação 38, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o sítio de ligação do ligante
20 do RAGE compreende SEQ ID N^o: 9 ou uma sequência pelo menos 90 % idêntica a esta, ou SEQ ID N^o: 10 ou uma sequência pelo menos 90 % idêntica a esta.

 40. Método, de acordo com a reivindicação 37, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o polipeptídeo do RAGE
25 compreende um ligador de interdomínio ligado a um domínio da imunoglobulina do RAGE que compreende um fragmento de uma proteína do RAGE de comprimento pleno.

 41. Método, de acordo com a reivindicação 40,

CARACTERIZADO pelo fato de que o polipeptídeo do RAGE compreende um primeiro domínio da imunoglobulina do RAGE e um primeiro ligador de interdomínio do RAGE ligado a um segundo domínio da imunoglobulina do RAGE e um segundo
 5 ligador de interdomínio do RAGE, tal que o aminoácido N-terminal do primeiro ligador de interdomínio é ligado ao aminoácido C-terminal do primeiro domínio da imunoglobulina do RAGE, o aminoácido N-terminal do segundo domínio da imunoglobulina do RAGE é ligado ao aminoácido C-terminal do
 10 primeiro ligador de interdomínio, o aminoácido N-terminal do segundo ligador de interdomínio é ligado ao aminoácido C-terminal do segundo domínio da imunoglobulina do RAGE, e o aminoácido C-terminal do segundo ligador de interdomínio do RAGE é diretamente ligado ao aminoácido N-terminal do
 15 domínio da imunoglobulina C_H2 ou uma porção de um domínio C_H2 de uma imunoglobulina.

42. Método, de acordo com a reivindicação 40, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o polipeptídeo do RAGE compreende um domínio da imunoglobulina do RAGE único ligado
 20 por intermédio de um ligador de interdomínio do RAGE ao aminoácido N-terminal de um polipeptídeo compreendendo um domínio da imunoglobulina C_H2 ou uma porção de um domínio C_H2 de uma imunoglobulina.

43. Método, de acordo com a reivindicação 36,
 25 **CARACTERIZADO** pelo fato de que a proteína de fusão é codificada por uma construção de DNA recombinante.

44. Método, de acordo com a reivindicação 36, **CARACTERIZADO** pelo fato de que compreende ainda a etapa de

incorporar a construção de DNA em um vetor de expressão.

45. Método, de acordo com a reivindicação 44, **CARACTERIZADO** pelo fato de que compreende ainda transfectar o vetor de expressão em uma célula hospedeira.

5 46. Método de produzir a proteína de fusão do RAGE, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de que compreende expressar a proteína de fusão do RAGE em uma célula em que a célula compreende uma sequência de ácido nucléico que codifica para a proteína de fusão do
10 RAGE.

47. Método, de acordo com a reivindicação 46, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a proteína de fusão do RAGE expressada compreende a sequência de aminoácido da SEQ ID Nº: 32, SEQ ID Nº: 33, SEQ ID Nº: 34, SEQ ID Nº: 35, SEQ ID
15 Nº: 36, SEQ ID Nº: 37, SEQ ID Nº: 56, SEQ ID Nº: 57.

48. Método, de acordo com a reivindicação 46, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a proteína de fusão do RAGE expressada compreende a sequência do aminoácido da SEQ ID Nº: 33 sem o resíduo do aminoácido lisina C-terminal, SEQ ID
20 Nº: 34 sem o resíduo do aminoácido lisina C-terminal, SEQ ID Nº: 36 sem o resíduo do aminoácido lisina C-terminal, SEQ ID Nº: 37 sem o resíduo do aminoácido lisina C-terminal, SEQ ID Nº: 56 sem o resíduo do aminoácido lisina C-terminal, ou SEQ ID Nº: 57 sem o resíduo do aminoácido lisina C-terminal.

25 49. Método para produzir uma proteína de fusão do RAGE, **CARACTERIZADO** pelo fato de que compreende um polipeptídeo do RAGE diretamente ligado a um polipeptídeo compreendendo um domínio C_H2 de uma imunoglobulina ou uma

porção de um domínio C_H2 de uma proteína de fusão do RAGE da imunoglobulina, o método compreendendo expressar a proteína de fusão do RAGE codificada pelo ácido nucléico de acordo com a reivindicação 16 em uma célula.

5 50. Método, de acordo com a reivindicação 49, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a célula é uma célula de mamífero.

10 51. Método, de acordo com a reivindicação 49, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a célula é selecionada do grupo que consiste de uma célula de CHO, uma célula de NS0, uma célula de HeLa, uma célula de COS, e uma célula de SP2.

52. Método, de acordo com a reivindicação 51, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o método compreende ainda cultivar a célula e recuperar a proteína desta.

15 53. Método de tratar um distúrbio mediado por RAGE em um paciente, **CARACTERIZADO** pelo fato de que compreende administrar a um paciente a proteína de fusão do RAGE de acordo com a reivindicação 1.

20 54. Método, de acordo com a reivindicação 53, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o polipeptídeo do RAGE compreende um ligador de interdomínio do RAGE ligado a um domínio da imunoglobulina do RAGE tal que o aminoácido C-terminal do domínio da imunoglobulina do RAGE é ligado ao aminoácido N-terminal do ligador de interdomínio, e o
25 aminoácido C-terminal do ligador de interdomínio do RAGE é diretamente ligado ao aminoácido N-terminal de um polipeptídeo compreendendo um domínio C_H2 de uma imunoglobulina, ou uma porção deste.

55. Método, de acordo com a reivindicação 53, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o sítio de ligação do ligante do RAGE compreende SEQ ID N°: 9 ou uma sequência pelo menos 90 % idêntica a esta, ou SEQ ID N°: 10 ou uma sequência pelo menos 90 % idêntica a esta.

56. Método, de acordo com a reivindicação 54, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o polipeptídeo do RAGE compreende um ligador de interdomínio ligado a um domínio da imunoglobulina do RAGE que compreende um fragmento de uma proteína do RAGE de comprimento pleno.

57. Método, de acordo com a reivindicação 56, **CARACTERIZADO** pelo fato de que compreende ainda um primeiro domínio da imunoglobulina do RAGE e um primeiro ligador de interdomínio do RAGE ligado a um segundo domínio da imunoglobulina do RAGE e um segundo ligador de interdomínio do RAGE, tal que o aminoácido N-terminal do primeiro ligador de interdomínio é ligado ao aminoácido C-terminal do primeiro domínio da imunoglobulina do RAGE, o aminoácido N-terminal do segundo domínio da imunoglobulina do RAGE é ligado ao aminoácido C-terminal do primeiro ligador de interdomínio, o aminoácido N-terminal do segundo ligador de interdomínio é ligado ao aminoácido C-terminal do segundo domínio da imunoglobulina do RAGE, e o aminoácido C-terminal do segundo ligador de interdomínio do RAGE é diretamente ligado ao aminoácido N-terminal do domínio da imunoglobulina C_H2 ou uma porção de um domínio C_H2 de uma imunoglobulina.

58. Método, de acordo com a reivindicação 57, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a proteína de fusão do RAGE

compreende a sequência de aminoácido SEQ ID Nº: 33, SEQ ID Nº: 34, ou SEQ ID Nº: 56.

59. Método, de acordo com a reivindicação 57, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a proteína de fusão do RAGE
5 compreende a sequência de aminoácido SEQ ID Nº: 33 sem o resíduo do aminoácido lisina C-terminal, SEQ ID Nº: 34 sem o resíduo do aminoácido lisina C-terminal, ou SEQ ID Nº: 56 sem o resíduo do aminoácido lisina C-terminal.

60. Método, de acordo com a reivindicação 57,
10 **CARACTERIZADO** pelo fato de que o ligador de interdomínio do RAGE diretamente ligado ao domínio C_H2 da imunoglobulina ou uma porção deste, compreende SEQ ID Nº: 22 ou uma sequência pelo menos 90 % idêntica a esta, ou SEQ ID Nº: 24 ou uma sequência pelo menos 90 % idêntica a esta.

15 61. Método, de acordo com a reivindicação 56, **CARACTERIZADO** pelo fato de que compreende um domínio da imunoglobulina do RAGE único ligado por intermédio de um ligador de interdomínio do RAGE ao aminoácido N-terminal de um polipeptídeo compreendendo um domínio da imunoglobulina
20 C_H2 ou uma porção de um domínio C_H2 de uma imunoglobulina.

62. Método, de acordo com a reivindicação 61, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a proteína de fusão do RAGE compreende a sequência de aminoácido SEQ ID Nº: 36, SEQ ID Nº: 37, ou SEQ ID Nº: 57.

25 63. Método, de acordo com a reivindicação 61, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a proteína de fusão do RAGE compreende a sequência de aminoácido SEQ ID Nº: 36 sem o resíduo do aminoácido lisina C-terminal, SEQ ID Nº: 37 sem o

resíduo do aminoácido lisina C-terminal, ou SEQ ID Nº: 57 sem o resíduo do aminoácido lisina C-terminal.

64. Método, de acordo com a reivindicação 61, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o ligador de interdomínio do RAGE diretamente ligado à imunoglobulina C_H2 ou uma porção deste, compreende SEQ ID Nº: 21 ou uma sequência pelo menos 90 % idêntica a esta, ou SEQ ID Nº: 23 ou uma sequência pelo menos 90 % idêntica a esta.

65. Método, de acordo com a reivindicação 53, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o método de administração compreende pelo menos um de administração intravenosa, administração intraperitoneal ou administração subcutânea da proteína de fusão do RAGE ao paciente.

66. Método, de acordo com a reivindicação 53, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a proteína de fusão é usada para tratar um sintoma de diabetes ou um sintoma de complicações diabéticas tardias.

67. Método, de acordo com a reivindicação 66, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o sintoma de diabetes ou complicações diabéticas tardias compreende pelo menos um de nefropatia diabética, retinopatia diabética, uma úlcera do pé diabético, uma complicação cardiovascular, ou neuropatia diabética.

68. Método, de acordo com a reivindicação 53, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a proteína de fusão é usada para tratar pelo menos um de amiloidose ou doença de Alzheimer.

69. Método, de acordo com a reivindicação 53,

CARACTERIZADO pelo fato de que a proteína de fusão é usada para tratar câncer.

70. Método, de acordo com a reivindicação 53, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a proteína de fusão é usada para tratar inflamação.

71. Método, de acordo com a reivindicação 53, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a proteína de fusão é usada para tratar inflamação associada com pelo menos um de autoimunidade, doença inflamatória intestinal, artrite reumatóide, psoríase, esclerose múltipla, hipoxia, acidente vascular cerebral, ataque cardíaco, choque hemorrágico, sepsia, ou cura do ferimento prejudicada.

72. Método, de acordo com a reivindicação 71, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a autoimunidade compreende rejeição de pelo menos uma de células da pele, células pancreáticas, células do nervo, células do músculo, células endoteliais, células do coração, células do fígado, células renais, coração, células da medula óssea, osso, células sanguíneas, células arteriais, células da veia, células da cartilagem, células da tireóide, ou células tronco.

73. Método, de acordo com a reivindicação 53, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a proteína de fusão é usada para tratar falência renal.

74. Método, de acordo com a reivindicação 53, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a proteína de fusão é usada para tratar inflamação e/ou rejeição associada com transplantação de pelo menos um de um órgão, um tecido, ou uma pluralidade de células de um primeiro sítio a um segundo

sítio.

75. Método, de acordo com a reivindicação 74, **CARACTERIZADO** pelo fato de que os primeiro e os segundos sítios estão em pacientes diferentes.

5 76. Método, de acordo com a reivindicação 74, **CARACTERIZADO** pelo fato de que os primeiros e os segundos sítios estão no mesmo paciente.

77. Método, de acordo com a reivindicação 74, **CARACTERIZADO** pelo fato de que as células, tecido, ou órgão
10 transplantados compreendem uma célula, tecido ou órgão de um pâncreas, pele, fígado, rim, coração, medula óssea, sangue, osso, músculo, artéria, veia, cartilagem, tireóide, sistema nervoso, ou células tronco.

78. Método de prevenir rejeição do transplante de
15 uma célula, tecido ou órgão, o método **CARACTERIZADO** pelo fato de que compreende administrar uma quantidade terapeuticamente eficaz da proteína de fusão do RAGE de acordo com a reivindicação 1.

FIG. 1A**RAGE HUMANO (SEQ ID No: 1)**

MAAGTAVGAW	VLVLSLWGAV	VGAQNITARI	GEPLVLKCKG	APKKPPQORLE
WKLNTGRTEA	WKVLSPQGGG	PWDSVARVLP	NGSLFLPAVG	IQDEGIFRCQ
AMNRNGKETK	SNYRVRVYQI	PGKPEIVDSA	SELTAGVPNK	VGTCVSEGSY
PAGTLSWHLD	GKPLVPNEKG	VSVKEQTRRH	PETGLFTLQS	ELMVTTPARGG
DPRPTFSCSF	SPGLPRHRAL	RTAPIQPRVW	EPVPLEEVQL	VVEPEGGAVA
PGGTVTLTCE	VPAQPSPQIH	WMKDGVPPLPL	PPSPVLILPE	IGPQDQGTYS
CVATHSSHGP	QESRAVSISI	IEPGEEGPTA	GSVGGSGGLGT	LALALGILGG
LGTAALLIGV	ILWQRRQRRG	EERKAPENQE	EEEERAELNQ	SEEPEAGESS
TGGP				

RAGE HUMANO SEM SEQÜÊNCIA DE SINAL (SEQ ID No: 2)

		AQNITARI	GEPLVLKCKG	APKKPPQORLE
WKLNTGRTEA	WKVLSPQGGG	PWDSVARVLP	NGSLFLPAVG	IQDEGIFRCQ
AMNRNGKETK	SNYRVRVYQI	PGKPEIVDSA	SELTAGVPNK	VGTCVSEGSY
PAGTLSWHLD	GKPLVPNEKG	VSVKEQTRRH	PETGLFTLQS	ELMVTTPARGG
DPRPTFSCSF	SPGLPRHRAL	RTAPIQPRVW	EPVPLEEVQL	VVEPEGGAVA
PGGTVTLTCE	VPAQPSPQIH	WMKDGVPPLPL	PPSPVLILPE	IGPQDQGTYS
CVATHSSHGP	QESRAVSISI	IEPGEEGPTA	GSVGGSGGLGT	LALALGILGG
LGTAALLIGV	ILWQRRQRRG	EERKAPENQE	EEEERAELNQ	SEEPEAGESS
TGGP				

FIG. 1B**RAGE HUMANO SEM SEQÜÊNCIA DE SINAL (SEQ ID No: 3)**

		QNITARI	GEPLVLKCKG	APKKPPQORLE
WKLNTGRTEA	WKVLSPQGGG	PWDSVARVLP	NGSLFLPAVG	IQDEGIFRCQ
AMNRNGKETK	SNYRVRVYQI	PGKPEIVDSA	SELTAGVPNK	VGTCVSEGSY
PAGTLSWHLD	GKPLVPNEKG	VSVKEQTRRH	PETGLFTLQS	ELMVTTPARGG
DPRPTFSCSF	SPGLPRHRAL	RTAPIQPRVW	EPVPLEEVQL	VVEPEGGAVA
PGGTVTLTCE	VPAQPSPQIH	WMKDGVPPLPL	PPSPVLILPE	IGPQDQGTYS
CVATHSSHGP	QESRAVSISI	IEPGEEGPTA	GSVGGSGGLGT	LALALGILGG
LGTAALLIGV	ILWQRRQRRG	EERKAPENQE	EEEERAELNQ	SEEPEAGESS
TGGP				

FIG. 1C**RAGEs HUMANO (SEQ ID No: 4)**

MAAGTAVGAW	VLVLSLWGAV	VGAQNITARI	GEPLVLKCKG	APKKPPQRL
WKLNTGRTEA	WKVLSPQGGG	PWDSVARVLP	NGSLFLPAVG	IQDEGIFRCQ
AMNRNGKETK	SNYRVRVYQI	PGKPEIVDSA	SELTAGVPNK	VGTCVSEGSY
PAGTLSWHLD	GKPLVPNEKG	VSVKEQTRRH	PETGLFTLQS	ELMVTPARGG
DPRPTFSCSF	SPGLPRHRAL	RTAPIQPRVW	EPVPLEEVQL	VVEPEGGAVA
PGGTVTILTCE	VPAQPSPQIH	WMKDGVLPL	PPSPVLILPE	IGPQDQGTYS
CVATHSSHGP	QESRAVSISI	IEPGEEGPTA	GSVGGSGLG	

RAGEs HUMANO SEM SEQUÊNCIA DE SINAL (SEQ ID No: 5)

		AQNITARI	GEPLVLKCKG	APKKPPQRL
WKLNTGRTEA	WKVLSPQGGG	PWDSVARVLP	NGSLFLPAVG	IQDEGIFRCQ
AMNRNGKETK	SNYRVRVYQI	PGKPEIVDSA	SELTAGVPNK	VGTCVSEGSY
PAGTLSWHLD	GKPLVPNEKG	VSVKEQTRRH	PETGLFTLQS	ELMVTPARGG
DPRPTFSCSF	SPGLPRHRAL	RTAPIQPRVW	EPVPLEEVQL	VVEPEGGAVA
PGGTVTILTCE	VPAQPSPQIH	WMKDGVLPL	PPSPVLILPE	IGPQDQGTYS
CVATHSSHGP	QESRAVSISI	IEPGEEGPTA	GSVGGSGLG	

RAGEs HUMANO SEM SEQUÊNCIA DE SINAL (SEQ ID No: 6)

		QNITARI	GEPLVLKCKG	APKKPPQRL
WKLNTGRTEA	WKVLSPQGGG	PWDSVARVLP	NGSLFLPAVG	IQDEGIFRCQ
AMNRNGKETK	SNYRVRVYQI	PGKPEIVDSA	SELTAGVPNK	VGTCVSEGSY
PAGTLSWHLD	GKPLVPNEKG	VSVKEQTRRH	PETGLFTLQS	ELMVTPARGG
DPRPTFSCSF	SPGLPRHRAL	RTAPIQPRVW	EPVPLEEVQL	VVEPEGGAVA
PGGTVTILTCE	VPAQPSPQIH	WMKDGVLPL	PPSPVLILPE	IGPQDQGTYS
CVATHSSHGP	QESRAVSISI	IEPGEEGPTA	GSVGGSGLG	

FIG. 1D**DOMÍNIO V DO RAGE HUMANO (SEQ ID No: 7)**

AQNITARI GEPLVLKCKG APKKPPQRL E WKLNTGRTEA WKVLSPQGGG
 PWDSVARVLP NGSFLFLPAVG IQDEGIFRCQ AMNRNGKETK SNYRVR

DOMÍNIO V DO RAGE HUMANO (SEQ ID No: 8)

QNITARI GEPLVLKCKG APKKPPQRL E WKLNTGRTEA WKVLSPQGGG
 PWDSVARVLP NGSFLFLPAVG IQDEGIFRCQ AMNRNGKETK SNYRVR

FRAGMENTO DO DOMÍNIO V DO RAGE HUMANO (SEQ ID No: 9)

AQNITARI GEPLVLKCKG APKKPPQRL E WK

FRAGMENTO DO DOMÍNIO V DO RAGE HUMANO (SEQ ID No: 10)

QNITARI GEPLVLKCKG APKKPPQRL E WK

AMINOÁCIDOS DO RAGE HUMANO 124-221 (SEQ ID No: 11)

PEIVDSA SELTAGVPNK VGTCVSEGSY
 PAGTLSWHLD GKPLVPNEKG VSVKEQTRRH PETGLETLQS ELMVTPARGG
 DPRPTFSCSF SPGLPRHRAL R

AMINOÁCIDOS DO RAGE HUMANO 227-317 (SEQ ID No: 12)

PRVW EPVPLEEVQL VVEPEGGAVA
 PGGTVTLTCE VPAQPSPQIH WMKDGVPPLP PPSPVLILPE IGPQDQGTYS
 CVATHSSHGP QESRAVS

AMINOÁCIDOS DO RAGE HUMANO 23-123 (SEQ ID No: 13)

AQNITARI GEPLVLKCKG APKKPPQRL E WKLNTGRTEA WKVLSPQGGG
 PWDSVARVLP NGSFLFLPAVG IQDEGIFRCQ AMNRNGKETK SNYRVRVYQI
 PGK

FIG. 1 E**AMINOÁCIDOS DO RAGE HUMANO 24-123 (SEQ ID No: 14)**

QNITARI GEPLVLKCKG APKKPPQRL E WKLNTGRTEA WKVLSPQGGG
 PWDSVARVLP NGSLEFLPAVG IQDEGIFRCQ AMNRNGKETK SNYRVRVYQI
 PGK

AMINOÁCIDOS DO RAGE HUMANO 23-136 (SEQ ID No: 15)

AQNITARI GEPLVLKCKG APKKPPQRL E WKLNTGRTEA WKVLSPQGGG
 PWDSVARVLP NGSLEFLPAVG IQDEGIFRCQ AMNRNGKETK SNYRVRVYQI
 PGKPEIVDSA SELTAG

AMINOÁCIDOS DO RAGE HUMANO 24-136 (SEQ ID No: 16)

QNITARI GEPLVLKCKG APKKPPQRL E WKLNTGRTEA WKVLSPQGGG
 PWDSVARVLP NGSLEFLPAVG IQDEGIFRCQ AMNRNGKETK SNYRVRVYQI
 PGKPEIVDSA SELTAG

AMINOÁCIDOS DO RAGE HUMANO 23-226 (SEQ ID No: 17)

AQNITARI GEPLVLKCKG APKKPPQRL E WKLNTGRTEA WKVLSPQGGG
 PWDSVARVLP NGSLEFLPAVG IQDEGIFRCQ AMNRNGKETK SNYRVRVYQI
 PGKPEIVDSA SELTAGVPNK VGTCVSEGSY PAGTLSWHL D GKPLVPNEKG
 VSVKEQTRRH PETGLFTLQS ELMVTPARGG DPRPTFSCSF SPGLPRHRAL
 RTAPIQ

AMINOÁCIDOS DO RAGE HUMANO 24-226 (SEQ ID No: 18)

QNITARI GEPLVLKCKG APKKPPQRL E WKLNTGRTEA WKVLSPQGGG
 PWDSVARVLP NGSLEFLPAVG IQDEGIFRCQ AMNRNGKETK SNYRVRVYQI
 PGKPEIVDSA SELTAGVPNK VGTCVSEGSY PAGTLSWHL D GKPLVPNEKG
 VSVKEQTRRH PETGLFTLQS ELMVTPARGG DPRPTFSCSF SPGLPRHRAL
 RTAPIQ

FIG. 1F**AMINOÁCIDOS DO RAGE HUMANO 23-251 (SEQ ID No: 19)**

AQNITARI GEPLVLKCKG APKKPPQRL E WKLNTGRTEA WKVLSPQGGG
 PWDSVARVLP NGSFLPAVG IQDEGIFRCQ AMNRNGKETK SNYRVRVYQI
 PGKPEIVDSA SELTAGVPNK VGTCVSEGSY PAGTLSWHL D GKPLVPNEKG
 VSVKEQTRRH PETGLFTLQS ELMVTPARGG DPRPTFSCSF SPGLPRHRAL
 RTAPIQPRVW EPVPLEEVQL VVEPEGGAVA P

AMINOÁCIDOS DO RAGE HUMANO 24-251 (SEQ ID No: 20)

QNITARI GEPLVLKCKG APKKPPQRL E WKLNTGRTEA WKVLSPQGGG
 PWDSVARVLP NGSFLPAVG IQDEGIFRCQ AMNRNGKETK SNYRVRVYQI
 PGKPEIVDSA SELTAGVPNK VGTCVSEGSY PAGTLSWHL D GKPLVPNEKG
 VSVKEQTRRH PETGLFTLQS ELMVTPARGG DPRPTFSCSF SPGLPRHRAL
 RTAPIQPRVW EPVPLEEVQL VVEPEGGAVA P

LIGADOR DO RAGE (SEQ ID No: 21)

VYQIPGK

LIGADOR DO RAGE (SEQ ID No: 22)

TAPIQPRVWE PVPLEEVQLV VEPEGGAVAP

LIGADOR DO RAGE (SEQ ID No: 23)

VYQIPGKPEI VDSASELTAG

LIGADOR DO RAGE (SEQ ID No: 24)

TAPIQ

FIG. 1G**DNA CODIFICANDO RAGE HUMANO 1-118 (SEQ ID No: 25)**

ATGGCAGCCG GAACAGCAGT TGGAGCCTGG GTGCTGGTCC TCAGTCTGTG
 GGGGGCAGTA GTAGGTGCTC AAAACATCAC AGCCCGGATT GGCGAGCCAC
 TGGTGCTGAA GTGTAAGGGG GCCCCAAGA AACCACCCCA GCGGCTGGAA
 TGGAAACTGA ACACAGGCCG GACAGAAGCT TGGAAGGTCC TGTCTCCCCA
 GGGAGGAGGC CCCTGGGACA GTGTGGCTCG TGTCTTCCC AACGGCTCCC
 TCTTCCTTCC GGCTGTCGGG ATCCAGGATG AGGGGATTTT CCGGTGCCAG
 GCAATGAACA GGAATGGAAA GGAGACCAAG TCCAACCTACC GAGTCCGTGT
 CTAC

DNA CODIFICANDO RAGE HUMANO 1-123 (SEQ ID No: 26)

ATGGCAGCCG GAACAGCAGT TGGAGCCTGG GTGCTGGTCC TCAGTCTGTG
 GGGGGCAGTA GTAGGTGCTC AAAACATCAC AGCCCGGATT GGCGAGCCAC
 TGGTGCTGAA GTGTAAGGGG GCCCCAAGA AACCACCCCA GCGGCTGGAA
 TGGAAACTGA ACACAGGCCG GACAGAAGCT TGGAAGGTCC TGTCTCCCCA
 GGGAGGAGGC CCCTGGGACA GTGTGGCTCG TGTCTTCCC AACGGCTCCC
 TCTTCCTTCC GGCTGTCGGG ATCCAGGATG AGGGGATTTT CCGGTGCCAG
 GCAATGAACA GGAATGGAAA GGAGACCAAG TCCAACCTACC GAGTCCGTGT
 CTACCAGATT CCTGGGAAG

DNA CODIFICANDO RAGE HUMANO 1-136 (SEQ ID No: 27)

ATGGCAGCCG GAACAGCAGT TGGAGCCTGG GTGCTGGTCC TCAGTCTGTG
 GGGGGCAGTA GTAGGTGCTC AAAACATCAC AGCCCGGATT GGCGAGCCAC
 TGGTGCTGAA GTGTAAGGGG GCCCCAAGA AACCACCCCA GCGGCTGGAA
 TGGAAACTGA ACACAGGCCG GACAGAAGCT TGGAAGGTCC TGTCTCCCCA
 GGGAGGAGGC CCCTGGGACA GTGTGGCTCG TGTCTTCCC AACGGCTCCC
 TCTTCCTTCC GGCTGTCGGG ATCCAGGATG AGGGGATTTT CCGGTGCCAG
 GCAATGAACA GGAATGGAAA GGAGACCAAG TCCAACCTACC GAGTCCGTGT
 CTACCAGATT CCTGGGAAGC CAGAAATTGT AGATTCTGCC TCTGAACTCA
 CGGCTGGT

FIG. 1H**DNA CODIFICANDO RAGE HUMANO 1-230 (SEQ ID No: 28)**

ATGGCAGCCG	GAACAGCAGT	TGGAGCCTGG	GTGCTGGTCC	TCAGTCTGTG
GGGGGCAGTA	GTAGGTGCTC	AAAACATCAC	AGCCCGGATT	GGCGAGCCAC
TGGTGCTGAA	GTGTAAGGGG	GCCCCAAGA	AACCACCCCA	GCGGCTGGAA
TGGAAACTGA	ACACAGGCCG	GACAGAAGCT	TGGAAGGTCC	TGTCTCCCCA
GGGAGGAGGC	CCCTGGGACA	GTGTGGCTCG	TGTCCTTCCC	AACGGCTCCC
TCTTCCTTCC	GGCTGTCGGG	ATCCAGGATG	AGGGGATTTT	CCGGTGCCAG
GCAATGAACA	GGAATGGAAA	GGAGACCAAG	TCCAACCTACC	GAGTCCGTGT
CTACCAGATT	CCTGGGAAGC	CAGAAATTGT	AGATTCTGCC	TCTGAACTCA
CGGCTGGTGT	TCCCAATAAG	GTGGGGACAT	GTGTGTCAGA	GGGGAGCTAC
CCTGCAGGGA	CTCTTAGCTG	GCACTTGGAT	GGGAAGCCCC	TGGTGCCTAA
TGAGAAGGGA	GTATCTGTGA	AGGAACAGAC	CAGGAGACAC	CCTGAGACAG
GGCTCTTCAC	ACTGCAGTCG	GAGCTAATGG	TGACCCCAGC	CCGGGGAGGA
GATCCCCGTC	CCACCTTCTC	CTGTAGCTTC	AGCCCAGGCC	TTCCCCGACA
CCGGGCCTTG	CGCACAGCCC	CCATCCAGCC	CCGTGTCTGG	

DNA CODIFICANDO RAGE HUMANO 1-251 (SEQ ID No: 29)

ATGGCAGCCG	GAACAGCAGT	TGGAGCCTGG	GTGCTGGTCC	TCAGTCTGTG
GGGGGCAGTA	GTAGGTGCTC	AAAACATCAC	AGCCCGGATT	GGCGAGCCAC
TGGTGCTGAA	GTGTAAGGGG	GCCCCAAGA	AACCACCCCA	GCGGCTGGAA
TGGAAACTGA	ACACAGGCCG	GACAGAAGCT	TGGAAGGTCC	TGTCTCCCCA
GGGAGGAGGC	CCCTGGGACA	GTGTGGCTCG	TGTCCTTCCC	AACGGCTCCC
TCTTCCTTCC	GGCTGTCGGG	ATCCAGGATG	AGGGGATTTT	CCGGTGCCAG
GCAATGAACA	GGAATGGAAA	GGAGACCAAG	TCCAACCTACC	GAGTCCGTGT
CTACCAGATT	CCTGGGAAGC	CAGAAATTGT	AGATTCTGCC	TCTGAACTCA
CGGCTGGTGT	TCCCAATAAG	GTGGGGACAT	GTGTGTCAGA	GGGGAGCTAC
CCTGCAGGGA	CTCTTAGCTG	GCACTTGGAT	GGGAAGCCCC	TGGTGCCTAA
TGAGAAGGGA	GTATCTGTGA	AGGAACAGAC	CAGGAGACAC	CCTGAGACAG
GGCTCTTCAC	ACTGCAGTCG	GAGCTAATGG	TGACCCCAGC	CCGGGGAGGA
GATCCCCGTC	CCACCTTCTC	CTGTAGCTTC	AGCCCAGGCC	TTCCCCGACA
CCGGGCCTTG	CGCACAGCCC	CCATCCAGCC	CCGTGTCTGG	GAGCCTGTGC
CTCTGGAGGA	GGTCCAATTG	GTGGTGGAGC	CAGAAGGTGG	AGCAGTAGCT
CCT				

FIG. 1I**DOMÍNIOS CH₂ E CH₃ HUMANOS PARCIAIS (SEQ ID No: 38)**

PSVF LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVDVSHEDP EVKFENWYVDG
 VEVHNAKTKP REEQYNSTYR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNNKALPAP
 IEKTISKAKG QPREPQVYTL PPSRDELTKN QVSLTCLVKG FYPSDIAVEW
 ESNGQPENNY KTTTPVLDSG GSFFLYSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA
 LHNHYTQKSL SLSPGK

DNA CODIFICANDO DOMÍNIOS CH₂ E CH₃ HUMANOS PARCIAIS (SEQ ID No: 39)

CCGTCAG TCTTCCTCTT CCCCCCAAAA CCCAAGGACA CCCTCATGAT
 CTCCCGGACC CCTGAGGTCA CATGCGTGGT GGTGGACGTG AGCCACGAAG
 ACCCTGAGGT CAAGTTCAAC TGGTACGTGG ACGGCGTGGA GGTGCATAAT
 GCCAAGACAA AGCCGCGGGA GGAGCAGTAC AACAGCACGT ACCGTGTGGT
 CAGCGTCCTC ACCGTCCTGC ACCAGGACTG GCTGAATGGC AAGGAGTACA
 AGTGCAAGGT CTCCAACAAA GCCCTCCCAG CCCCATCGA GAAAACCATC
 TCCAAAGCCA AAGGGCAGCC CCGAGAACCA CAGGTGTACA CCCTGCCCCC
 ATCCCGGGAT GAGCTGACCA AGAACCAGGT CAGCCTGACC TGCCTGGTCA
 AAGGCTTCTA TCCCAGCGAC ATCGCCGTGG AGTGGGAGAG CAATGGGCAG
 CCGGAGAACA ACTACAAGAC CACGCCTCCC GTGCTGGACT CCGACGGCTC
 CTTCTTCCTC TACAGCAAGC TCACCGTGGA CAAGAGCAGG TGGCAGCAGG
 GGAACGTCTT CTCATGCTCC GTGATGCATG AGGCTCTGCA CAACCACTAC
 ACGCAGAAGA GCCTCTCCCT GTCTCCGGGT AAATGA

DOMÍNIOS C_{H2} E C_{H3} HUMANOS (SEQ ID No: 40)

PCPAPELLGG PSVFLFPPKP KDTLMISRTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW
 YVDGVEVHNA KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA
 LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSRDE LTKNQVSLTC LVKGFYPSDI
 AVEWESNGQP ENNYKTTTPV LDSGGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV
 MHEALHNHYT QKSLSLSPGK

FIG. 1J**DNA CODIFICANDO DOMÍNIOS CH₂ E CH₃ HUMANOS (SEQ ID No: 41)**

CCGTGCCCGAG CACCTGAACT CCTGGGGGGA CCGTCAGTCT TCCTCTTCCC
 CCCAAAACCC AAGGACACCC TCATGATCTC CCGGACCCCT GAGGTCACAT
 GCGTGGTGGT GGACGTGAGC CACGAAGACC CTGAGGTCAA GTTCAACTGG
 TACGTGGACG GCGTGGAGGT GCATAATGCC AAGACAAAGC CGCGGGAGGA
 GCAGTACAAC AGCACGTACC GTGTGGTCAG CGTCCTCACC GTCCTGCACC
 AGGACTGGCT GAATGGCAAG GAGTACAAGT GCAAGGTCTC CAACAAAGCC
 CTCCCAGCCC CCATCGAGAA AACCATCTCC AAAGCCAAAG GGCAGCCCCG
 AGAACCACAG GTGTACACCC TGCCCCCATC CCGGGATGAG CTGACCAAGA
 ACCAGGTCAG CCTGACCTGC CTGGTCAAAG GCTTCTATCC CAGCGACATC
 GCCGTGGAGT GGGAGAGCAA TGGGCAGCCG GAGAACAAC ACAAGACCAC
 GCCTCCCGTG CTGGACTCGG AEGGCTCCTT CTTCTCTAC AGCAAGCTCA
 CCGTGGACAA GAGCAGGTGG CAGCAGGGGA ACGTCTTCTC ATGCTCCGTG
 ATGCATGAGG CTCTGCACAA CCACTACACG CAGAAGAGCC TCTCCCTGTC
 TCCGGGTAAA TGA

DOMÍNIO CH₂ HUMANO (SEQ ID No: 42)

PCPAPELLGG PSVFLFPPKP KDTLMIS RTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW
 YVDGVEVHNA KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA
 LPAPIEKTIS KAK

DOMÍNIO CH₃ HUMANO (SEQ ID No: 43)

GQPREPQ VYTLPPSRDE LTKNQVSLTC LVKGFYPSDI
 AVEWESNGQP ENNYKTTPPV LDSGSEFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV
 MHEALHNHYT QKSLSLSPGK

LIGADOR DO RAGE (SEQ ID No: 44)

ISI IEPGEEGPTA GSVGGSGLGT LA

```

ATGGCAGCCG GAACAGCAGT TGGAGCCTGG GTGCTGGTCC TCAGTCTGTG
GGGGGCAGTA GTAGGTGCTC AAAACATCAC AGCCCGGATT GGCGAGCCAC
TGGTGCTGAA GTGTAAGGGG GCCCCAAGA AACCACCCCA GCGGCTGGAA
TGGAAACTGA ACACAGGCCG GACAGAAGCT TGGAAGGTCC TGTCTCCCA
GGGAGGAGGC CCCTGGGACA GTGTGGCTCG TGTCTTCCC AACGGCTCCC
TCTTCCTTCC GGCTGTCGGG ATCCAGGATG AGGGGATTTT CCGGTGCCAG
GCAATGAACA GGAATGGAAA GGAGACCAAG TCCAACCTACC GAGTCCGTGT
CTACCAGATT CCTGGGAAGC CAGAAATTGT AGATTCTGCC TCTGAACTCA
CGGCTGGTGT TCCAATAAG GTGGGGACAT GTGTGTCAGA GGGGAGCTAC
CCTGCAGGGA CTCTTAGCTG GCACTTGGAT GGGGAAGCCCC TGGTGCCTAA
TGAGAAGGGA GTATCTGTGA AGGAACAGAC CAGGAGACAC CCTGAGACAG
GGCTCTTCAC ACTGCAGTCG GAGCTAATGG TGACCCAGC CCGGGGAGGA
GATCCCCGTC CCACCTTCTC CTGTAGCTTC AGCCCAGGCC TTCCCCGACA
CCGGGCCTTG CGCACAGCCC CCATCCAGCC CCGTGTCTGG GAGCCTGTGC
CTCTGGAGGA GGTCCAATTG GTGGTGGAGC CAGAAGGTGG AGCAGTAGCT
CCTCCGTCAG TCTTCCTCTT CCCCCAAAA CCAAGGACA CCCTCATGAT
CTCCCGGACC CCTGAGGTCA CATGCGTGGT GGTGGACGTG AGCCACGAAG
ACCCTGAGGT CAAGTTCAAC TGGTACGTGG ACGGCGTGGA GGTGCATAAT
GCCAAGACAA AGCCGCGGGA GGAGCAGTAC AACAGCACGT ACCGTGTGGT
CAGCGTCCTC ACCGTCCTGC ACCAGGACTG GCTGAATGGC AAGGAGTACA
AGTGCAAGGT CTCCAACAAA GCCCTCCAG CCCCATCGA GAAAACCATC
TCCAAAGCCA AAGGGCAGCC CCGAGAACCA CAGGTGTACA CCCTGCCCCC
ATCCCGGGAT GAGCTGACCA AGAACCAGGT CAGCCTGACC TGCCTGGTCA
AAGGCTTCTA TCCCAGCGAC ATCGCCGTGG AGTGGGAGAG CAATGGGCAG
CCGGAGAACA ACTACAAGAC CACGCCTCCC GTGCTGGACT CCGACGGCTC
CTTCTTCCTC TACAGCAAGC TCACCGTGGA CAAGAGCAGG TGGCAGCAGG
GGAACGTCTT CTCATGCTCC GTGATGCATG AGGCTCTGCA CAACCACTAC
ACGCAGAAGA GCCTCTCCCT GTCTCCGGGT AAATGA

```

Sequência de DNA da região de codificação do RAGE-Fc (TTP-4000) (SEQ ID No: 30)

FIG. 2

```

ATGGCAGCCG GAACAGCAGT TGGAGCCTGG GTGCTGGTCC TCAGTCTGTG
GGGGGCAGTA GTAGGTGCTC AAAACATCAC AGCCCGGATT GGCGAGCCAC
TGGTGCTGAA GTGTAAGGGG GCCCCAAGA AACCACCCCA GCGGCTGGAA
TGGAAGCTGA ACACAGGCCG GACAGAAGCT TGGAAGGTCC TGTCTCCCA
GGGAGGAGGC CCCTGGGACA GTGTGGCTCG TGTCCCTCCC AACGGCTCCC
TCTTCCTTCC GGCTGTCGGG ATCCAGGATG AGGGGATTTT CCGGTGCCAG
GCAATGAACA GGAATGGAAA GGAGACCAAG TCCAACCTACC GAGTCCGTGT
CTACCAGATT CCTGGGAAGC CAGAAATTGT AGATTCTGCC TCTGAACTCA
CGGCTGGTCC GTCAGTCTTC CTCTTCCCCC CAAAACCCAA GGACACCCTC
ATGATCTCCC GGACCCCTGA GGTCACATGC GTGGTGGTGG ACGTGAGCCA
CGAAGACCCT GAGGTCAAGT TCAACTGGTA CGTGGACGGC GTGGAGGTGC
ATAATGCCAA GACAAAGCCG CGGGAGGAGC AGTACAACAG CACGTACCGT
GTGGTCAGCG TCCTCACCGT CCTGCACCAG GACTGGCTGA ATGGCAAGGA
GTACAAGTGC AAGGTCTCCA ACAAAGCCCT CCCAGCCCCC ATCGAGAAAA
CCATCTCCAA AGCCAAAGGG CAGCCCCGAG AACCACAGGT GTACACCCTG
CCCCCATCCC GGGATGAGCT GACCAAGAAC CAGGTCAGCC TGACCTGCCT
GGTCAAAGGC TTCTATCCCA GCGACATCGC CGTGGAGTGG GAGAGCAATG
GGCAGCCGGA GAACAACCTAC AAGACCACGC CTCCCGTGCT GGAATCCGAC
GGCTCCTTCT TCCTCTACAG CAAGCTCACC GTGGACAAGA GCAGGTGGCA
GCAGGGGAAC GTCTTCTCAT GCTCCGTGAT GCATGAGGCT CTGCACAACC
ACTACACGCA GAAGAGCCTC TCCCTGTCTC CGGGTAAATG A

```

Seqüência de DNA da região de codificação do RAGE-Fc (TTP-3000) (SEQ ID No: 31)

FIG. 3

SEQ ID NO: 32

MAAGTAVGAW VLVLSLWGAV VGAQNITARI GEPLVLKCKG APKKPPQRL
WKLNTGRTEA WKVLSPQGGG PWDSVARVLP NGSLEFLPAVG IQDEGIFRCQ
AMNRNGKETK SNYRVRVYQI PGKPEIVDSA SELTAGVPNK VGTCVSEGSY
PAGTLSWHLD GKPLVPNEKG VSVKEQTRRH PETGLFTLQS ELMVTPARGG
DPRPTFSCSF SPGLPRHRAL RTAPIQPRVW EPVPLEEVQL VVEPEGGAVA
PPSVFLEFPPK PKDTLMISRT PEVTCVVVDV SHEDPEVKFN WYVDGVEVHN
AKTKPREEQY NSTYRVVSVL TVLHQDWLNG KEYKCKVSNK ALPAPIEKTI
SKAKGQPREP QVYTLPPSRD ELTKNQVSLT CLVKGFYPSD IAVEWESNGQ
PENNYKTPPP VLDSGDSFFL YSKLTVDKSR WQQGNVFSCS VMHEALHNHY
TQKSLSLSPG K

SEQ ID NO: 33

AQNITARI GEPLVLKCKG APKKPPQRL WKLNTGRTEA WKVLSPQGGG
PWDSVARVLP NGSLEFLPAVG IQDEGIFRCQ AMNRNGKETK SNYRVRVYQI
PGKPEIVDSA SELTAGVPNK VGTCVSEGSY PAGTLSWHLD GKPLVPNEKG
VSVKEQTRRH PETGLFTLQS ELMVTPARGG DPRPTFSCSF SPGLPRHRAL
RTAPIQPRVW EPVPLEEVQL VVEPEGGAVA PPSVFLEFPPK PKDTLMISRT
PEVTCVVVDV SHEDPEVKFN WYVDGVEVHN AKTKPREEQY NSTYRVVSVL
TVLHQDWLNG KEYKCKVSNK ALPAPIEKTI SKAKGQPREP QVYTLPPSRD
ELTKNQVSLT CLVKGFYPSD IAVEWESNGQ PENNYKTPPP VLDSGDSFFL
YSKLTVDKSR WQQGNVFSCS VMHEALHNHY TQKSLSLSPG K

SEQ ID NO: 34

QNITARI GEPLVLKCKG APKKPPQRL WKLNTGRTEA WKVLSPQGGG
PWDSVARVLP NGSLEFLPAVG IQDEGIFRCQ AMNRNGKETK SNYRVRVYQI
PGKPEIVDSA SELTAGVPNK VGTCVSEGSY PAGTLSWHLD GKPLVPNEKG
VSVKEQTRRH PETGLFTLQS ELMVTPARGG DPRPTFSCSF SPGLPRHRAL
RTAPIQPRVW EPVPLEEVQL VVEPEGGAVA PPSVFLEFPPK PKDTLMISRT
PEVTCVVVDV SHEDPEVKFN WYVDGVEVHN AKTKPREEQY NSTYRVVSVL
TVLHQDWLNG KEYKCKVSNK ALPAPIEKTI SKAKGQPREP QVYTLPPSRD
ELTKNQVSLT CLVKGFYPSD IAVEWESNGQ PENNYKTPPP VLDSGDSFFL
YSKLTVDKSR WQQGNVFSCS VMHEALHNHY TQKSLSLSPG K

Seqüências alternadas codificando uma proteína de fusão de IgG RAGE-Fc de quatro domínios

FIG. 4

SEQ ID NO: 35

MAAGTAVGAW VLVL~~SL~~WGAV VGAQ~~NI~~TARI GEPLVLKCKG APKKPPQ~~RL~~E
 WKLNTGRTEA WKVLSPQGGG PWDSVARVLP NGSLEFLPAVG IQDEGIFRCQ
 AMNRNGKETK SNYRVRVYQI PGKPEIVDSA SELTAGPSVF LFPPKPKDTL
 MISRTPEVTC VVVDVSHEDP EVKFNWYVDG VEVHNAKTKP REEQYNSTYR
 VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNAKALPAP IEKTISKAKG QPREPQVYTL
 PPSRDELTKN QVSLTCLVKG FYPSDIAVEW ESNGQPENNY KTTTPVLDS
 GSFFLYSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPGK

SEQ ID NO: 36

AQ~~NI~~TARI GEPLVLKCKG APKKPPQ~~RL~~E WKLNTGRTEA WKVLSPQGGG
 PWDSVARVLP NGSLEFLPAVG IQDEGIFRCQ AMNRNGKETK SNYRVRVYQI
 PGKPEIVDSA SELTAGPSVF LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVDVSHEDP
 EVKFNWYVDG VEVHNAKTKP REEQYNSTYR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC
 KVSNAKALPAP IEKTISKAKG QPREPQVYTL PPSRDELTKN QVSLTCLVKG
 FYPSDIAVEW ESNGQPENNY KTTTPVLDS GSFFLYSKLT VDKSRWQQGN
 VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPGK

SEQ ID NO: 37

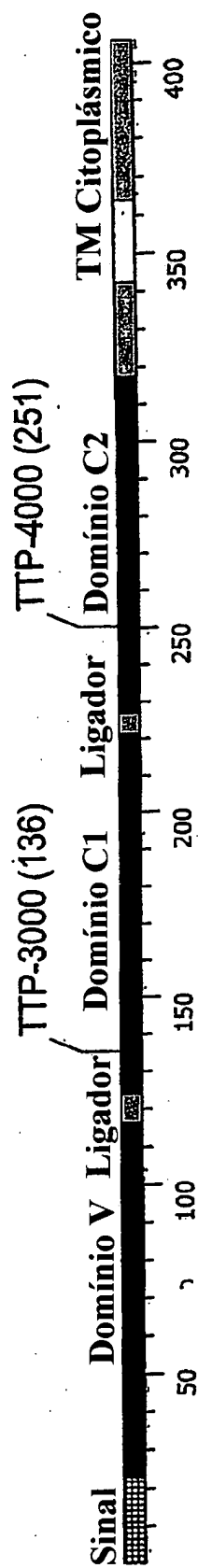
Q~~NI~~TARI GEPLVLKCKG APKKPPQ~~RL~~E WKLNTGRTEA WKVLSPQGGG
 PWDSVARVLP NGSLEFLPAVG IQDEGIFRCQ AMNRNGKETK SNYRVRVYQI
 PGKPEIVDSA SELTAGPSVF LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVDVSHEDP
 EVKFNWYVDG VEVHNAKTKP REEQYNSTYR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC
 KVSNAKALPAP IEKTISKAKG QPREPQVYTL PPSRDELTKN QVSLTCLVKG
 FYPSDIAVEW ESNGQPENNY KTTTPVLDS GSFFLYSKLT VDKSRWQQGN
 VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPGK

Sequências alternadas codificando uma proteína de fusão de IgG RAGE-Fc de três domínios

FIG. 5

FIG. 6A

Estrutura do Domínio hRAGE



Ig gama-1 Fc HUMANO

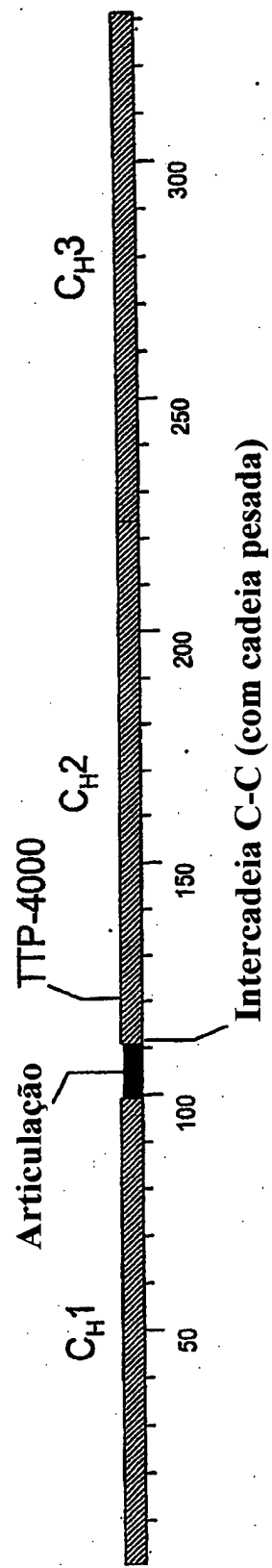
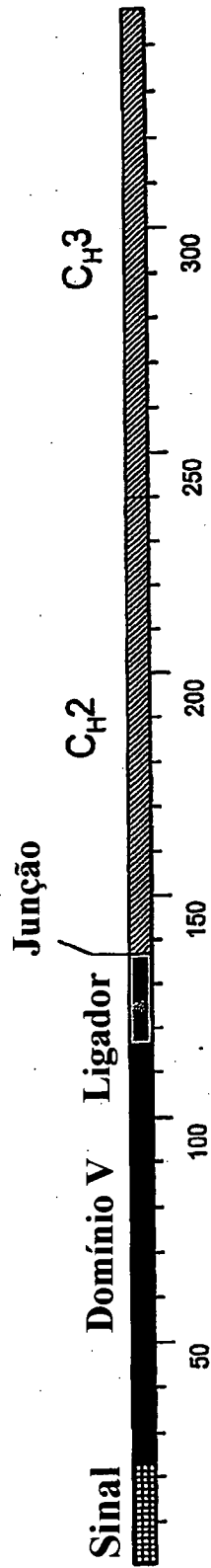


FIG. 6B

TTP-3000



TTP-4000

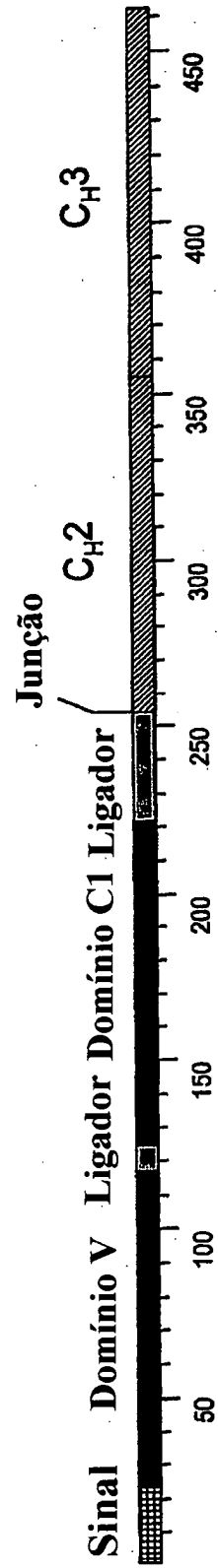


FIG. 7

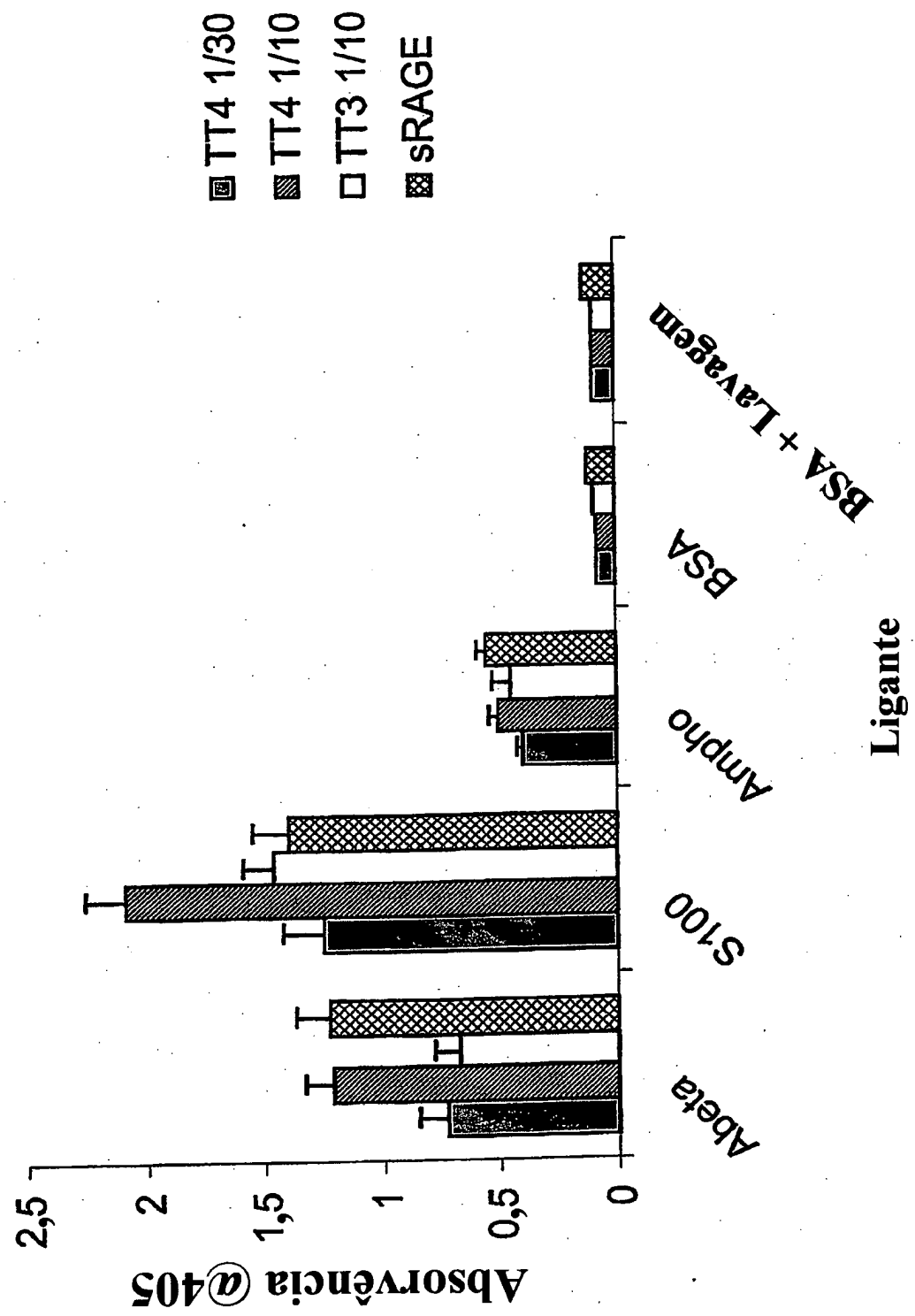


FIG. 8

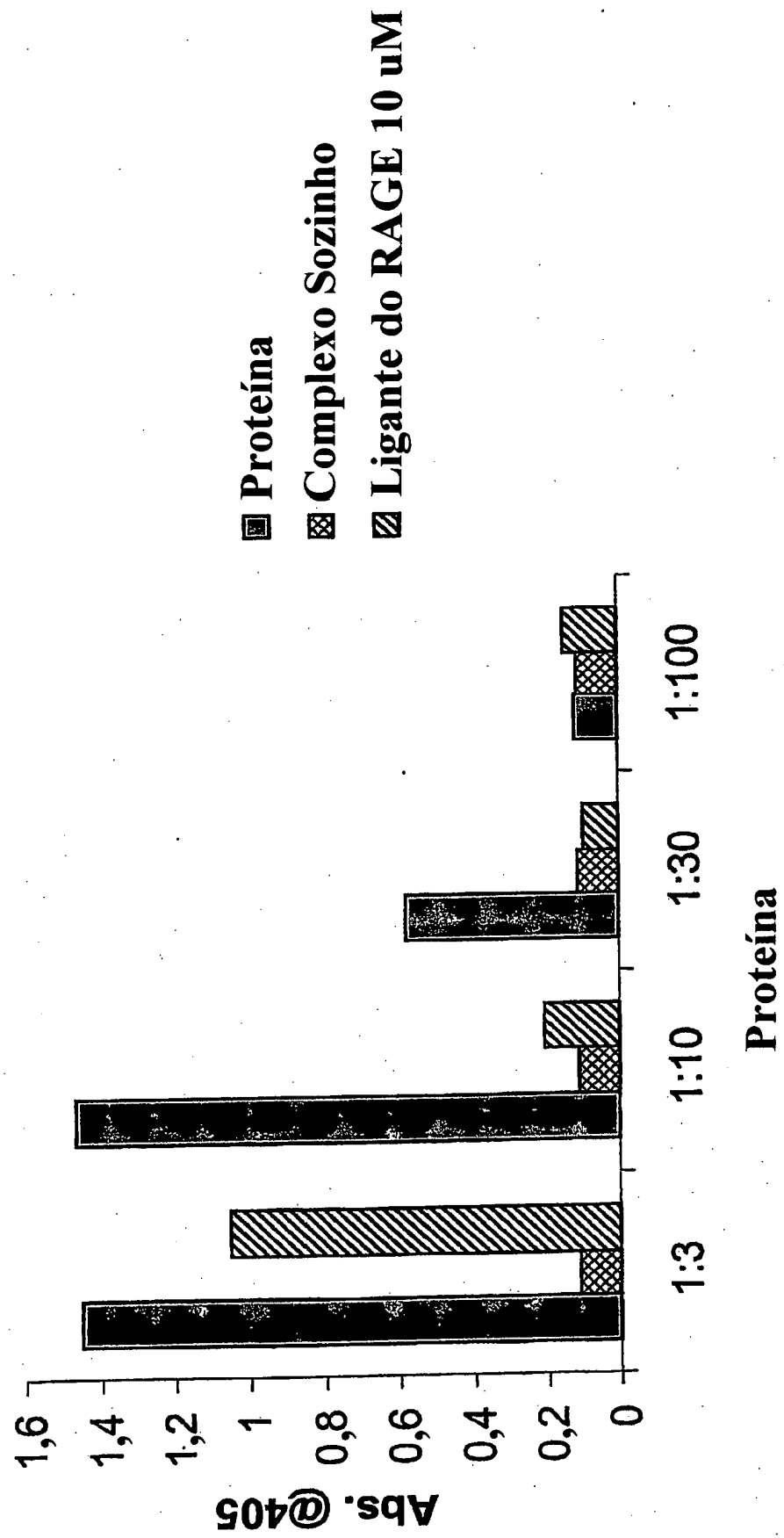


FIG. 9

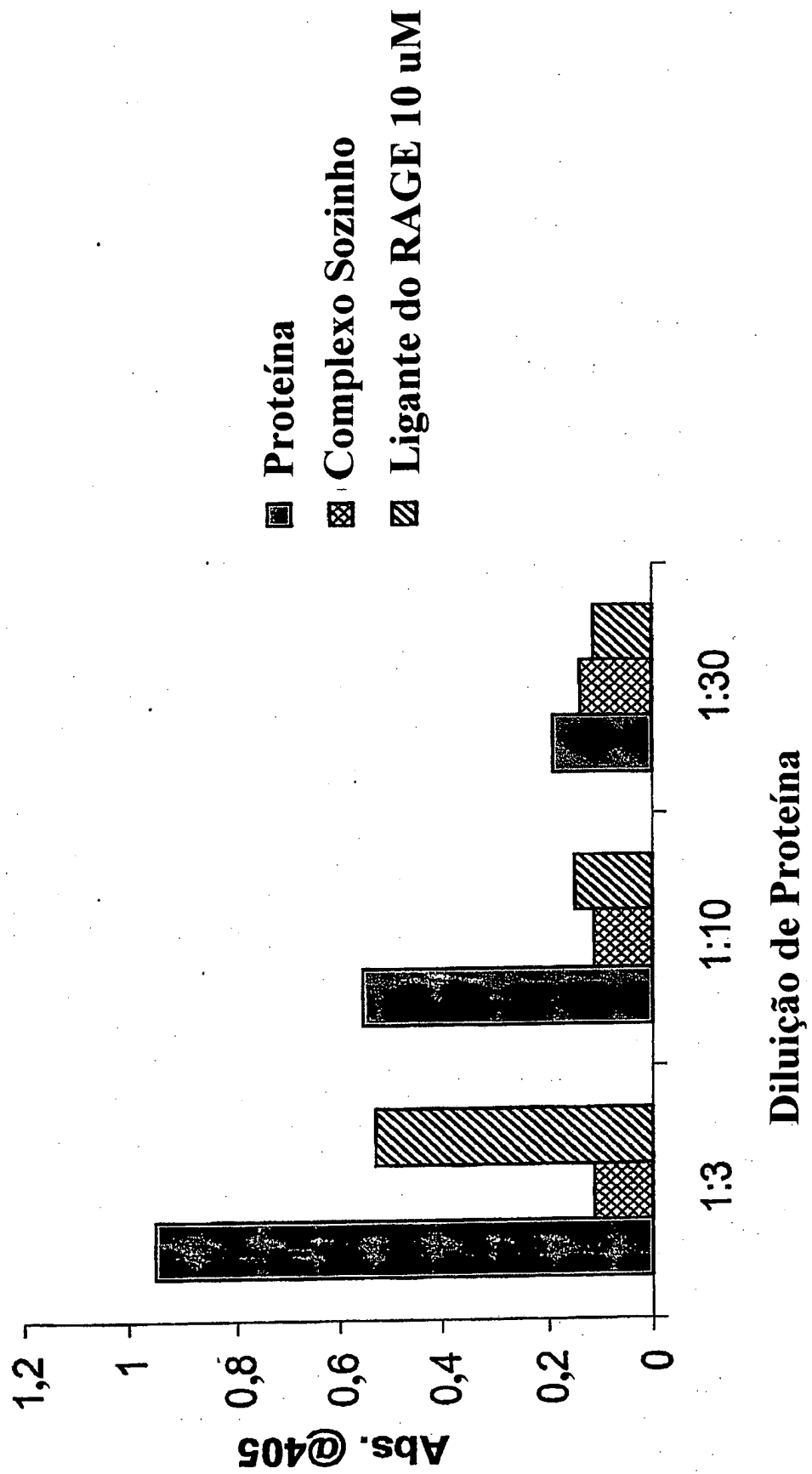


FIG. 10

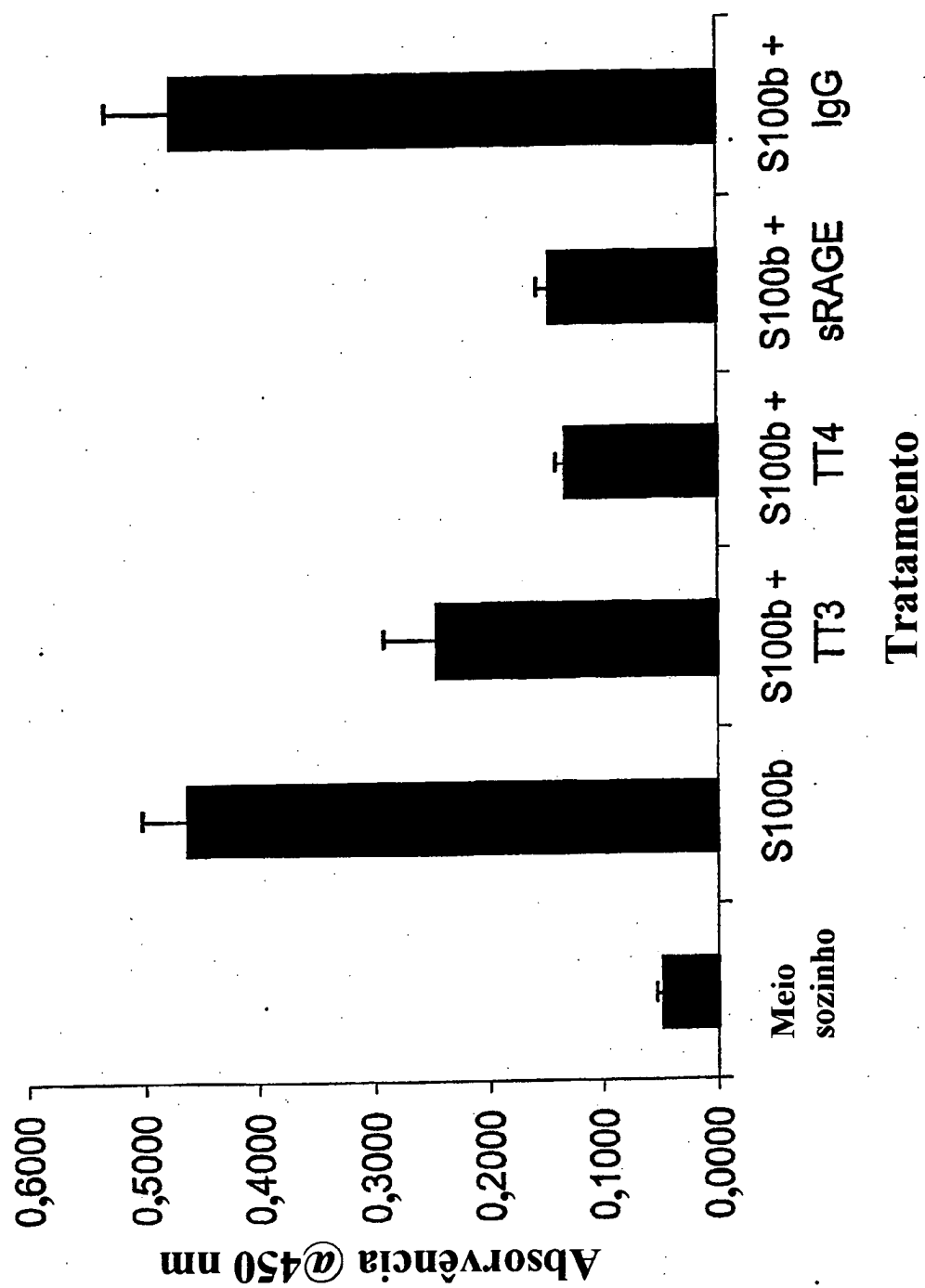


FIG. 11

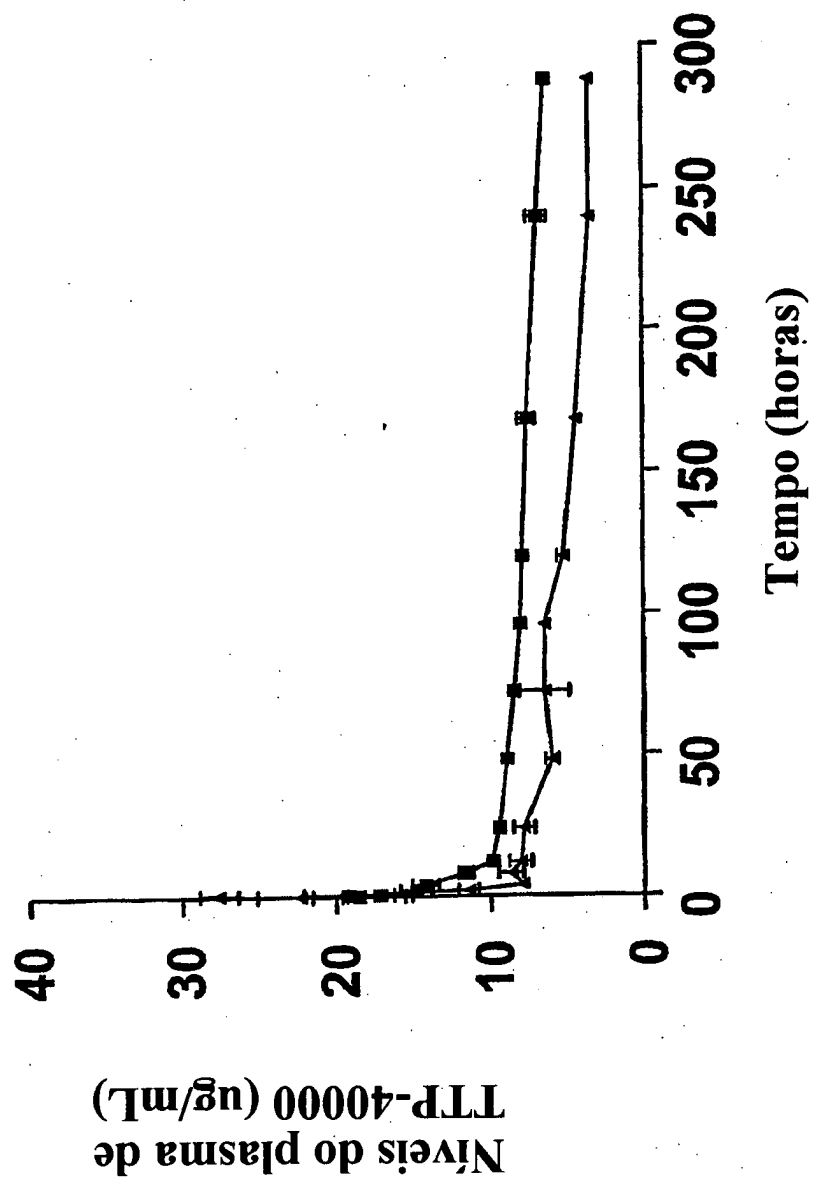


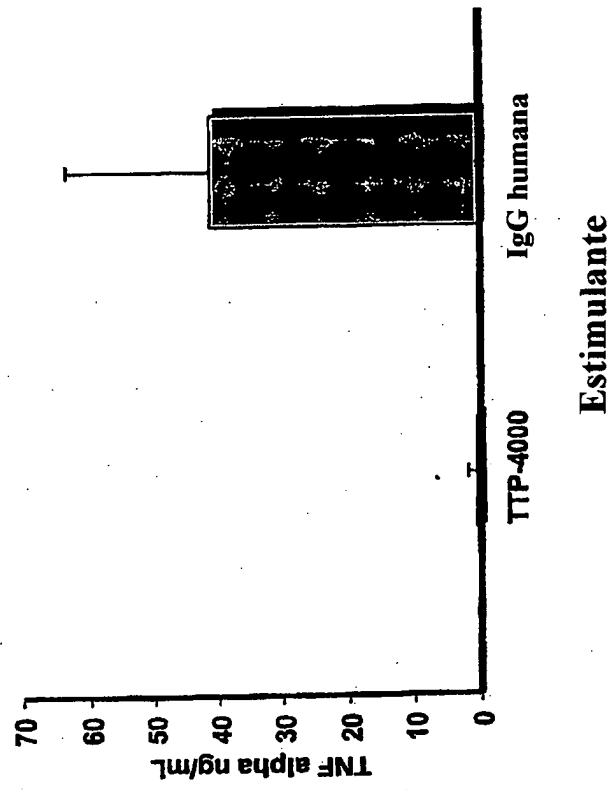
FIG. 12

FIG. 13A

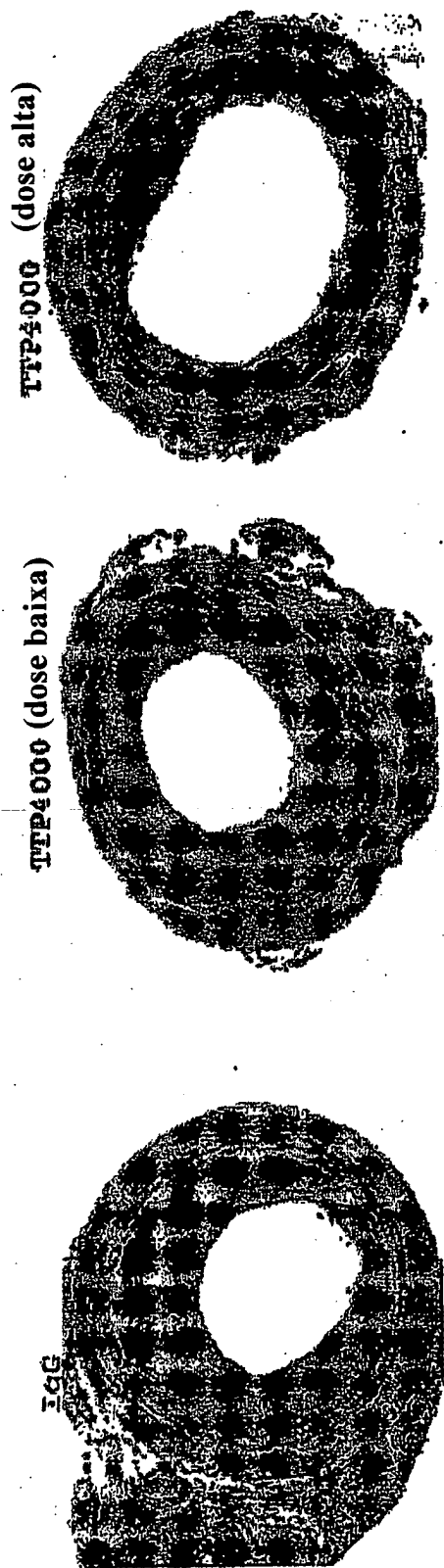


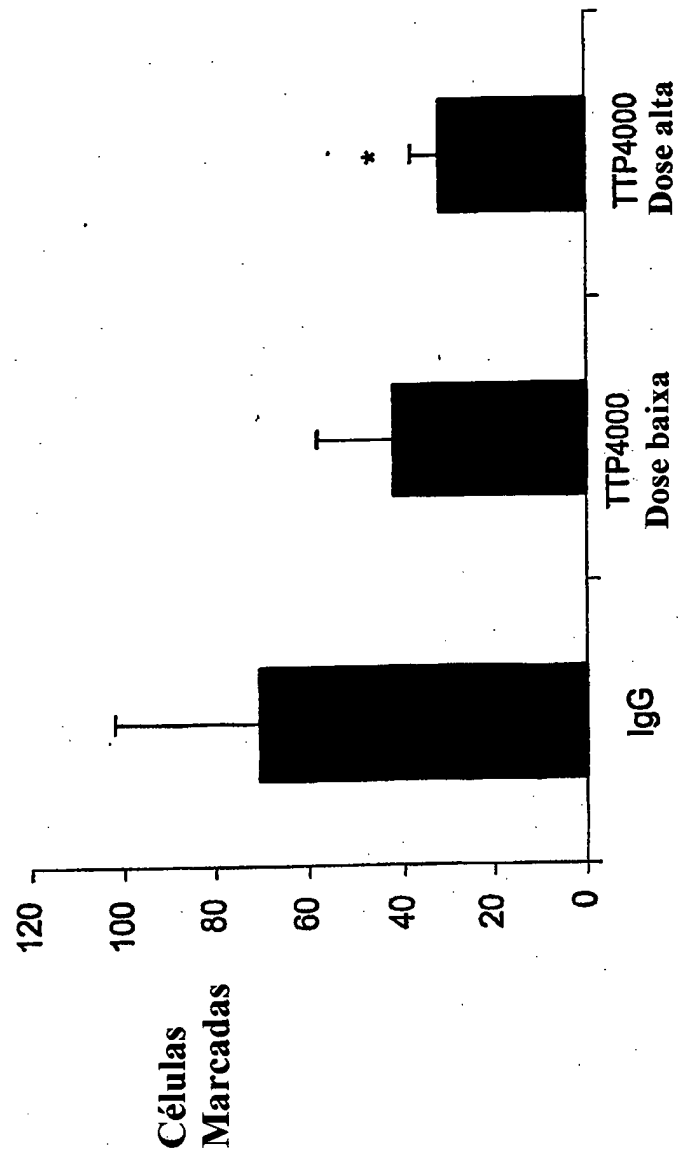
FIG. 13B

FIG. 14A

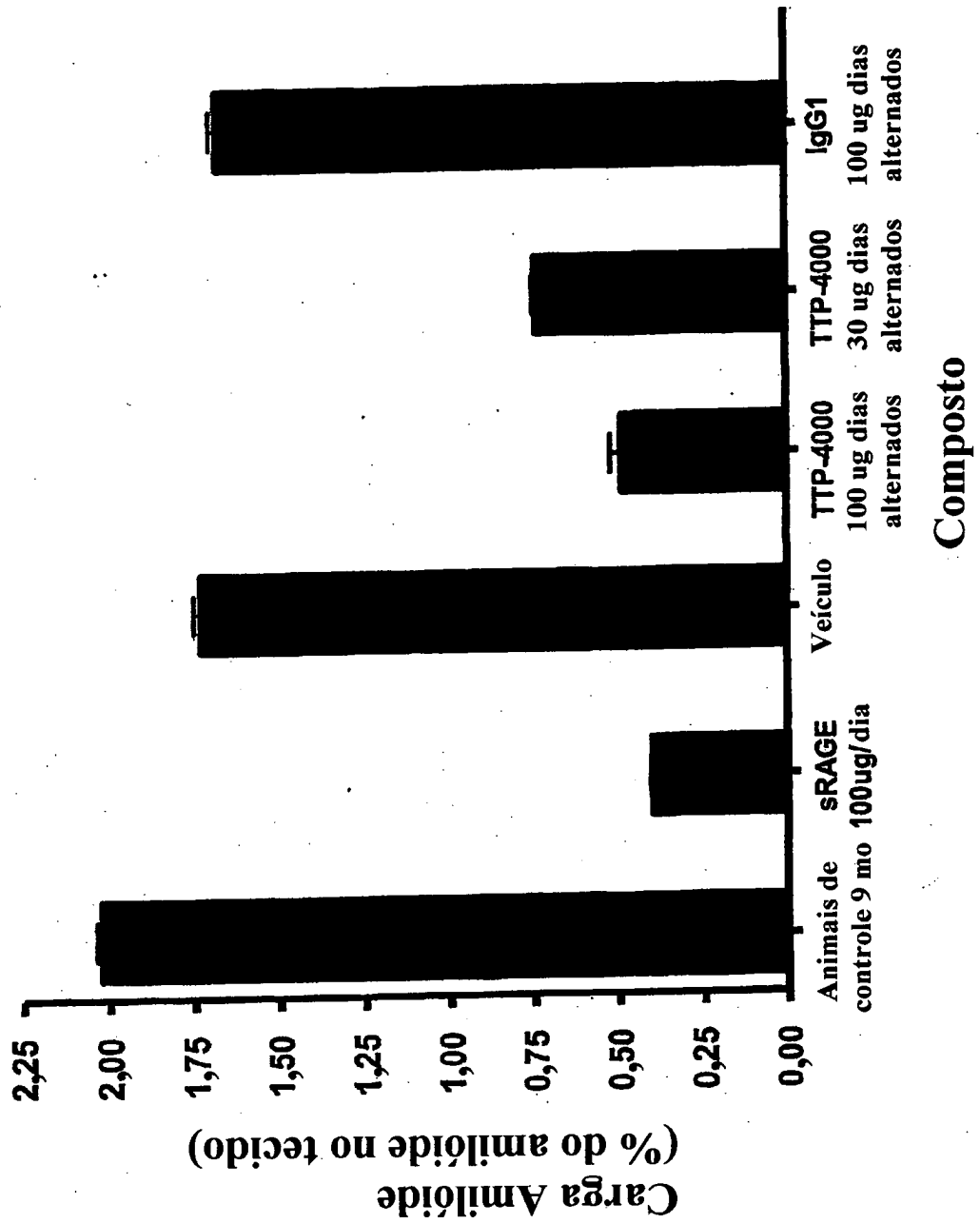


FIG. 14B

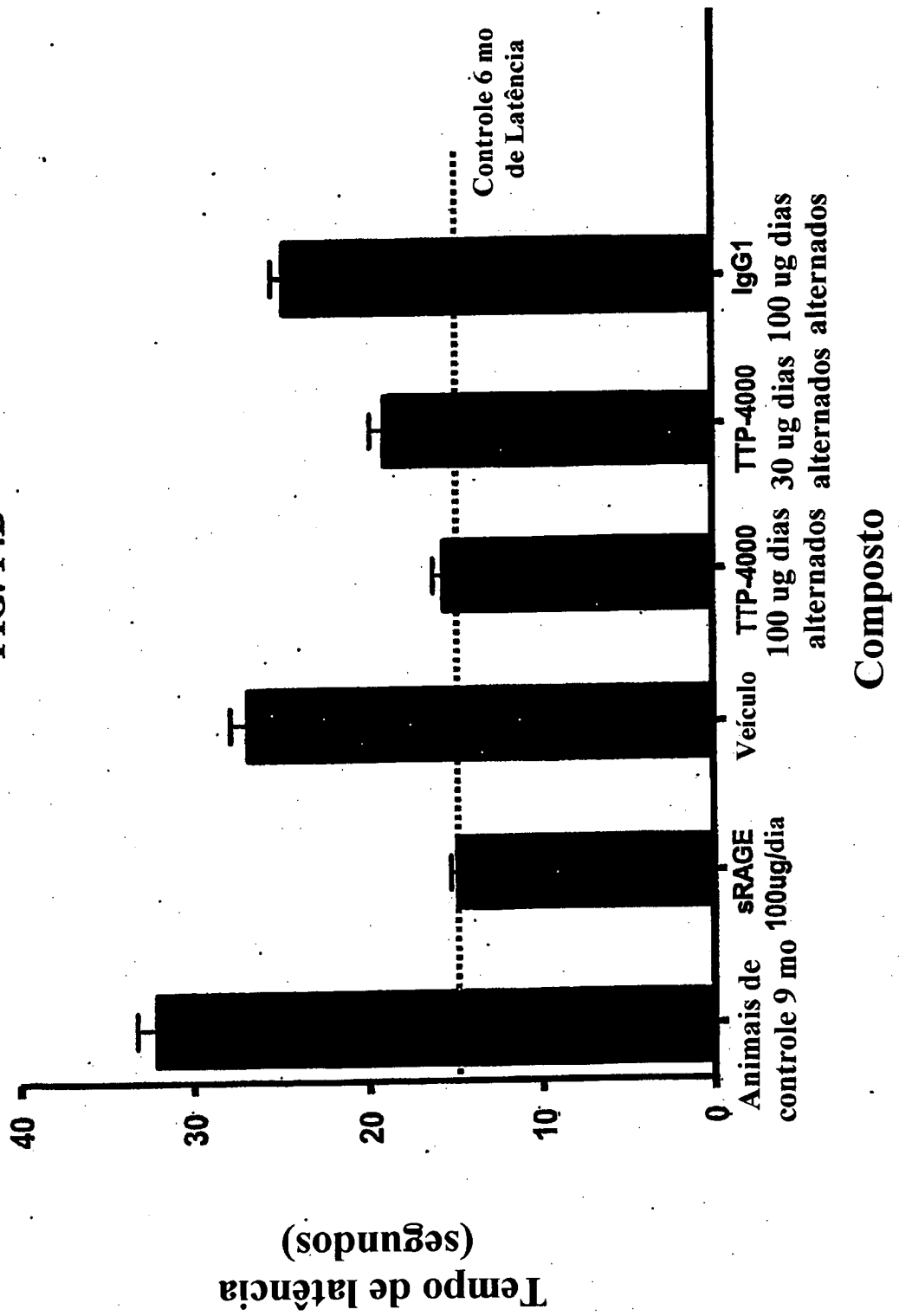


FIG. 15

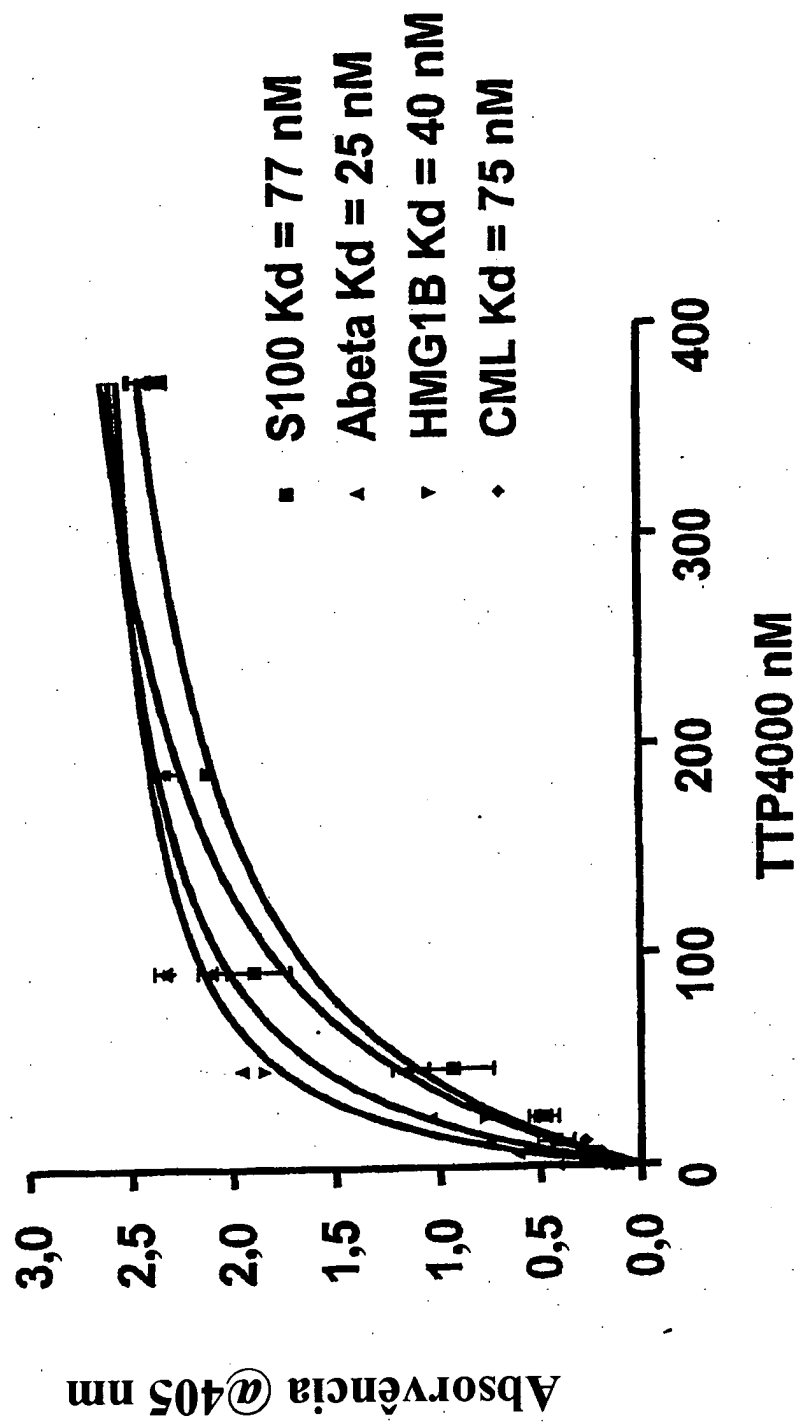


FIG. 16A**RAGEs HUMANO SEM SEQUÊNCIA DE SINAL (SEQ ID No: 45)**

pENITARI GEPLVLKCKG APKKPPQRL
 WKLNTGRTEA WKVLSPQGGG PWDSVARVLP NGSLELPAVG IQDEGIFRCQ
 AMNRNGKETK SNYRVRVYQI PGKPEIVDSA SELTAGVPNK VGTCVSEGSY
 PAGTLSWHLG GKPLVPNEKG VSVKEQTRRH PETGLFTLQS ELMVTPARGG
 DPRPTFSCSF SPGLPRHRAL RTAPIQPRVW EPVPLEEVQL VVEPEGGAVA
 PGGTVTLTCE VPAQPSPQIH WMKDGVPPLP PPSPVLILPE IGPQDQGTYS
 CVATHSSHGP QESRAVSISI IEPGEEGPTA GSVGGSGLG

DOMÍNIO V DO RAGE HUMANO (SEQ ID No: 46)

pENITARI GEPLVLKCKG APKKPPQRL WKLNTGRTEA WKVLSPQGGG
 PWDSVARVLP NGSLELPAVG IQDEGIFRCQ AMNRNGKETK SNYRVR

FRAGMENTO DO DOMÍNIO V DO RAGE HUMANO (SEQ ID No: 47)

pENITARI GEPLVLKCKG APKKPPQRL WK

AMINOÁCIDOS DO RAGE HUMANO 24-123 (SEQ ID No: 48)

pENITARI GEPLVLKCKG APKKPPQRL WKLNTGRTEA WKVLSPQGGG
 PWDSVARVLP NGSLELPAVG IQDEGIFRCQ AMNRNGKETK SNYRVRVYQI
 PGK

FIG. 16B**AMINOÁCIDOS DO RAGE HUMANO 24-136 (SEQ ID No: 49)**

pENITARI GEPLVLKCKG APKKPPQRL E WKLNTGRTEA WKVLSPQGGG
 PWDSVARVLP NGSFLPAVG IQDEGIFRCQ AMNRNGKETK SNYRVRVYQI
 PGKPEIVDSA SELTAG

AMINOÁCIDOS DO RAGE HUMANO 24-226 (SEQ ID No: 50)

pENITARI GEPLVLKCKG APKKPPQRL E WKLNTGRTEA WKVLSPQGGG
 PWDSVARVLP NGSFLPAVG IQDEGIFRCQ AMNRNGKETK SNYRVRVYQI
 PGKPEIVDSA SELTAGVPNK VGTCVSEGSY PAGTLSWHLD GKPLVPNEKG
 VSVKEQTRRH PETGLFTLQS ELMVTPARGG DPRPTFSCSF SPGLPRHRAL
 RTAPIQ

AMINOÁCIDOS DO RAGE HUMANO 24-251 (SEQ ID No: 51)

pENITARI GEPLVLKCKG APKKPPQRL E WKLNTGRTEA WKVLSPQGGG
 PWDSVARVLP NGSFLPAVG IQDEGIFRCQ AMNRNGKETK SNYRVRVYQI
 PGKPEIVDSA SELTAGVPNK VGTCVSEGSY PAGTLSWHLD GKPLVPNEKG
 VSVKEQTRRH PETGLFTLQS ELMVTPARGG DPRPTFSCSF SPGLPRHRAL
 RTAPIQPRVW EPVPLEEVQL VVEPEGGA P

FIG. 16C**DNA CODIFICANDO DOMÍNIOS CH₂ E CH₃ HUMANOS PARCIAIS (SEQ ID No: 52)**

```

    CCGTCAG TCTTCCTCTT CCCCCCAAAA CCCAAGGACA CCCTCATGAT
CTCCCCGGACC CCTGAGGTCA CATGCGTGGT GGTGGACGTG AGCCACGAAG
ACCCGTGAGGT CAAGTTCAAC TGGTACGTGG ACGGCGTGGA GGTGCATAAT
GCCAAGACAA AGCCGCGGGA GGAGCAGTAC AACAGCACGT ACCGTGTGGT
CAGCGTCCTC ACCGTCCTGC ACCAGGACTG GCTGAATGGC AAGGAGTACA
AGTGCAAGGT CTCCAACAAA GCCCTCCCAG CCCCCATCGA GAAAACCATC
TCCAAAGCCA AAGGGCAGCC CCGAGAACCA CAGGTGTACA CCCTGCCCCC
ATCCCCGGGAT GAGCTGACCA AGAACCAGGT CAGCCTGACC TGCCTGGTCA
AAGGCTTCTA TCCCAGCGAC ATCGCCGTGG AGTGGGAGAG CAATGGGCAG
CCGGAGAACA ACTACAAGAC CACGCCTCCC GTGCTGGACT CCGACGGCTC
CTTCTTCCTC TACAGCAAGC TCACCGTGGA CAAGAGCAGG TGGCAGCAGG
GGAACGTCTT CTCATGCTCC GTGATGCATG AGGCTCTGCA CAACCACTAC
ACGCAGAAGA GCCTCTCCCT GTCTCCCGGG AAATGA

```

DNA CODIFICANDO DOMÍNIOS CH₂ E CH₃ HUMANOS (SEQ ID No: 53)

```

    CCGTGCCCAG CACCTGAACT CCTGGGGGGA CCGTCAGTCT TCCTCTTCCC
CCCCAAACCC AAGGACACCC TCATGATCTC CCGGACCCCT GAGGTCACAT
GCGTGGTGGT GGACGTGAGC CACGAAGACC CTGAGGTCAA GTTCAACTGG
TACGTGGACG GCGTGGAGGT GCATAATGCC AAGACAAAGC CGCGGGAGGA
GCAGTACAAC AGCACGTACC GTGTGGTCAG CGTCCTCACC GTCCTGCACC
AGGACTGGCT GAATGGCAAG GAGTACAAGT GCAAGGTCTC CAACAAAGCC
CTCCCAGCCC CCATCGAGAA AACCATCTCC AAAGCCAAAG GGCAGCCCCG
AGAACCACAG GTGTACACCC TGCCCCCATC CCGGGATGAG CTGACCAAGA
ACCAGGTCAG CCTGACCTGC CTGGTCAAAG GCTTCTATCC CAGCGACATC
GCCGTGGAGT GGGAGAGCAA TGGGCAGCCG GAGAACAAC ACAAGACCAC
GCCTCCCGTG CTGGACTCCG ACGGCTCCTT CTCCTCTAC AGCAAGCTCA
CCGTGGACAA GAGCAGGTGG CAGCAGGGGA ACGTCTTCTC ATGCTCCGTG
ATGCATGAGG CTCTGCACAA CCACTACACG CAGAAGAGCC TCTCCCTGTC
TCCCGGAAA TGA

```

```

ATGGCAGCCG GAACAGCAGT TGGAGCCTGG GTGCTGGTCC TCAGTCTGTG
GGGGGCAGTA GTAGGTGCTC AAAACATCAC AGCCCGGATT GGCGAGCCAC
TGGTGCTGAA GTGTAAGGGG GCCCCAAGA AACCACCCCA GCGGCTGGAA
TGGAAACTGA ACACAGGCCG GACAGAAGCT TGGGAAGTCC TGTCTCCCA
GGGAGGAGGC CCCTGGGACA GTGTGGCTCG TGTCTTCCC AACGGCTCCC
TCTTCCTTCC GGCTGTCGGG ATCCAGGATG AGGGGATTTT CCGGTGCCAG
GCAATGAACA GGAATGGAAA GGAGACCAAG TCCAACACC GAGTCCGTGT
CTACCAGATT CCTGGGAAGC CAGAAATTGT AGATTCTGCC TCTGAACTCA
CGGCTGGTGT TCCCAATAAG GTGGGGACAT GTGTGTCAGA GGGGAGCTAC
CCTGCAGGGA CTCTTAGCTG GCACTTGGAT GGGGAAGCCCC TGGTGCCTAA
TGAGAAGGGA GTATCTGTGA AGGAACAGAC CAGGAGACAC CCTGAGACG
GGCTCTTCAC ACTGCAGTCG GAGCTAATGG TGACCCAGC CCGGGGAGGA
GATCCCCGTC CCACCTTCTC CTGTAGCTTC AGCCAGGCC TTCCCCGACA
CCGGGCCTTG CGCACAGCCC CCATCCAGCC CCGTGTCTGG GAGCCTGTGC
CTCTGGAGGA GGTCCAATTG GTGGTGGAGC CAGAAGGTGG AGCAGTAGCT
CCTCCGTCAG TCTTCCTCTT CCCCCAAAA CCAAGGACA CCCTCATGAT
CTCCCGGACC CCTGAGGTCA CATGCGTGGT GGTGGACGTG AGCCACGAAG
ACCCTGAGGT CAAGTTCAAC TGGTACGTGG ACGGCGTGGA GGTGCATAAT
GCCAAGACAA AGCCGCGGGA GGAGCAGTAC AACAGCACGT ACCGTGTGGT
CAGCGTCCTC ACCGTCCTGC ACCAGGACTG GCTGAATGGC AAGGAGTACA
AGTGCAAGGT CTCCAACAAA GCCCTCCCAG CCCCATCGA GAAAACCATC
TCCAAAGCCA AAGGGCAGCC CCGAGAACCA CAGGTGTACA CCCTGCCCCC
ATCCCGGGAT GAGCTGACCA AGAACCAGGT CAGCCTGACC TGCCTGGTCA
AAGGCTTCTA TCCCAGCGAC ATCGCCGTGG AGTGGGAGAG CAATGGGCAG
CCGGAGAACA ACTACAAGAC CACGCCTCCC GTGCTGGACT CCGACGGCTC
CTTCTTCCTC TACAGCAAGC TCACCGTGGA CAAGAGCAGG TGGCAGCAGG
GGAACGTCTT CTCATGCTCC GTGATGCATG AGGCTCTGCA CAACCACTAC
ACGCAGAAGA GCCTCTCCCT GTCTCCCGG AAATGA

```

Seqüência de DNA alternada da região de codificação do RAGE-Fc (TTP-4000) (SEQ ID No: 54)

FIG. 17

```

ATGGCAGCCG GAACAGCAGT TGGAGCCTGG GTGCTGGTCC TCAGTCTGTG
GGGGGCAGTA GTAGGTGCTC AAAACATCAC AGCCCGGATT GGCGAGCCAC
TGGTGCTGAA GTGTAAGGGG GCCCCAAGA AACCACCCCA GCGGCTGGAA
TGGAAACTGA ACACAGGCCG GACAGAAGCT TGGAAAGGTCC TGTCTCCCCA
GGGAGGAGGC CCCTGGGACA GTGTGGCTCG TGTCTTCCC AACGGCTCCC
TCTTCCTTCC GGCTGTCGGG ATCCAGGATG AGGGGATTTT CCGGTGCCAG
GCAATGAACA GGAATGGAAA GGAGACCAAG TCCAACCTACC GAGTCCGTGT
CTACCAGATT CCTGGGAAGC CAGAAATTGT AGATTCTGCC TCTGAACTCA
CGGCTGGTCC GTCAGTCTTC CTCTTCCCC CAAAACCCAA GGACACCCTC
ATGATCTCCC GGACCCCTGA GGTACATGC GTGGTGGTGG ACGTGAGCCA
CGAAGACCCT GAGGTCAAGT TCAACTGGTA CGTGGACGGC GTGGAGGTGC
ATAATGCCAA GACAAAGCCG CGGGAGGAGC AGTACAACAG CACGTACCGT
GTGGTCAGCG TCCTCACCGT CCTGCACCAG GACTGGCTGA ATGGCAAGGA
GTACAAGTGC AAGGTCTCCA ACAAAGCCCT CCCAGCCCC ATCGAGAAAA
CCATCTCCAA AGCCAAAGGG CAGCCCCGAG AACCACAGGT GTACACCCTG
CCCCCATCCC GGGATGAGCT GACCAAGAAC CAGGTCAGCC TGACCTGCCT
GGTCAAAGGC TTCTATCCCA GCGACATCGC CGTGGAGTGG GAGAGCAATG
GGCAGCCGGA GAACAACCTAC AAGACCACGC CTCCCGTGCT GGA CTCCGAC
GGCTCCTTCT TCCTCTACAG CAAGCTCACC GTGGACAAGA GCAGGTGGCA
GCAGGGGAAC GTCTTCTCAT GCTCCGTGAT GCATGAGGCT CTGCACAACC
ACTACACGCA GAAGAGCCTC TCCCTGTCTC CCGGGAAATG A

```

Sequência de DNA alternada da região de codificação do RAGE-Fc (TTP-3000) (SEQ ID No: 55)

FIG. 18

SEQ ID NO: 56

PENITARI GEPLVLKCKG APKKPPQRL E WKLNTGRTEA WKVLSPQGGG
PWDSVARVLP NGSFLPAVG IQDEGIFRCQ AMNRNGKETK SNYRVRVYQI
PGKPEIVDSA SELTAGVPNK VGTCVSEGSY PAGTLSWHLD GKPLVPNEKG
VSVKEQTRRH PETGLETLQS ELMVTPARGG DPRPTFSCSF SPGLPRERAL
RTAPIQPRVW EPVPLEEVQL VVEPEGGAVA PPSVFLFPPK PKDTLMISRT
PEVTCVVVDV SHEDPEVKFN WYVDGVEVHN AKTKPREEQY NSTYRVVSVL
TVLHQDWLNG KEYKCKVSNK ALPAPIEKTI SKAKGQPREP QVYTLPPSRD
ELTKNQVSLT CLVKGFYPSD IAVEWESNGQ PENNYKTTTP VLDSDGSFFL
YSKLTVDKSR WQQGNVFSCS VMHEALHNHY TQKSLSLSPG K

Sequência alternada codificando uma proteína de fusão de IgG RAGE-Fc de quatro domínios

FIG. 19

SEQ ID NO: 57

PENITARI GEPLVLKCKG APKKPPQRL E WKINTGRTEA WKVLSPQGGG
 PWDSVARVLP NGSLEFLPAVG IQDEGIFRCQ AMNRNGKETK SNYRVRVYQI
 PGKPEIVDSA SELTAGPSVF LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVDVSHEDP
 EVKFNWYVDG VEVHNAKTKP REEQYNSTYR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC
 KVSNAKALPAP IEKTISKAKG QPREPQVYTL PPSRDELTKN QVSLTCLVKG
 FYPSDIAVEW ESNGQPENNY KTTTPVLDSD GSFFLYSKLT VDKSRWQQGN
 VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPGK

Sequências alternadas codificando uma proteína de fusão de IgG RAGE-Fc de três domínios

FIG. 20

Efeitos de TTP4000 na Rejeição de Aloenxertos de Ilhotas (BALB/c em B6)

Gráfico de Sobrevivência Cum. de Kaplan-Meier por Dia de falha

Censor Variável: Censor

Agrupamento Variável: Grupo

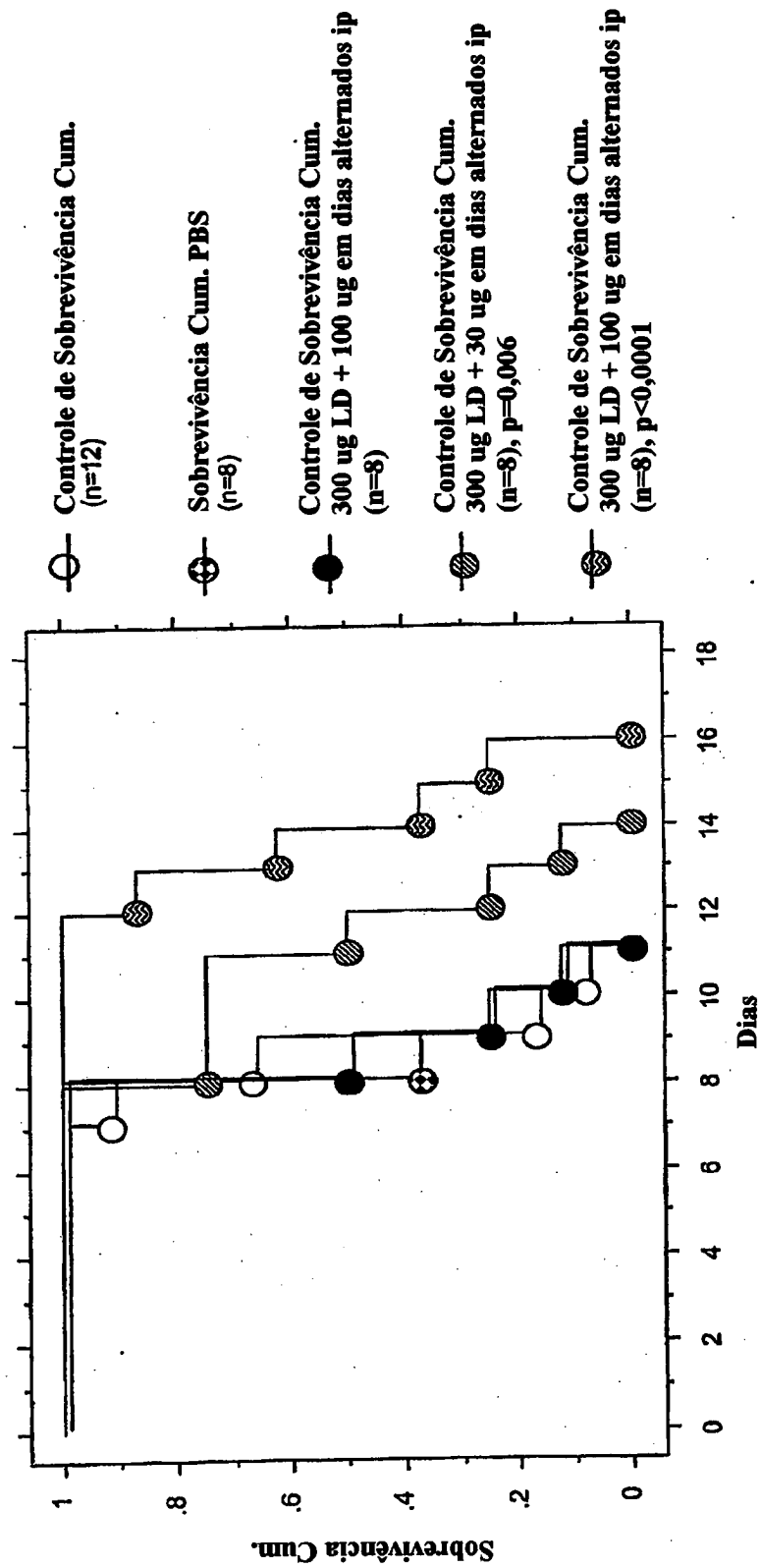


FIG. 21

Efeitos do Tratamento de TTP-4000 em Diabetes Recorrente em Ilhotas Transplantadas em Camundongos Diabéticos NOD

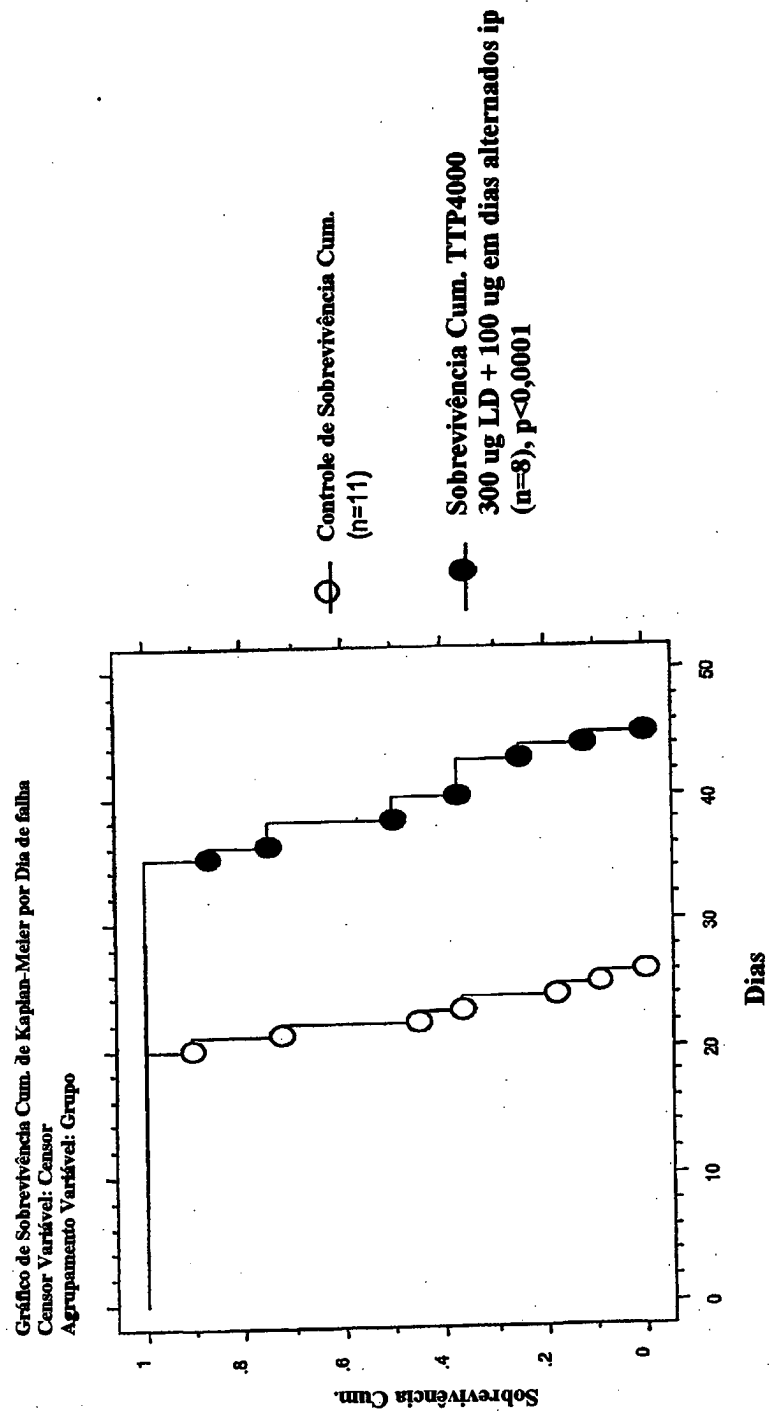


FIG. 22

RESUMO

"PROTEÍNAS DE FUSÃO DO RAGE E MÉTODOS DE USO"

Divulgadas são proteínas de fusão do RAGE compreendendo seqüências de polipeptídeo do RAGE ligadas a um segundo polipeptídeo não RAGE. A proteína de fusão do RAGE pode utilizar um domínio de polipeptídeo do RAGE compreendendo um sítio de ligação do ligante do RAGE e um ligador de interdomínio diretamente ligado a um domínio C_H2 da imunoglobulina. Tais proteínas de fusão podem fornecer afinidade de ligação alta e específica aos ligantes do RAGE. Também divulgado é o uso das proteínas de fusão do RAGE como terapêutico para patologias mediadas por RAGE.