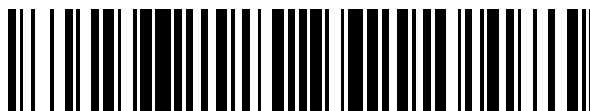


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 447 516**

51 Int. Cl.:

A61K 9/00 (2006.01)

A61K 9/14 (2006.01)

A61K 38/00 (2006.01)

A61K 38/18 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.12.2007 E 07863119 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.11.2013 EP 2120859**

54 Título: **Formulaciones de liberación sostenida que comprenden cristales BMP-7**

30 Prioridad:

21.12.2006 US 876292 P

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

12.03.2014

73 Titular/es:

**STRYKER CORPORATION (100.0%)
2725 FAIRFIELD ROAD
KALAMAZOO, MICHIGAN 49005, US**

72 Inventor/es:

JAWOROWICZ, WARREN

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 447 516 T3

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

DESCRIPCIÓN

Formulaciones de liberación sostenida que comprenden cristales BMP-7

Campo técnico

5 La invención se refiere en general a composiciones que comprenden un cristal de BMP-7 para su uso en un método de implantación en el espacio inter-articular de una articulación.

Antecedentes

10 Las proteínas morfogenéticas del hueso (BMP) pertenecen a la superfamilia del factor de crecimiento transformante β (TGF- β), y controlan un grupo diverso de procesos celulares y evolutivos, tales como la formación de patrones y la especificación de tejidos, así como la promoción de la cicatrización de heridas y los procesos de reparación en tejidos adultos. Las BMP se aislaron inicialmente por su capacidad para inducir la formación de hueso y cartilago. La señalización de las BMP es inducible tras la fractura ósea y lesiones de tejidos afines, dando lugar a la regeneración y la reparación ósea.

15 Hasta la fecha, los expertos en la técnica no han encontrado un medio fiable para la liberación de una dosis clínicamente eficaz una BMP durante un período prolongado de tiempo, sin la administración repetida de la BMP. De hecho, la liberación sostenida de BA proteínico en general sigue siendo un desafío sin respuesta. Por otra parte, a pesar de los avances en las tecnologías de proteínas y la química farmacéutica, al menos dos problemas siguen afectando a los médicos que necesitan proporcionar niveles sostenidos de factores fisiológicos clave a los pacientes.

20 En primer lugar, la mayoría de los agentes terapéuticos se administran por vía oral. Sin embargo, la administración oral y otros métodos de liberación de fármacos convencionales a menudo no son apropiadas para los fármacos macromoleculares, ya que muchos de ellos son inestables en el torrente sanguíneo y/o en el tracto gastrointestinal, son tóxicos en altas dosis o tienen un estrecho intervalo de concentración terapéuticamente eficaz (ventana terapéutica). Esto se complica adicionalmente en el caso de las enfermedades condrales u osteocondrales y/o las enfermedades o lesiones de las articulaciones ya que tales tejidos se encuentran escasamente vascularizados y no son susceptibles de tratamiento utilizando algunos modos rutinarios de administración sistémica. Adicionalmente, las proteínas terapéuticas, por ejemplo, se administran típicamente mediante inyección frecuente debido a que las proteínas tienen generalmente vidas medias cortas *in vivo* y/o una biodisponibilidad oral casi inexistente. Esto supone una carga física importante en el paciente y genera costes administrativos significativos relacionados con el tratamiento del paciente. Para proporcionar una mayor eficacia, seguridad, conveniencia para el paciente y la conformidad del paciente, se ha dedicado mucho esfuerzo para desarrollar y evaluar formulaciones de liberación sostenida mejoradas de proteínas y otros fármacos macromoleculares. Como mínimo, sería deseable una modalidad de liberación sostenida que permita la liberación local sostenida a través de una sola administración.

35 En segundo lugar, las formulaciones que evitan la necesidad de preparar el ingrediente activo con un portador, vehículo, u otros agentes inactivos eliminan una gran parte de la complejidad inherente a la fabricación de una forma de dosificación. Otros beneficios de tales formas de dosificación comparativamente simples incluyen costes de fabricación más bajos, así como el potencial de mayores rendimientos activos. De este modo, una modalidad que no requiere portadores, vehículos, u otros agentes inactivos proporcionaría al experto en la técnica métodos alternativos preferibles para la administración de agentes biológicamente activos de manera sistémica o local.

40 Por lo tanto, existe una necesidad de formulaciones de liberación sostenida adicionales adecuadas para la administración de agentes biológicamente activos, especialmente macromoléculas tales como BMP y otros productos biológicos o fármacos macromoleculares proteínicos.

Luginbuehl et al. (2004) European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 58: 197-208 describen la cristalización de factores de crecimiento en general, y específicamente de TGF-beta3, para los fines de liberación sostenida.

45 Compendio de la invención

De acuerdo con la presente invención, se proporciona una composición que comprende un cristal de BMP-7 para su uso en un método de implantación en el espacio inter-articular de una articulación, en la que dicha BMP-7 se libera en una forma de liberación sostenida para mejorar una lesión o enfermedad de la articulación.

Otros aspectos de la invención son los especificados en las reivindicaciones 2-8.

50 Lo anterior y otras características y ventajas de la invención, así como la propia invención, se comprenderán más plenamente a partir de las siguientes figuras, descripción y reivindicaciones.

Breve descripción de las figuras

La Figura 1 comprende fotografías a las 1, 5, 22, y 96 horas (de izquierda a derecha) de un cristal de BMP-7 transferido a ácido acético 50 mM (pH 4) a temperatura ambiente.

5 La Figura 2 comprende fotografías a las 1, 5, 22, y 96 horas (de izquierda a derecha) de un cristal de BMP-7 transferido a solución salina tamponada con fosfato (PBS) a temperatura ambiente.

La Figura 3 comprende fotografías a las 1, 5, 22 y 96 horas (de izquierda a derecha) de un cristal de BMP-7 transferido a líquido sinovial bovino a temperatura ambiente.

La Figura 4 comprende una fotografía de un gel con alta concentración de proteína de BMP-7 inmediatamente después de su producción mediante concentración centrífuga en ácido acético 50 mM.

10 La Figura 5 comprende una fotografía de un gel con alta concentración de proteína de BMP-7 después de 24 horas de balanceo en ácido acético 50 mM a 37 grados Celsius.

Descripción detallada

15 La presente invención se basa en el descubrimiento de que la BMP-7, se puede formular para proporcionar una composición de liberación sostenida que tiene efectos de alivio y de restauración sobre cartilago lesionado, enfermo o dañado sin una respuesta inflamatoria o irritante asociada en el lugar de la administración intra-articular o intrameniscal. La BMP-7 pertenece a la superfamilia de TGF- β . Las proteínas de la superfamilia de TGF- β son citoquinas que se caracterizan por seis residuos de cisteína conservados). El genoma humano contiene aproximadamente 42 marcos de lectura abiertos que codifican proteínas de la superfamilia de TGF- β . Las proteínas de la superfamilia de TGF- β se pueden dividir al menos en la subfamilia BMP y la subfamilia TGF- β basándose en la similitud de secuencia y en las rutas de señalización específica que activan. La subfamilia BMP incluye, pero no se limita a, BMP-2, BMP-3 (osteogenina), BMP-3b (GDF-10), BMP-4 (BMP-2B), BMP-5, BMP-6, BMP-7 (proteína osteogénica-1 u OP-1), BMP-8 (OP-2), BMP-8B (OP-3), BMP-9 (GDF-2), BMP-10, BMP-11 (GDF-11), BMP-12 (GDF-7), BMP-13 (GDF-6, CDMP-2), BMP-15 (GDF-9), BMP-16, GDF-1, GDF-3, GDF-5 (CDMP-1, MP-52), y GDF-8 (miostatina). Las BMP también están presentes en otras especies animales. Además, existe una variación alélica en las secuencias de BMP entre los diferentes miembros de la población humana, y existe una variación de especie entre las BMP descubiertas y caracterizadas hasta la fecha. Según se utiliza en la presente memoria, "subfamilia BMP," "BMP," "ligandos de BMP" y sus equivalentes gramaticales se refieren a miembros de la subfamilia BMP, a menos que se indique específicamente lo contrario.

20 La subfamilia de TGF- β incluye, pero no se limita a, TGF (p. ej., TGF- β 1, TGF- β 2, y TGF- β 3), activinas (p. ej., activina A) e inhibinas, citoquina-1 inhibidora de macrófagos de (MIC-1), sustancia inhibidora Mulleriana, hormona anti-Mulleriana, y factor neurotrófico derivado de la línea celular glial (GDNF). Según se utiliza en la presente memoria, "subfamilia de TGF- β ," "TGF- β ," "ligandos de TGF- β " y sus equivalentes gramaticales se refieren a los miembros de la subfamilia de TGF- β , a menos que se indique específicamente lo contrario.

25 La superfamilia de TGF- β es a su vez un subconjunto de la superfamilia de citoquinas nudo de cisteína. Los miembros adicionales de la superfamilia de citoquinas nudo de cisteína incluyen, pero no se limitan a, factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), factor de crecimiento placentario (PIGF), nogina, neurotrofinas (BDNF, NT3, NT4, y β NGF), gonadotropina, folitropina, lutropina, interleucina-17, y coagulogéno.

30 Las publicaciones que describen estas secuencias, así como sus propiedades químicas y físicas, incluyen: BMP-7 y OP-2 (Patente de los Estados Unidos Núm. 5.011.691; Patente de los Estados Unidos Núm. 5.266.683; Ozkaynak et al., EMBO J., 9, págs. 2085-2093 (1990); OP-3 (documento WO 94/10203 (PCT US93/10520)), BMP-2, BMP-4, (documento WO 88/00205; Wozney et al. Science, 242, págs. 1528-1534 (1988)), BMP-5 y BMP-6, (Celeste et al., PNAS, 87, 9843-9847 (1990)), Vgr-1 (Lyons et al., PNAS, 86, págs. 4554-4558 (1989)); DPP (Padgett et al. Nature, 325, págs. 81-84 (1987)); Vg-1 (Weeks, Cell, 51, págs. 861-867 (1987)); BMP-9 (documento WO 95/33830 (PCT/US95/07084); BMP-10 (documento WO 94/26893 (PCT/US94/05290); BMP-11 (documento WO 94/26892 (PCT/US94/05288); BMP-12 (documento WO 95/16035 (PCT/US94/14030); BMP-13 (documento WO 95/16035 (PCT/US94/14030); GDF-1 (documento WO 92/00382 (PCT/US91/04096) y Lee et al. PNAS, 88, págs. 4250-4254 (1991); GDF-8 (documento WO 94/21681 (PCT/US94/03019), GDF-9 (documento WO 94/15966 (PCT/US94/00685); GDF-10 (documento WO 95/10539 (PCT/US94/11440); GDF-11 (documento WO 96/01845 (PCT/US95/08543); BMP-15 (documento WO 96/36710 (PCT/US96/06540); MP-121 (documento WO 96/01316 (PCT/EP95/02552); GDF-5 (CDMP-1, MP52) (documento WO 94/15949 (PCT/US94/00657) y documento WO96/14335 (PCT/US94/12814) y documento WO93/16099 (PCT/EP93/00350)); GDF-6 (CDMP-2, BMP13) (documento WO 95/01801 (PCT/US94/07762) y documento WO96/14335 y documento WO95/10635 (PCT/US94/14030)); GDF-7 (CDMP-3, BMP12) (documento WO 95/10802 (PCT/US94/07799) y documento WO95/10635 (PCT/US94/14030)).

35 Las publicaciones anteriores se incorporan a la presente memoria como referencia.

Según se utiliza en la presente memoria, "miembro de la superfamilia de TGF- β " o "proteína de la superfamilia de TGF- β ," significa una proteína conocida por los expertos normales en la técnica como miembro de la

superfamilia del Factor de Crecimiento Transformante β (TGF- β). Estructuralmente, tales proteínas son homo- o heterodímeros expresados en forma de cadenas precursoras polipeptídicas grandes que contiene una secuencia señal hidrófoba, una región pro N-terminal de varios cientos de aminoácidos, y un dominio maduro que comprende una región N-terminal variable y una región C-terminal altamente conservada que contiene aproximadamente 100 aminoácidos con un motivo de cisteína característico que tiene un esqueleto de seis o siete de cisteínas conservadas. Estas proteínas estructuralmente relacionadas han sido identificadas por estar implicadas en una variedad de eventos evolutivos.

El término "proteína morfogénica" se refiere a una proteína que pertenece a la superfamilia de proteínas de TGF- β que tiene verdadera actividad morfogénica. Por ejemplo, semejante proteína tal es capaz de inducir la proliferación de células progenitoras y/o el comienzo de una cascada de eventos en una ruta de diferenciación que conduce a la formación de cartílago, hueso, tendón, ligamento, nervios u otros tipos de tejidos diferenciados, dependiendo en indicaciones ambientales locales. De este modo, las proteínas morfogenéticas pueden comportarse de manera diferente en diferentes entornos.

El término "proteína osteogénica (OP)" se refiere a una proteína morfogénica que también es capaz de inducir una célula progenitora para que forme cartílago y/o hueso. El hueso puede ser hueso intramembranoso o hueso endocondral. La mayor parte de las proteínas osteogénicas son miembros de la subfamilia de BMP y son por lo tanto también BMP. Sin embargo, lo contrario puede no verificarse. De acuerdo con esta invención, una BMP identificada por homología de secuencia de ADN o identidad de secuencia de aminoácidos también debe tener una actividad osteogénica o condrogénica demostrable en un bioanálisis funcional para que sea una proteína osteogénica. Los bioanálisis apropiados son bien conocidos en la técnica; un bioanálisis particularmente útil es el análisis de formación de hueso heterotópico (véanse, la Patente de los Estados Unidos Núm. 5.011.691; la Patente de los Estados Unidos Núm. 5.266.683, por ejemplo).

Estructuralmente, las BMP son proteínas de nudo de cisteína diméricas. Cada monómero de BMP comprende múltiples enlaces disulfuro intramoleculares. Un enlace disulfuro intermolecular adicional media la dimerización en la mayoría de las BMP. Las BMP pueden formar homodímeros. Algunas BMP pueden formar heterodímeros. Las BMP son expresadas como pro-proteínas que comprenden un prodominio largo, uno o más sitios de escisión, y un dominio maduro. Se cree que el pro-dominio ayuda al correcto plegamiento y procesamiento de las BMP. Además, en algunas pero no todas las BMP, el pro-dominio se puede unir de forma no covalente al dominio maduro y puede actuar como inhibidor (p. ej., Thies et al. (2001) *Growth Factors*, 18:251-259).

Las BMP son expresadas naturalmente como pro-proteínas que comprenden un prodominio largo, uno o más sitios de escisión, y un dominio maduro. Esta pro-proteína es procesada a continuación por la maquinaria celular para producir una molécula de BMP dimérica madura. Se cree que el pro-dominio ayuda al correcto plegamiento y procesamiento de las BMP. Además, en algunas pero no todas las BMP, el pro-dominio se puede unir de forma no covalente al dominio maduro y puede actuar como una chaperona, y también como un inhibidor (p. ej., Thies et al. (2001) *Growth Factors*, 18:251-259).

La transducción de señales de BMP se inicia cuando un dímero BMP une a receptores de serina/treonina quinasa, dos de tipo I y dos de tipo II. Los receptores de tipo I incluyen, pero no se limitan a, ALK-1, ALK-2 (también denominados ActRIa o ActRI), ALK-3 (también denominado BMPRIa), y ALK-6 (también denominados BMPRIb). Los receptores de tipo II incluyen, pero no se limitan a, ActRIIA (también denominado ActRII), ActRIIB, y BMPRII. El genoma humano contiene 12 miembros de la familia de serina/treonina quinasa receptoras, que incluyen 7 receptores de tipo I y 5 de tipo II, todos los cuales están involucrados en la señalización de TGF- β (Manning et al., 2002, cuyas descripciones se incorporan a la presente como referencia). Después de la unión de BMP, los receptores de tipo II fosforilan los receptores tipo I, la receptores de tipo I fosforilan miembros de la familia Smad de factores de transcripción, y los Smad se trasladan al núcleo y activan la expresión de varios genes.

Las BMP también interactúan con inhibidores, receptores solubles, y receptores señuelo, incluyendo, pero no limitados a, BAMBI (inhibidor unido a membrana de BMP y activina), BMPER (regulador derivado del precursor de células endoteliales de unión a BMP), Cerberus, cordina, de tipo cordina, Dan, Dante, folistatina, proteína relacionada con folistatina (FSRP), ectodina, gremlina, nogina, proteína relacionada con Dan y cerberus (PRDC), esclerostina, de tipo esclerostina, y gen-1 asociado con la sensibilización uterina (USAG-1). Por otra parte, las BMP pueden interactuar con co-receptores, por ejemplo BMP-2 y BMP-4 se unen al co-receptor DRAGON (Samad et al. (2005) *J. Biol. Chem.*), y componentes de la matriz extracelular tales como el sulfato de heparina y la heparina (Irie et al. (2003) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 308: 858-865).

Según se contempla en la presente memoria, el término "BMP" se refiere a una proteína que pertenece a la subfamilia de BMP de la superfamilia de proteínas de TGF- β definidas en base a la homología del ADN y a la identidad de secuencia de aminoácidos. Una proteína pertenece a la subfamilia de BMP cuando tiene al menos 50% de identidad de secuencia de aminoácidos con un miembro conocido de la subfamilia de BMP dentro del dominio rico en cisteína C-terminal conservado que caracteriza a la subfamilia de BMP. Los miembros de la subfamilia de BMP pueden tener menos de 50% de identidad de secuencia total de ADN o aminoácidos. Según se utiliza en la presente memoria, el término "BMP" se refiere adicionalmente a proteínas que son variantes de secuencia de aminoácidos, variantes de intercambiado de dominio, y truncamientos y fragmentos activos de proteínas

morfogenéticas óseas de origen natural, así como proteínas heterodiméricas formadas a partir de dos péptidos de BMP monoméricos diferentes, tales como heterodímeros BMP-2/7; BMP-4/7; BMP-2/6; BMP-2/5; BMP-4/7; BMP-4/5; y BMP-4/6. Las variantes y heterodímeros de BMP adecuados incluyen aquellos mostrados en los documentos US 2006/0235204; WO 07/087053; WO 05/097825; WO 00/020607; WO 00/020591; WO 00/020449; WO 05/113585; WO 95/016034 y WO93/009229.

En el caso de los trastornos esqueléticos, diversos factores puede causar o contribuir a la degeneración del cartílago en mamíferos, incluyendo trauma y enfermedad inflamatoria. El daño a las células resultantes de los efectos de la respuesta inflamatoria ha sido implicado como la causa de la reducción de la función del cartílago o la pérdida de la función del cartílago en enfermedades de las articulaciones (p. ej., la artritis reumatoide (AR) y osteoartritis (OA)). Además, las enfermedades autoinmunitarias tales como lupus eritematoso sistémico (LEG) y la esclerodermia también pueden ser caracterizadas por una degradación del tejido conectivo. En el caso de algunas enfermedades degenerativas del cartílago tales como la osteoartritis (OA), los mecanismos que convierten el envejecimiento normal del cartílago articular en el proceso patológico de la OA son desconocidos en la actualidad. Cada una de las enfermedades anteriores puede tratarse eficazmente de acuerdo con la presente invención.

En una realización preferida, la invención se puede utilizar para tratar una enfermedad o lesión que da como resultado la degradación del cartílago o un defecto en el cartílago. Por ejemplo, las formulaciones se pueden aplicar a un sitio con defecto de cartílago, tal como un disco intervertebral degenerativo, u otro tejido fibrocartilaginoso, incluyendo un tendón, un ligamento o un menisco. Tales métodos se exponen en la Patente de los Estados Unidos Núm. 6.958.149. Las formulaciones de la invención también se pueden utilizar para tratar un defecto o degeneración de cartílago articular, como se establece en la solicitud PCT publicada WO 05/115438, tal como el revestimiento del cartílago de una articulación, tal como una articulación sinovial, incluyendo una rodilla, un codo, una cadera, o un hombro. En esta realización, la formulación se inyecta preferiblemente en el espacio sinovial de la articulación. En otra realización, las formulaciones de la invención se utilizan para tratar un sitio con defecto de cartílago articular, tal como un defecto condral o un defecto osteocondral, en una articulación. Tales defectos del cartílago articular pueden ser el resultado de un proceso de enfermedad, tal como la osteoartritis o la artritis reumatoide, o estar debidos a una lesión de la articulación.

Formulación y Administración

La BMP-7 de la presente invención se puede formular para la administración a un mamífero, preferiblemente un ser humano, que lo necesite como parte de una composición farmacéutica. La composición se puede administrar por medios que incluyen, pero no están limitados a, inyección directa o infusión del cristal mediante una jeringa. Adicionalmente, el cristal se puede introducir en el tejido mediante métodos que incluyen, pero no están limitados a, implantación quirúrgica directa, endoscopia, cateterismo, o lavado. Si se aplica durante la cirugía, la composición se puede hacer fluir sobre el tejido, pulverizar sobre el tejido, pintar sobre el tejido, o cualquier otro medio dentro del conocimiento práctico de la técnica.

En una realización preferida, la composición se aplica, administra, inyecta, implanta o utiliza en un sitio de tejido no vascularizado. Según se utiliza en la presente memoria, "no vascularizado" se refiere a un tejido o sitio de tejido en el que la vascularización es mínima o está ausente. Tales sitios de tejido no vascularizado incluyen, pero no se limitan a, las articulaciones, preferiblemente el espacio inter-articular, preferiblemente el menisco.

La composición se puede administrar en o con un portador apropiado o un agente volumétrico que incluye, pero no se limita a, un aceite biocompatible tal como aceite de sésamo, ácido hialurónico, ciclodextrinas, lactosa, rafinosa, manitol, carboximetilcelulosa, geles termo- o quimiosensibles, isobutirato de acetato de sacarosa. El experto en la técnica entendería que el agente volumétrico o el portador más susceptibles a la práctica de la presente invención facilitarían la liberación de las formas de dosificación condensadas de la composición en donde los volúmenes de dosificación incluyen, pero no se limitan a, volúmenes de 20 µl o menos. Los medios de suspensión o volumétricos, basados en agua o en aceite, que son óptimas para su uso con las microemulsiones o emulsiones, así como los medios volumétricos/de suspensión óptimas para el mantenimiento de los cristales también pueden ser fácilmente concebidos por el experto en la técnica. En una realización particularmente preferida de la presente invención, se puede utilizar un agente volumétrico junto con una composición de la presente invención que sea sustancialmente insoluble a pH fisiológico, para aumentar la disolución del cristal de tal manera que el agente volumétrico actúe clásicamente como una barrera a la liberación de la BMP-7. Está dentro del alcance de la técnica poner en práctica las realizaciones mencionadas anteriormente de la presente invención, así como cualquiera y todas las variantes y modificaciones de la presente invención que el experto en la técnica reconozca que proporcionan una liberación post-dosificación eficaz, sostenida del depósito de BMP-7 *in vivo*.

Aún más, los cristales sólidos, cristales líquidos, de BMP-7 de la presente invención se pueden administrar al mamífero que lo necesite, ya sea solos o combinados con otra sustancia conocida para tener un efecto beneficioso sobre la morfogénesis de tejidos. Los ejemplos de tales sustancias (en la presente memoria, cofactores) incluyen, sin limitación sustancias que promueven la reparación y la regeneración de tejidos y/o inhiben la inflamación. Los ejemplos de los cofactores útiles para estimular el crecimiento de tejido óseo en individuos con osteoporosis, por ejemplo, incluyen, pero no se limitan a, vitamina D₃, calcitonina, prostaglandinas, hormona paratiroidea, dexametasona, estrógeno e IGF-I o IGF-II. Los cofactores útiles para la reparación y la regeneración

del tejido nervioso pueden incluir, pero se limitan, factores de crecimiento nervioso. Otros cofactores útiles incluyen cofactores de alivio de síntomas, incluyendo, pero no limitados a, antisépticos, antibióticos, agentes antivirales y antifúngicos, analgésicos y anestésicos.

5 Como apreciarán los expertos en la técnica, la concentración de los compuestos descritos en una composición terapéutica variará dependiendo de diversos factores, incluyendo, sin limitación, la dosificación del fármaco que se vaya a administrar, las características químicas (por ejemplo, hidrofobia) de los compuestos empleados, y la ruta de administración. También es probable que la dosificación preferida del fármaco que se va a administrar dependa de variables que incluyan, pero no limitadas a, el tipo y el grado de una enfermedad, la pérdida o defecto del tejido, el estado de salud general del paciente concreto, la eficacia biológica relativa del compuesto seleccionado, la formulación del compuesto, la presencia y tipos de excipientes en la formulación, y la ruta de administración. Se pueden proporcionar a un individuo moléculas terapéuticas de la presente invención en donde las dosis típicas oscilan de aproximadamente 10 ng/kg a aproximadamente 1 g/kg de peso corporal por día; prefiriéndose un intervalo de dosificación preferido de aproximadamente 0,1 mg/kg a 100 mg/kg de peso corporal, y con un intervalo de dosificación más particularmente preferido de 10-1.000 µg/dosis. En una realización particularmente preferida, una dosis de 10-1000 µg de un cristal, gel, o suspensión particulada de BMP-7 se administra a un individuo aquejado de osteoartritis. El médico experto apreciará que las dosis eficaces de la presente invención se pueden modificar a la luz de numerosos factores, incluyendo, pero no limitados a, la indicación, la patología de la enfermedad, y las características físicas del individuo. También se encuentra claramente dentro del conocimiento práctico de la técnica la variación, modificación u optimización de las dosis a la vista de cualquiera o todos los factores anteriormente mencionados.

Con arreglo a los parámetros y condiciones de la invención, se puede controlar la liberación de BMP-7. En particular, la velocidad y el grado de liberación de la BMP-7 a partir de un implante, artículo implantable, dispositivo y similar de acuerdo con la invención se puede controlar por medio de la variación del tipo y el peso molecular del polímero, el uso de un agente modificador de la velocidad, el uso de plastificantes y agentes lixiviables y las concentraciones y clases de polímero termoplástico y BMP-7.

Se pueden incluir agentes modificadores de la velocidad, plastificantes y agentes lixiviables para manejar la velocidad de liberación de BMP-7 y la flexibilidad de una matriz en la que ésta está contenida opcionalmente. El agente de modificación de la velocidad puede aumentar o retardar la velocidad de liberación dependiendo de la naturaleza del agente de modificador de la velocidad incorporado a la matriz. Los plastificantes conocidos, así como los compuestos orgánicos que son adecuados para la pseudounión secundaria en sistemas de polímeros son aceptables como agentes modificadores de la velocidad y también como agentes modificadores de la flexibilidad y de lixiviación. Generalmente, estos agentes son los ésteres de ácidos mono-, di- y tricarbóxicos, dioles y polioles, poliéteres, tensioactivos no iónicos, ácidos grasos, ésteres de ácidos grasos, aceites tales como aceites vegetales, y similares. Las concentraciones de tales agentes dentro de la matriz pueden variar en cantidad hasta 60% en peso con respecto al peso total de la matriz, preferiblemente hasta 30% en peso y más preferiblemente hasta 15% en peso. Generalmente, estos agentes de modificación de la velocidad, agentes de lixiviación, plastificantes y modificadores de la flexibilidad y su aplicación se describen en las Patentes de los Estados Unidos Núms. 5.702.716 y 5.447.725, cuyas descripciones se incorporan a la presente memoria como referencia con la condición de que los polímeros que se vayan a utilizar sean biocompatibles y/o biodegradables. El experto en la técnica apreciará que la presente invención comprende todos y cada uno de los agentes de la técnica que aumentan la velocidad de solubilización de la BMP-7 o la velocidad de degradación o la velocidad de erosión de cualquier tipo de portador para la BMP-7. Por lo tanto, otros agentes susceptibles a la práctica de la presente invención incluyen, pero no se limitan a, agentes modificadores del pH y modificadores de la tonicidad co-localizados. En una realización particularmente preferida, la composición de la presente invención comprende un agente modificador del pH o un modificador de la tonicidad co-localizados proporcionados a una concentración o cantidad que aumenta sustancialmente la velocidad de solubilización de la BMP-7. En otra realización preferida, la composición de la presente invención comprende un agente modificador del pH o un modificador de la tonicidad co-localizados proporcionados a una concentración o cantidad que aumenta sustancialmente la velocidad de degradación o la velocidad de erosión del portador. El experto en la técnica apreciará que los agentes modificadores de la velocidad, los agentes de lixiviación, los plastificantes, los modificadores de la flexibilidad, los agentes modificadores del pH, y los modificadores de la tonicidad de la presente invención se pueden sustituir, modificar, alterar en la naturaleza o la concentración, y optimizar a la vista de numerosos factores, incluyendo, pero no limitados a, la velocidad de liberación deseada, la naturaleza del portador (si lo hubiera), la indicación, la patología de la enfermedad, y las características físicas del individuo.

La disolución controlada del cristal de proteína sólido o líquido, la formulación del cristal, o la liberación del componente de cualquiera de las formulaciones se puede controlar por medio de numerosos factores, incluyendo, pero no limitados a, el área de superficie del cristal, partícula, o gel, el tamaño de dicho cristal, partícula, o gel; la forma de dicho cristal, partícula o gel; la concentración de cualquier componente excipiente; el número y la naturaleza de cualquiera de los componentes excipientes, el peso molecular de cualquiera de los componentes excipientes; y cualquier combinación de los anteriormente mencionados.

El disolvente orgánico, agua, o cualquier otro fluido se pueden retirar del cristal mediante cualquier medio, incluyendo, pero no limitado a, secado con nitrógeno, aire o gases inertes; secado en horno de vacío; liofilización;

lavado con un disolvente orgánico volátil, seguido por evaporación; evaporación en una campana de humos; paso una corriente de gas sobre los cristales húmedos, siendo el gas nitrógeno, un gas noble, dióxido de carbono, aire, o combinaciones de los mismos; o intercambio en un disolvente biocompatible o sistema de base acuosa para el almacenamiento y la liberación.

5 Las formulaciones de cristales de acuerdo con la invención pueden incluir una combinación del cristal y uno o más ingredientes o excipientes, incluyendo azúcares y polímeros biocompatibles. Los ejemplos de los excipientes se describen en The Handbook of Pharmaceutical Excipients, publicado conjuntamente por The American Pharmaceutical Association y The Pharmaceutical Association of Great Britain. Para los fines de esta solicitud, "formulaciones" incluyen "formulaciones de cristal". Además, "formulaciones" son "formulaciones de cristales de
10 proteínas", "formulaciones de gel de proteínas" y "formulaciones de suspensión de proteínas."

Según se utiliza en la presente memoria "cantidad farmacéuticamente eficaz" significa una cantidad de un cristal de BMP-7, que es eficaz para tratar una afección en un organismo vivo al que se administra a lo largo de un período de tiempo.

Los excipientes que se pueden emplear en la fabricación y uso de las formulaciones y composiciones
15 farmacéuticas de la presente invención incluyen, pero no se limitan a; agentes acidulantes, tales como, ácido acético, ácido acético glacial, ácido cítrico, ácido fumárico, ácido clorhídrico, ácido clorhídrico diluido, ácido málico, ácido nítrico, ácido fosfórico, ácido fosfórico diluido, ácido sulfúrico, ácido tartárico; desnaturalizantes de alcoholes, tales como, benzoato de denatonio, metilisobutilcetona, octacetato de sacarosa; agentes alcalinizantes, tales como, solución amoniaca fuerte, amonio de carbonato, dietanolamina, diisopropanolamina, hidróxido de potasio,
20 bicarbonato de sodio, borato de sodio, carbonato de sodio, hidróxido de sodio, trolamina; agentes antiespumantes, tales como, dimeticona, simeticona; conservantes antimicrobianos, tales como, cloruro de benzalconio, solución de cloruro de benzalconio, cloruro de benzetonio, benzoico ácido, alcohol bencílico, butilparabeno, cloruro de cetilpiridinio, clorobutanol, clorocresol, cresol, ácido deshidroacético, etilparabeno, metilparabeno, metilparabeno sódico, fenol, alcohol feniletílico, acetato fenilmercúrico, nitrato fenilmercúrico, benzoato de potasio, sorbato de potasio, propilparabeno, propilparabeno sódico, benzoato de sodio, deshidroacetato de sodio, propionato de sodio,
25 ácido sórbico, timerosal, timol; antioxidantes, tales como, ácido ascórbico, palmitato de ascorbilo, hidroxianisol butilado, hidroxitolueno butilado, ácido hipofosforoso, monotioglicerol, galato de propilo, formaldehído sulfoxilato de sodio, metabisulfato de sodio, tiosulfato de sodio, dióxido de azufre, tocoferol, excipientes de tocoferoles; agentes tamponadores, tales como, ácido acético, carbonato de amonio, fosfato de amonio, ácido bórico, ácido cítrico, ácido láctico, ácido fosfórico, citrato de potasio, metafosfato de potasio, fosfato monobásico de potasio, acetato de sodio, citrato de sodio, solución de lactato de sodio, fosfato de sodio dibásico, fosfato de sodio monobásico; agentes quelantes, tales como, edetato disódico, ácido etilendiaminotetraacético y sales, ácido edético; agentes de recubrimiento, tales como, carboximetilcelulosa de sodio, acetato de celulosa, ftalato de acetato de celulosa, etilcelulosa, gelatina, barniz farmacéutico; hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, ftalato de
35 hidroxipropilmetilcelulosa, copolímero de ácido metacrílico, metilcelulosa, polietilenglicol, poli(acetato ftalato de vinilo), goma laca, sacarosa, dióxido de titanio, cera de carnauba, cera microcristalina, zeína; colores, tales como, caramelo, óxido férrico rojo, amarillo, negro, o mezclas; agentes complejantes, tales como, ácido etilendiaminotetraacético y sales (EDTA), ácido edético, ácido gentísico, etanolamida, sulfato de oxiquinolina; desecantes, tales como, cloruro de calcio, sulfato de calcio, dióxido de silicio; agentes emulsionantes y/o solubilizantes, tales como, acacia, colesterol, dietanolamina (complemento), monoestearato de glicerilo, alcoholes de lanolina, lecitina, mono- y di-glicéridos, monoetanolamina (complemento), ácido oleico (complemento), alcohol oleílico (estabilizador), poloxámero, estearato de polioxietileno 50, aceite de ricino polioxilado 35, aceite de ricino
40 hidrogenado polioxilado 40, éter polioxil 10 oleílico, éter polioxil 20 cetoestearílico, polioxil 40 estearato, polisorbato 20, polisorbato 40, polisorbato 60, polisorbato 80, diacetato de propilenglicol, monoestearato de propilenglicol, laurilsulfato de sodio, estearato de sodio, monolaurato de sorbitán, monooleato de sorbitan, monopalmitato de sorbitán, monoestearato de sorbitán, ácido esteárico, trolamina, cera emulsionante; coadyuvantes de filtración, tales como, celulosa en polvo, tierra silícea purificada; agentes de deslizamiento y/o agentes antiapelmazantes, tales como, silicato de calcio, silicato de magnesio, dióxido de silicio coloidal, talco; humectantes, tales como, glicerina, hexilenglicol, propilenglicol, sorbitol; plastificantes, tales como, aceite de ricino, monoglicéridos diacetilados, ftalato de dietilo, glicerina, monoglicéridos mono- y di-acetilados, polietilenglicol, propilenglicol, triacetina, citrato de trietilo; membranas de polímero, tales como, acetato de celulosa; disolventes, tales como, acetona, ácido acético, alcohol, alcohol diluido, hidrato de amileno, benzoato de bencilo, alcohol butílico, tetracloruro de carbono, cloroformo, aceite de maíz, aceite de semilla de algodón, acetato de etilo, glicerina, hexilenglicol, alcohol isopropílico, alcohol metílico, cloruro de metileno, metilisobutilcetona, aceite mineral, aceite de cacahuete, polietilenglicol, carbonato de propileno,
55 propilenglicol, aceite de sésamo, agua para inyectables, agua estéril para inyectables, agua estéril para irrigación, agua purificada; sorbentes, tales como, celulosa en polvo, carbón de leña, tierra silícea purificada, y absorbentes de dióxido de carbono; agentes de refuerzo, tales como, aceite de ricino hidrogenado, alcohol cetoestearílico, alcohol cetílico, cera de ésteres de cetilo, grasa dura, parafina, excipiente de polietileno, alcohol estearílico, cera emulsionante, cera blanca, cera amarilla; agentes suspensoros y/o aumentadores de la viscosidad, tales como, acecia, agar, ácido algínico, monoestearato de aluminio, bentonita, bentonita purificada, magma de bentonita, carbómero 934P, carboximetilcelulosa de calcio, carboximetilcelulosa de sodio, carboximetilcelulosa de sodio 12, carragenano, celulosa y carboximetilcelulosa de sodio microcristalina, dextrina, gelatina, goma guar, hidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, silicato de aluminio y magnesio, metilcelulosa,
60

pectina, poli(óxido de etileno), poli(alcohol vinílico), povidona, alginato de propilenglicol, dióxido de silicio, dióxido de silicio coloidal, alginato de sodio, goma de tragacanto, goma de xantano; y agentes humectantes y/o solubilizantes, tales como, cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio, cloruro de cetilpiridinio, docusato sódico, nonoxinol 9, nonoxinol 10, octoxinol 9, poloxámero, aceite de ricino polioxilado 35, aceite de ricino hidrogenado polioxilado 40, 5 estearato de polioxilo 50, éter polioxil 10 oleílico, éter polioxil 20 cetoestearílico, estearato de polioxilo 40, polisorbato 20, polisorbato 40, polisorbato 60, polisorbato 80, laurilsulfato de sodio, monolaurato de sorbitán, monooleato de sorbitán, monopalmitato de sorbitán, monoestearato de sorbitán, tiloxapol.

Co-agentes bioactivos

La presente invención también contempla "co-agentes bioactivos" que pueden ser co-administrados con el cristal de BMP-7 de la presente invención. Estos incluyen, pero no se limitan a, agentes anabólicos, antiácidos, 10 agentes anti-asmáticos, agentes anti-colesterolémicos y anti-lipídicos, anti-coagulantes, anti-convulsivos, antidiarreicos, antieméticos, anti-infecciosos incluyendo, por ejemplo, agentes antibacterianos y antimicrobianos, agentes anti-inflamatorios, agentes anti-maniacos, agentes antimetabolitos, anti-náuseas, agentes anti-neoplásicos, agentes anti-resorción de hueso, agentes anti-obesidad, agentes antipiréticos y analgésicos, agentes 15 antiespasmódicos, agentes antitrombóticos, agentes antitusivos, agentes anti-uricémicos, agentes antianginosos, antihistamínicos, supresores del apetito, productos biológicos, dilatadores cerebrales, dilatadores coronarios, broncodilatadores, agentes citotóxicos, descongestivos, diuréticos, agentes de diagnóstico, agentes eritropoyéticos, expectorantes, sedantes gastrointestinales, agentes hiperglucémicos, hipnóticos, agentes hipoglucémicos, agentes inmunomoduladores, resinas de intercambio iónico, laxantes, suplementos minerales, agentes mucolíticos, fármacos 20 neuromusculares, vasodilatadores periféricos, psicotrópicos, sedantes, estimulantes, agentes tiroideos y antitiroideos, agentes de crecimiento de tejido, relajantes uterinos, vitaminas o materiales antigénicos.

Más concretamente, los co-agentes bioactivos preferidos para la co-administración con los cristales, geles, o suspensiones particuladas de la presente invención incluyen, pero no se limitan a, inhibidores de andrógenos, 25 polisacáridos, factores de crecimiento, hormonas, bisfosfonatos, factores anti-angiogénesis, dextrometorfano, hidrobromuro de dextrometorfano, noscapina, citrato de carbetapentano, hidrocloreuro de clofedanol, maleato de clorfeniramina, tartrato de fenindamina, maleato de pirlamina, succinato de doxilamina, citrato de feniltoloxamina, hidrocloreuro de fenilefrina, hidrocloreuro de fenilpropanolamina, hidrocloreuro de pseudoefedrina, efedrina, fosfato de codeína, sulfato de codeína, morfina, suplementos minerales, colestriramina, N-acetilprocainamida, acetaminofeno, aspirina, ibuprofeno, hidrocloreuro de fenilpropanolamina, cafeína, guaifenesina, hidróxido de aluminio, hidróxido de 30 magnesio, péptidos, polipéptidos, proteínas, aminoácidos, hormonas, interferones, citoquinas, y vacunas. Otros co-agentes bioactivos representativos que pueden administrarse conjuntamente con las composiciones cristalinas, de gel, y de suspensión particulada de la presente invención incluyen, pero no se limitan a, fármacos peptídicos, fármacos proteicos, materiales desensibilizantes, antígenos, agentes anti-infecciosos tales como antibióticos, agentes antimicrobianos, antivirales, antibacterianos, antiparasitarios, sustancias antifúngicas y combinaciones de 35 los mismos, antialérgicos, esteroides androgénicos, descongestivos, hipnóticos, agentes anti-inflamatorios no esteroideos, anticolinérgicos, simpaticomiméticos, sedantes, mióticos, energizantes psíquicos, tranquilizantes, vacunas, estrógenos, agentes progestacionales, agentes humorales, prostaglandinas, analgésicos, antiespasmódicos, antimaláricos, antihistamínicos, agentes cardioactivos, agentes anti-inflamatorios no esteroideos, agentes antiparkinsonianos, agentes antihipertensivos, agentes bloqueadores beta-adrenérgicos, agentes 40 nutricionales y alcaloides de benzofenantridina. El co-agente bioactivo puede ser adicionalmente una sustancia capaz de actuar como estimulante, sedante, hipnótico, analgésico, anticonvulsivo, y similares.

El co-agente bioactivo también puede ser una sustancia, o precursor metabólico de la misma, que es capaz de promover el crecimiento y la supervivencia de células y tejidos, o aumentar la actividad de las células en 45 funcionamiento, como por ejemplo, células sanguíneas, neuronas, músculo, médula ósea, células y tejidos óseos, y similares. Por ejemplo, los co-agentes bioactivos que se pueden co-administrar con las composiciones cristalinas, de gel, o de suspensión particulada de la presente invención pueden incluir, sin limitación, una sustancia promotora del crecimiento del nervio, como por ejemplo, un gangliósido, fosfatidilserina, un factor de crecimiento nervioso, factor neurotrófico derivado de cerebro. El co-agente bioactivo también puede ser un factor de crecimiento para tejido 50 conectivo blando o fibroso como, por ejemplo, un factor de crecimiento de fibroblastos, un factor de crecimiento epidérmico, un factor de crecimiento de células endoteliales, un factor de crecimiento derivado de plaquetas, un factor de crecimiento de tipo insulínico, un factor de crecimiento de células del ligamento periodontal, por nombrar sólo unos pocos.

Cristalinidad

La cristalización de macromoléculas, incluyendo proteínas, puede ser de gran ayuda en su 55 almacenamiento, así como en su liberación *in vivo*. Sin embargo, la estabilidad de estos cristales puede presentar numerosos problemas, ya que hay muy pocos métodos para la preparación de grandes cantidades de cristales macromoleculares que sean estables fuera de las aguas madres. En particular, los cristales de proteínas se deben manejar con más cuidado, ya que son extremadamente frágiles y contienen una buena cantidad de solvente. Una técnica comúnmente empleada permite la separación de los cristales de las aguas madre y su inserción en un tubo 60 capilar con el posterior sellado hermético del tubo utilizando, por ejemplo, cera dental o grasa de silicona, junto con una pequeña cantidad de las aguas madre a mantener la hidratación del cristal. (McPherson, A., Preparation and

Analysis of Protein Crystals, Robert E. Krieger Publishing, Malabar, pág. 214 (1989)). Los cristales macromoleculares también se pueden mantener a temperaturas criogénicas utilizando métodos bien conocidos en la técnica. La preparación del cristal con posterior enfriamiento rápido puede prevenir la formación de redes de hielo en el medio acuoso. En lugar del hielo que normalmente se formaría, se forma en su lugar un vidrio rígido, que encierra el cristal sin dañarlo. Los cristales resultantes se almacenan a $-173,15^{\circ}\text{C}$ (100K) para evitar la disgregación del cristal. (Rodgers, D.W., en *Methods in Enzymology* (Eds., Carter, C.W. y Sweet, R.M.) Academic Press, v.276, pág. 183 (1997)). Aunque esta técnica permite el almacenamiento de los cristales fuera de las aguas madre, requiere un mantenimiento del cristal a temperaturas de o por debajo de $-173,15^{\circ}\text{C}$ (100K).

Los cristales secos también se pueden preparar mediante liofilización, una técnica que requiere un enfriamiento rápido del material. Esto limita la aplicación de la técnica a productos que son estables bajo tales condiciones de congelación. La técnica requiere que la solución acuosa se congele primero a una temperatura de entre -40 y -50 grados Celsius. El hielo resultante se elimina después a vacío, puesto que la formulación de hielo puede destruir potencialmente la red cristalina de la proteína.

De manera óptima, las macromoléculas cristalinas deben ser estables a temperaturas ambiente para un almacenamiento conveniente. Las macromoléculas cristalinas, particularmente las proteínas cristalinas, son particularmente ventajosas para su uso como agentes terapéuticos y vacunas. La presente invención proporciona formulaciones y composiciones de BMP-7 cristalina, que son partículas sólidas o dispersas en un disolvente no acuoso. En una realización de la presente invención, las composiciones de BMP-7 de la presente invención comprenden, en lugar de las aguas madre, un disolvente no acuoso. En otra realización de la presente invención, una suspensión cristalina de BMP-7 se puede volver sólida centrifugando el primer disolvente y lavando el sólido de BA cristalino restante utilizando un segundo disolvente orgánico para eliminar el agua con posterior evaporación del disolvente no acuoso.

Para optimizar la preparación y el mantenimiento de los cristales de proteínas, es posible dejar los cristales en las aguas madre durante el curso del procedimiento de producción de cristal de proteína, potencialmente encapsulado en portadores poliméricos. Las condiciones de procesamiento del polímero son compatibles con los muchos compuestos utilizados en la cristalización de proteínas incluyendo, pero no limitados a, sales, PEG, y disolventes orgánicos. El experto en la técnica también apreciará que la disolución de cristal en las aguas madre puede ser controlada por condiciones que incluyen, pero no están limitadas a, el pH; la temperatura; la presencia de iones metálicos, tales como Zn, Cu y Ca; y la concentración de precipitantes. El experto en la técnica también reconocerá que, mediante la variación de estas condiciones, se pueden reducir la velocidad de la disolución de los cristales durante varias horas. El experto en la técnica apreciará adicionalmente que el proceso de formación de producto microparticulado es muy rápido y normalmente se completa en segundos a minutos. Además, se puede utilizar la filtración para eliminar las aguas madre, dejando una pasta cristalina que se puede secar al aire, a vacío, lavando con disolventes orgánicos miscibles, y/o mediante liofilización, dejando cristales secos. El experto en la técnica también apreciará que los cristales, incluyendo los cristales de proteína, pueden ser entrecruzados químicamente para reducir en gran medida, o eliminar por completo, la propensión a disolverse en medios acuosos, o incluso no acuosos. También está dentro de la técnica la manipulación o el control del tamaño o la forma del cristal durante el proceso de cristalización, dando como resultado una gama de morfologías de cristal con diferentes cinéticas de disolución y, por lo tanto, diferentes perfiles de liberación sostenida en comparación con las proteínas amorfas.

En otra realización de esta invención, se disuelve un excipiente en una disolución distinta de las aguas madre, y los cristales de BMP-7 se separan de las aguas madre y se suspenden en la disolución de excipiente.

El experto en la técnica también apreciará que las macromoléculas, tales como BMP-7, son más fáciles de cristalizar, y tienen cristales y geles resultantes más estables, si las macromoléculas tienen una baja solubilidad y tienen estructuras terciarias y/o cuaternarias que son relativamente inmóviles conformacionalmente. En particular, las proteínas que tienen interacciones fuertes, incluyendo, pero no limitadas a, enlaces covalentes entre estructuras terciarias o entre polipéptidos en un multímero, por ejemplo, tienen menos grados de libertad conformacional que las proteínas que carecen de tales interacciones. El descenso de la movilidad conformacional hace las proteínas más susceptibles a la ordenación local lo que puede ayudar a la cristalización y a la formación de gel. Además, las proteínas con baja solubilidad también tienden a agregarse, formando sus superficies hidrófobas, por ejemplo, extensos contactos de Van der Waals que fomentan el ordenamiento local de las proteínas lo que a su vez puede ayudar a la cristalización y a la formación de gel. El experto en la técnica apreciará que las proteínas de la superfamilia de TGF- β y especialmente las BMP son, con respecto a otras proteínas, conformacionalmente inmóviles y sustancialmente insolubles fisiológicamente, y por lo tanto son particularmente susceptibles a la fabricación y el uso de cristales, geles y suspensiones particuladas de la presente invención. El experto en la técnica apreciará que los diversos grados de solubilidad y la inmovilidad conformacional puede alterar la naturaleza y la morfología de los cristales y también se encuentra dentro del conocimiento práctico de un experto normal en la técnica la modificación y variación de las condiciones en las cuales dichas proteínas cristalizan de manera óptima.

La posible ventaja de la forma cristalina en oposición a la forma pre-precipitada es la reducción de la razón del área de superficie con respecto al volumen que puede aumentar los niveles de liberación sostenida. La forma cristalina, con la reducción de su razón del área de superficie con respecto al volumen, es también probablemente

menos irritante para los tejidos en el lugar de administración puesto que la menor área de superficie por dosis administrada mitiga o reduce la irritación local de la precipitación. En una realización preferida, los cristales de BMP-7 se pueden administrar utilizando una jeringa con un calibre entre 12 y 30. En una realización aún más particularmente preferida, los cristales de BMP-7 se pueden administrar utilizando una jeringa con un calibre de entre 16 y 26. El experto en la técnica apreciará que la manipulación de la razón de área de superficie/volumen de los cristales de BMP-7 de la presente invención puede modificar la velocidad de disolución/liberación de acuerdo con sus deseos con tal manipulación dentro del conocimiento práctico de la técnica.

La presente invención también prevé la práctica de todos los medios conocidos y comúnmente utilizados en la técnica de cristalización de proteínas, incluyendo, pero no limitados a, concentración por medio de evaporación, sublimación, técnicas de gradientes de difusión, y técnicas por lotes.

Composiciones farmacéuticas

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden comprender uno o más excipientes o agentes diferentes descritos en la presente memoria anteriormente, incluyendo, pero no limitados a, agentes modificadores de la liberación, plastificantes, portadores, modificadores de la flexibilidad, modificadores de la tonicidad, agentes o modificadores del pH co-localizados. El experto en la técnica apreciará que las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden modificar o variar para optimizar el tratamiento de un individuo a la vista de numerosos factores, incluyendo, pero no limitados a, la indicación, la patología de la enfermedad, y las características físicas del individuo.

Kits

La composición de la presente invención se puede presentar en forma de kits útiles para el tratamiento de la enfermedad, en particular de las articulaciones afectadas por la enfermedad, especialmente osteoartritis y enfermedad osteocondral. En una realización preferida, los kits de la presente invención comprenden uno o más agentes biológicamente activos adicionales. Los kits de la presente invención también pueden comprender uno o más excipientes o agentes diferentes descritos en la presente memoria anteriormente, incluyendo, pero no limitados a, agentes modificadores de la liberación, plastificantes, portadores, modificadores de la flexibilidad, modificadores de la tonicidad, agentes modificadores del pH co-localizados, o disolventes y vehículos farmacéuticamente aceptables. El experto en la técnica apreciará que los kits de la presente invención se pueden modificar o variar para optimizar el tratamiento de un individuo a la vista de numerosos factores, incluyendo, pero no limitados a, la indicación, la patología de la enfermedad, y las características físicas de la individuo.

30 Ejemplos

1. Cristales y modelado de la cinética de la proteína

Se hicieron crecer cristales de BMP-7 mediante métodos de difusión de vapor en una cubeta de gota sésil a 19 grados C. Un pocillo contenía múltiples cristales de aproximadamente 0,1 mm de tamaño que se produjeron utilizando 7,7 mg/ml de BMP-7, con una solución en el pocillo de 2-metil-2, 4,-pentanodiol (MPD) al 16% y citrato de sodio 135 mM (pH 4,8).

En una cubeta de cristalización de gota sésil, se colocaron 35 microlitros de la solución de ensayo en el puesto. Se transfirió manualmente un cristal utilizando un asa en cada una de tres disoluciones: ácido acético 50 mM, solución salina tamponada con fosfato (PBS), y fluido sinovial bovino. Los cristales se observaron mediante un estereomicroscopio y se fotografiaron a las 1, 5, 22, y 96 horas con almacenamiento a temperatura ambiente (aproximadamente 19 grados C) en cada una de las tres disoluciones (Figs. 1-3).

El cristal que se transfirió en ácido acético 50 mM fue el menos estable (Fig. 1). Se observó que los bordes se habían disuelto ligeramente dentro de la primera hora de la transferencia. Se observó una degradación adicional del cristal con una exposición prolongada.

Cuando el cristal se transfirió a PBS, se produjeron algunas grietas en el cristal durante el equilibrado inicial (Fig. 2). El almacenamiento prolongado en PBS no dio como resultado cambios observables significativos en el cristal.

Cuando el cristal se transfirió a fluido sinovial bovino, se observó un cierto agrietamiento interno (Fig. 3). El equilibrado adicional en el fluido sinovial no pareció alterar los bordes del cristal.

Estos resultados indican que semejante cristal proporcionaría un depósito de liberación sostenida en la rodilla para estimular la reparación del cartílago, por ejemplo. El tamaño del cristal (mayor que el peso molecular de corte de la membrana sinovial) ayuda a conservar el material en la rodilla, y proporciona un tiempo de liberación prolongado para la proteína debido a la disolución lenta.

El perfil de liberación de los cristales de BMP se puede manipular para dar la cinética de liberación deseada. Por ejemplo, mediante la inyección de una dosis pre-precipitada en forma de cristales de BMP-7 o una

- 5 proteína BMP-7 liofilizada suspendida en solución salina se pueden alcanzar niveles de liberación sostenida más altos y se puede lograr un nivel de C_{max} inferior. Además, la velocidad de liberación puede ser regulada mediante la inyección local de proteína solubilizada, es decir, suspendida en solución salina, desplazando por lo tanto el equilibrio de liberación. Esto puede adoptar la forma de co-administración con el cristal o el gel de proteína, o puede tener lugar en forma de una administración secundaria después de la administración inicial del cristal o el gel de proteína.

LISTA DE SECUENCIAS

- <110> Stryker Corporation
Jaworowicz, Warren
- 5 <120> Formulaciones de liberación sostenida que comprenden cristales, geles macromoleculares, y suspensiones particuladas de agentes biológicos
- <130> STK-088PC
- 10 <150> 60/876.292
<151> 21-12-2006
- <160> 18
- 15 <170> PatentIn versión 3.3
- <210> 1
- <211> 396
- <212> PRT
- 20 <213> Homo sapiens
- <400> 1

```

Met Val Ala Gly Thr Arg Cys Leu Leu Ala Leu Leu Leu Pro Gln Val
1          5          10          15

Leu Leu Gly Gly Ala Ala Gly Leu Val Pro Glu Leu Gly Arg Arg Lys
20          25          30

Phe Ala Ala Ala Ser Ser Gly Arg Pro Ser Ser Gln Pro Ser Asp Glu
35          40          45

Val Leu Ser Glu Phe Glu Leu Arg Leu Leu Ser Met Phe Gly Leu Lys
50          55          60

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

Asp Leu Tyr Arg Arg His Ser Gly Gln Pro Gly Ser Pro Ala Pro Asp
85          90          95

His Arg Leu Glu Arg Ala Ala Ser Arg Ala Asn Thr Val Arg Ser Phe
100         105         110

His His Glu Glu Ser Leu Glu Glu Leu Pro Glu Thr Ser Gly Lys Thr
115         120         125

Thr Arg Arg Phe Phe Phe Asn Leu Ser Ser Ile Pro Thr Glu Glu Phe
130         135         140

Ile Thr Ser Ala Glu Leu Gln Val Phe Arg Glu Gln Met Gln Asp Ala
145         150         155         160

Leu Gly Asn Asn Ser Ser Phe His His Arg Ile Asn Ile Tyr Glu Ile
165         170         175
    
```

ES 2 447 516 T3

Ile Lys Pro Ala Thr Ala Asn Ser Lys Phe Pro Val Thr Arg Leu Leu
 180 185 190

Asp Thr Arg Leu Val Asn Gln Asn Ala Ser Arg Trp Glu Ser Phe Asp
 195 200 205

Val Thr Pro Ala Val Met Arg Trp Thr Ala Gln Gly His Ala Asn His
 210 215 220

Gly Phe Val Val Glu Val Ala His Leu Glu Glu Lys Gln Gly Val Ser
 225 230 235 240

Lys Arg His Val Arg Ile Ser Arg Ser Leu His Gln Asp Glu His Ser
 245 250 255

Trp Ser Gln Ile Arg Pro Leu Leu Val Thr Phe Gly His Asp Gly Lys
 260 265 270

Gly His Pro Leu His Lys Arg Glu Lys Arg Gln Ala Lys His Lys Gln
 275 280 285

Arg Lys Arg Leu Lys Ser Ser Cys Lys Arg His Pro Leu Tyr Val Asp
 290 295 300

Phe Ser Asp Val Gly Trp Asn Asp Trp Ile Val Ala Pro Pro Gly Tyr
 305 310 315 320

His Ala Phe Tyr Cys His Gly Glu Cys Pro Phe Pro Leu Ala Asp His
 325 330 335

Leu Asn Ser Thr Asn His Ala Ile Val Gln Thr Leu Val Asn Ser Val
 340 345 350

Asn Ser Lys Ile Pro Lys Ala Cys Cys Val Pro Thr Glu Leu Ser Ala
 355 360 365

Ile Ser Met Leu Tyr Leu Asp Glu Asn Glu Lys Val Val Leu Lys Asn
 370 375 380

Tyr Gln Asp Met Val Val Glu Gly Cys Gly Cys Arg
 385 390 395

<210> 2
 <211> 3150
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 2

ccacaaaggg cacttggccc cagggctagg agagcgaggg gagagcacag ccacccgcct 60
 cggcggcccg ggactcggct cgactcggcg gagaatgcmc ccgaggacga cggggcgcca 120
 gagccgcggt gctttcaact ggcgagcgcg aatgggggtg cactggagta aggcagagtg 180
 atgcgggggg gcaactcgcc tggcaccgag atcgcgcggc tgccttccc tggaccggc 240

5
 10

ES 2 447 516 T3

gtcgcccagg atggctgccc cgagccatgg gccgcggcgg agctagcgcg gagcgcccga 300
 ccctcgaccc ccgagtcccc gagccggccc cgcgcggggc cacgcgtccc tcgggcgctg 360
 gttcctaagg aggacgacag caccagcttc tcctttctcc cttcccttcc ctgccccgca 420
 ctctcccccc tgctcgctgt tgttgtgtgt cagcacttgg ctggggactt cttgaacttg 480
 cagggagaat aacttgcgca ccccactttg cgccggtgcc tttgccccag cggagcctgc 540
 ttcgccatct ccgagcccca ccgcccctcc actcctcggc cttgccccgac actgagacgc 600
 tgttcccagc gtgaaaagag agactgcgcg gccggcaccc gggagaagga ggaggcaaag 660
 aaaaggaacg gacattcggg ccttgcgcca ggtcctttga ccagagtttt tccatgtgga 720
 cgctctttca atggacgtgt ccccgcgctg ttcttagacg gactgcggtc tcctaaaggt 780
 cgacatggt ggccgggacc cgctgtcttc tagcgttgct gcttccccag gtcctcctgg 840
 gcggcgcggc tggcctcgtt ccggagctgg gccgcaggaa gttcgcggcg gcgtcgtcgg 900
 gccgcccctc atcccagccc tctgacgagg tcctgagcga gttcgagttg cggctgctca 960
 gcatgttcgg cctgaaacag agaccacccc ccagcagga cgccgtggtg cccccctaca 1020
 tgctagacct gtatcgcagg cactcaggtc agccgggctc acccgcccca gaccaccggt 1080
 tggagagggc agccagccga gccaacactg tgcgcagctt ccacatgaa gaatctttgg 1140
 aagaactacc agaaacgagt gggaaaacaa cccggagatt cttctttaat ttaagttcta 1200
 tccccacgga ggagtttata acctcagcag agcttcaggt tttccgagaa cagatgcaag 1260
 atgcttttagg aaacaatagc agtttccatc accgaattaa tatttatgaa atcataaaac 1320
 ctgcaacagc caactcgaaa ttccccgtga ccagactttt ggacaccagg ttggtgaatc 1380
 agaatgcaag caggtgggaa agttttgatg tcacccccgc tgtgatgcgg tggactgcac 1440
 agggacacgc caacatgga ttcgtggtgg aagtggccca cttggaggag aaacaaggtg 1500
 tctccaagag acatgttagg ataagcaggt ctttgacca agatgaacac agctggtcac 1560
 agataaggcc attgctagta acttttgccc atgatggaaa agggcatcct ctccacaaaa 1620
 gagaaaaacg tcaagccaaa cacaacagc ggaaacgcct taagtccagc tgtaagagac 1680
 accctttgta cgtggacttc agtgacgtgg ggtggaatga ctggattgtg gctcccccg 1740
 ggtatcacgc cttttactgc cacggagaat gcccttttcc tctggctgat catctgaact 1800
 ccactaatca tgccattggt cagacgttgg tcaactctgt taactctaag attcctaagg 1860
 catgctgtgt cccgacagaa ctcagtgcta tctcgatgct gtacctgac gagaatgaaa 1920
 aggttgattt aaagaactat caggacatgg ttgtggaggg ttgtgggtgt cgctagtaca 1980
 gcaaaattaa atacataaat atatatatat atatataatt tagaaaaaag aaaaaacaa 2040
 acaaacaaaa aaaccccacc ccagttgaca cttaaatatt tccaatgaa gactttattt 2100
 atggaatgga atggaaaaaa aaacagctat tttgaaaata tatttatatc tacgaaaaga 2160
 agttgggaaa acaaatattt taatcagaga attattcctt aaagatttaa aatgtattta 2220
 gttgtacatt ttatatgggt tcaaccccag cacatgaagt ataatggtca gatttatttt 2280

ES 2 447 516 T3

gtatttattt actattataa ccacttttta ggaaaaaat agctaatttg tatttatatg 2340
 taatcaaaag aagtatcggg tttgtacata attttccaaa aattgtagtt gttttcagtt 2400
 gtgtgtattt aagatgaaaa gtctacatgg aaggttactc tggcaaagtg cttagcacgt 2460
 ttgctttttt gcagtgctac tgttgagttc acaagttcaa gtccagaaaa aaaagtggg 2520
 taatccactc tgctgacttt caagattatt atattattca attctcagga atgttgcaga 2580
 gtgattgtcc aatccatgag aatttacatc cttattaggt ggaatatttg gataagaacc 2640
 agacattgct gatctattat agaaactctc ctctgcccc ttaatttaca gaaagaataa 2700
 agcaggatcc atagaaataa ttaggaaaac gatgaacctg caggaaagtg aatgatggtt 2760
 tgttgttctt ctttctaaa ttagtgatcc cttcaaaggg gctgatctgg ccaaagtatt 2820
 caataaaacg taagatttct tcattattga tatttggtgc atatatattt aaaattgata 2880
 tctcgtggcc ctcatcaagg gttggaaatt tatttgtgtt ttacctttac ctcatctgag 2940
 agctctttat tctccaaaga acccagtttt ctaacttttt gcccaacacg cagcaaaatt 3000
 atgcacatcg tgttttctgc ccaccctctg ttctctgacc taccagcttg cttttctttc 3060
 caaggttggtg tgtttgaaca catttctcca aatgttaaac ctatttcaga taataaatat 3120
 caaatctctg gcatttcatt ctataaagtc 3150

<210> 3
 <211> 408
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

5

<400> 3

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

10

ES 2 447 516 T3

Ile Pro Gly Thr Ser Glu Asn Ser Ala Phe Arg Phe Leu Phe Asn Leu
 130 135 140

Ser Ser Ile Pro Glu Asn Glu Val Ile Ser Ser Ala Glu Leu Arg Leu
 145 150 155 160

Phe Arg Glu Gln Val Asp Gln Gly Pro Asp Trp Glu Arg Gly Phe His
 165 170 175

Arg Ile Asn Ile Tyr Glu Val Met Lys Pro Pro Ala Glu Val Val Pro
 180 185 190

Gly His Leu Ile Thr Arg Leu Leu Asp Thr Arg Leu Val His His Asn
 195 200 205

Val Thr Arg Trp Glu Thr Phe Asp Val Ser Pro Ala Val Leu Arg Trp
 210 215 220

Thr Arg Glu Lys Gln Pro Asn Tyr Gly Leu Ala Ile Glu Val Thr His
 225 230 235 240

Leu His Gln Thr Arg Thr His Gln Gly Gln His Val Arg Ile Ser Arg
 245 250 255

Ser Leu Pro Gln Gly Ser Gly Asn Trp Ala Gln Leu Arg Pro Leu Leu
 260 265 270

Val Thr Phe Gly His Asp Gly Arg Gly His Ala Leu Thr Arg Arg Arg
 275 280 285

Arg Ala Lys Arg Ser Pro Lys His His Ser Gln Arg Ala Arg Lys Lys
 290 295 300

Asn Lys Asn Cys Arg Arg His Ser Leu Tyr Val Asp Phe Ser Asp Val
 305 310 315 320

Gly Trp Asn Asp Trp Ile Val Ala Pro Pro Gly Tyr Gln Ala Phe Tyr
 325 330 335

Cys His Gly Asp Cys Pro Phe Pro Leu Ala Asp His Leu Asn Ser Thr
 340 345 350

Asn His Ala Ile Val Gln Thr Leu Val Asn Ser Val Asn Ser Ser Ile
 355 360 365

Pro Lys Ala Cys Cys Val Pro Thr Glu Leu Ser Ala Ile Ser Met Leu
 370 375 380

Tyr Leu Asp Glu Tyr Asp Lys Val Val Leu Lys Asn Tyr Gln Glu Met
 385 390 395 400

ES 2 447 516 T3

Val Val Glu Gly Cys Gly Cys Arg
405

5 <210> 4
<211> 1957
<212> ADN
<213> Homo sapiens

10 <400> 4

```

aagaggagga aggaagatgc gagaaggcag aggaggaggg agggagggaa ggagcgcgga      60
gcccggcccg gaagctaggt gagtgtggca tccgagctga gggacgcgag cctgagacgc      120
cgctgctgct ccggctgagt atctagcttg tctccccgat gggattcccg tccaagctat      180
ctcgagcctg cagcgcacaca gtccccggcc ctcgcccagg ttcactgcaa ccgttcagag      240
gtccccagga gctgctgctg gcgagcccgc tactgcaggg acctatggag ccattccgta      300
gtgccatccc gagcaacgca ctgctgcagc ttcctgagc ctttccagca agtttgttca      360
agattggctg tcaagaatca tggactgtta ttatatgcct tgttttctgt caagacacca      420
tgattcctgg taaccgaatg ctgatggctg ttttattatg ccaagtcctg ctaggaggcg      480
cgagccatgc tagtttgata cctgagacgg ggaagaaaaa agtcgccgag attcagggcc      540
acgcgggagg acgccgctca gggcagagcc atgagctcct gcgggacttc gaggcgacac      600
ttctgcagat gtttgggctg cgccgccgcc cgcagcctag caagagtgcc gtcattccgg      660
actacatgcg ggatctttac cggcttcagt ctggggagga ggaggaagag cagatccaca      720
gcaactggtc tgagtatcct gagcgcgccg ccagccgggc caacaccgtg aggagcttcc      780
accacgaaga acatctggag aacatcccag ggaccagtga aaactctgct tttcgtttcc      840
tctttaacct cagcagcatc cctgagaacg aggtgatctc ctctgcagag cttcggctct      900
tccgggagca ggtggaccag ggccctgatt gggaaagggg cttccaccgt ataaacattt      960
atgaggttat gaagcccca gcagaagtgg tgcctgggca cctcatcaca cgactactgg     1020
acacgagact ggtccaccac aatgtgacac ggtgggaaac ttttgatgtg agccctgcgg     1080
tccttcgctg gaccgggag aagcagccaa actatgggct agccattgag gtgactcacc     1140
tccatcagac tcggaccac cagggccagc atgtcaggat tagccgatcg ttacctcaag     1200
ggagtgggaa ttgggccag ctccggcccc tcctggtcac ctttgccat gatggccggg     1260
gccatgcctt gaccgacgc cggagggcca agcgtagccc taagcatcac tcacagcggg     1320
ccaggaagaa gaataagaac tgccggcgcc actcgtctta tgtggacttc agcgatgtgg     1380
gctggaatga ctggattgtg gccccaccag gctaccaggc cttctactgc catggggact     1440
gcccccttcc actggtgac cacctcaact caaccaacca tgccattgtg cagaccctgg     1500
tcaattctgt caattccagt atccccaaag cctgttgtgt gcccactgaa ctgagtcca     1560
tctccatgct gtacctggat gagtatgata aggtggtact gaaaaattat caggagatgg     1620
tagtagaggg atgtgggtgc cgctgagatc aggcagtcct tgaggataga cagatataca     1680
caccacacac acacaccaca tacaccacac acacacgttc ccatccactc acccacacac     1740
tacacagact gcttccttat agctggactt ttatttataaa aaaaaaaaaa aaaaggaaaa     1800

```

ES 2 447 516 T3

aatccctaaa cattcacctt gaccttattt atgactttac gtgcaaatgt tttgaccata 1860
 ttgatcatat attttgacaa aatatattta taactacgta ttaaaagaaa aaaataaaat 1920
 gagtcattat tttaaaggta aaaaaaaaaa aaaaaaa 1957

<210> 5
 <211> 1748
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

5

<400> 5

aagaggagga aggaagatgc gagaaggcag aggaggaggg agggagggaa ggagcgcgga 60
 gcccggcccc gaagctagga gccattccgt agtgccatcc cgagcaacgc actgctgcag 120
 cttccctgag cttttccagc aagtttgttc aagattggct gtcaagaatc atggactggt 180
 attatatgcc ttgttttctg tcaagacacc atgattcctg gtaaccgaat gctgatggtc 240
 gttttattat gccaaagtcc gctaggaggc gcgagccatg ctagtttgat acctgagacg 300
 ggaagaaaa aagtcgccga gattcagggc cacgcgggag gacgccgctc agggcagagc 360
 catgagctcc tgcgggactt cgaggcgaca cttctgcaga tgtttgggct gcgccgccg 420
 ccgagccta gcaagagtgc cgtcattccg gactacatgc gggatcttta ccggcttcag 480
 tctggggagg aggaggaaga gcagatccac agcactggtc ttgagtatcc tgagcggccc 540
 gccagccggg ccaacaccgt gaggagcttc caccacgaag aacatctgga gaacatccca 600
 gggaccagtg aaaactctgc ttttcgttcc ctctttaacc tcagcagcat ccctgagaac 660
 gagtgatct cctctgcaga gcttcggctc ttccgggagc aggtggacca gggccctgat 720
 tgggaaaggg gcttccaccg tataaacatt tatgaggtta tgaagcccc agcagaagtg 780
 gtgcctgggc acctcatcac acgactactg gacacgagac tggteccacca caatgtgaca 840
 cggtgggaaa cttttgatgt gagccctgcg gtccttcgct ggacccggga gaagcagcca 900
 aactatgggc tagccattga ggtgactcac ctccatcaga ctccggacca ccagggccag 960
 catgtcagga ttagccgatc gttacctcaa gggagtggga attgggcca gctccggccc 1020
 ctctgggtca cttttggcca tgatggccgg ggccatgcct tgacccgacg ccggagggcc 1080
 aagcgtagcc ctaagcatca ctacagcgg gccaggaaga agaataagaa ctgccggcgc 1140
 cactcgtct atgtggactt cagcgtatgt ggctggaatg actggattgt ggccccacca 1200
 ggctaccagg ctttctactg ccatggggac tgccccttcc cactggctga ccacctcaac 1260
 tcaaccaacc atgccattgt gcagaccctg gtcaattctg tcaattccag tatcccaaa 1320
 gcctgtttgt tgcccactga actgagtgcc atctccatgc tgtacctgga tgagtatgat 1380
 aaggtggtac tgaaaaatta tcaggagatg gtagtagagg gatgtgggtg ccgctgagat 1440
 caggcagtcc ttgaggatag acagatatac acaccacaca cacacaccac atacaccaca 1500
 cacacacggt cccatccact caccacaca ctacacagac tgcttcctta tagctggact 1560
 tttattttaa aaaaaaaaaa aaaaaggaaa aatccctaa acattcacct tgaccttatt 1620
 tatgacttta cgtgcaaatg ttttgacctt attgatcata tattttgaca aatatattt 1680

10

ES 2 447 516 T3

ataactacgt attaaaagaa aaaaataaaa tgagtcatta ttttaaaggt aaaaaaaaaa 1740
 aaaaaaaaaa 1748

<210> 6
 <211> 1802
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 6

gaaggaagtg gcgggggaag gagtgtggtg gtggtttaa aaataagga agccgaggcg 60
 agagagacgc agacgcagag gtcgagcgca ggccgaaagc tgttcaccgt tttctcgact 120
 ccggggaaca tggagccatt ccgtagtgcc atcccagca acgcactgct gcagcttccc 180
 tgagccttc cagcaagttt gttcaagatt ggctgtcaag aatcatggac tgttattata 240
 tgccttgttt tctgtcaaga cccatgatt cctggtaacc gaatgctgat ggtcgtttta 300
 ttatgccaag tcctgctagg aggcgcgagc catgctagtt tgatacctga gacggggaag 360
 aaaaaagtgc ccgagattca gggccacgcg ggaggacgcc gtcagggca gagccatgag 420
 ctctgcggg acttcgaggc gacacttctg cagatgtttg ggctgcgccg ccgcccgcag 480
 cctagcaaga gtgccgtcat tccggactac atgcgggatc tttaccggct tcagtctggg 540
 gaggaggagg aagagcagat ccacagcact ggtcttgagt atcctgagcg cccggccagc 600
 cgggccaaca ccgtgaggag cttccaccac gaagaacatc tggagaacat cccagggacc 660
 agtgaaaact ctgcttttcg tttcctcttt aacctcagca gcatccctga gaacgaggtg 720
 atctcctctg cagagcttcg gctcttccgg gagcaggtgg accagggccc tgattgggaa 780
 aggggcttcc accgtataaa ctttatgag gttatgaagc cccagcaga agtggtgcct 840
 gggcacctca tcacacgact actggacacg agactggtcc accacaatgt gacacggtgg 900
 gaaacttttg atgtgagccc tgcggtcctt cgctggacc gggagaagca gccaaactat 960
 gggctagcca ttgaggtgac tcacctccat cagactcggc cccaccaggg ccagcatgtc 1020
 aggattagcc gatcgttacc tcaagggagt ggggaattggg cccagctccg gcccctctg 1080
 gtcacctttg gccatgatgg ccggggccat gccttgacc gacgccggag ggccaagcgt 1140
 agccctaagc atcactcaca gcggggccagg aagaagaata agaactgccg gcgccactcg 1200
 ctctatgtgg acttcagcga tgtgggctgg aatgactgga ttgtggcccc accaggctac 1260
 caggccttct actgccatgg ggactgcccc tttccactgg ctgaccacct caactcaacc 1320
 aaccatgcca ttgtgcagac cctggtcaat tctgtcaatt ccagtatccc caaagcctgt 1380
 tgtgtgcccc ctgaactgag tgccatctcc atgctgtacc tggatgagta tgataaggtg 1440
 gtactgaaaa attatcagga gatggtagta gagggatgtg ggtgccgctg agatcaggca 1500
 gtccttgagg atagacagat atacacacca cacacacaca ccacatacac cacacacaca 1560
 cgttcccatc cactcaccca cactacac agactgcttc cttatagctg gacttttatt 1620
 taaaaaaaaa aaaaaaaaaag gaaaaaatcc ctaaacattc accttgacct tatttatgac 1680
 tttacgtgca aatgttttga ccatattgat catatatttt gacaaaatat atttataact 1740

5

10

ES 2 447 516 T3

acgtattaaa agaaaaaat aaaatgagtc attatttttaa aggtaaaaaa aaaaaaaaaa 1800

aa 1802

5 <210> 7
 <211> 408
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 7

Met Ile Pro Gly Asn Arg Met Leu Met Val Val Leu Leu Cys Gln Val
 1 5 10 15

Leu Leu Gly Gly Ala Ser His Ala Ser Leu Ile Pro Glu Thr Gly Lys
 20 25 30

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

Gln Ser His Glu Leu Leu Arg Asp Phe Glu Ala Thr Leu Leu Gln Met
 50 55 60

Phe Gly Leu Arg Arg Arg Pro Gln Pro Ser Lys Ser Ala Val Ile Pro
 65 70 75 80

Asp Tyr Met Arg Asp Leu Tyr Arg Leu Gln Ser Gly Glu Glu Glu Glu
 85 90 95

Glu Gln Ile His Ser Thr Gly Leu Glu Tyr Pro Glu Arg Pro Ala Ser
 100 105 110

Arg Ala Asn Thr Val Arg Ser Phe His His Glu Glu His Leu Glu Asn
 115 120 125

Ile Pro Gly Thr Ser Glu Asn Ser Ala Phe Arg Phe Leu Phe Asn Leu
 130 135 140

Ser Ser Ile Pro Glu Asn Glu Val Ile Ser Ser Ala Glu Leu Arg Leu
 145 150 155 160

Phe Arg Glu Gln Val Asp Gln Gly Pro Asp Trp Glu Arg Gly Phe His
 165 170 175

Arg Ile Asn Ile Tyr Glu Val Met Lys Pro Pro Ala Glu Val Val Pro
 180 185 190

Gly His Leu Ile Thr Arg Leu Leu Asp Thr Arg Leu Val His His Asn
 195 200 205

Val Thr Arg Trp Glu Thr Phe Asp Val Ser Pro Ala Val Leu Arg Trp
 210 215 220

10

ES 2 447 516 T3

Thr Arg Glu Lys Gln Pro Asn Tyr Gly Leu Ala Ile Glu Val Thr His
 225 230 235 240

Leu His Gln Thr Arg Thr His Gln Gly Gln His Val Arg Ile Ser Arg
 245 250 255

Ser Leu Pro Gln Gly Ser Gly Asn Trp Ala Gln Leu Arg Pro Leu Leu
 260 265 270

Val Thr Phe Gly His Asp Gly Arg Gly His Ala Leu Thr Arg Arg Arg
 275 280 285

Arg Ala Lys Arg Ser Pro Lys His His Ser Gln Arg Ala Arg Lys Lys
 290 295 300

Asn Lys Asn Cys Arg Arg His Ser Leu Tyr Val Asp Phe Ser Asp Val
 305 310 315 320

Gly Trp Asn Asp Trp Ile Val Ala Pro Pro Gly Tyr Gln Ala Phe Tyr
 325 330 335

Cys His Gly Asp Cys Pro Phe Pro Leu Ala Asp His Leu Asn Ser Thr
 340 345 350

Asn His Ala Ile Val Gln Thr Leu Val Asn Ser Val Asn Ser Ser Ile
 355 360 365

Pro Lys Ala Cys Cys Val Pro Thr Glu Leu Ser Ala Ile Ser Met Leu
 370 375 380

Tyr Leu Asp Glu Tyr Asp Lys Val Val Leu Lys Asn Tyr Gln Glu Met
 385 390 395 400

Val Val Glu Gly Cys Gly Cys Arg
 405

<210> 8
 <211> 2207
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

5

<400> 8

ctcttgaaga gggctggtat atttgtgcct gctggagggtg gaattaacag taagaaggag 60
 aaagggattg aatggactta caggaaggat ttcaagtaaa ttcagggaaa cacatttact 120
 tgaatagtac aacctagagt attattttac actaagacga cacaaaagat gttaaagtta 180
 tcaccaagct gccggacaga tatatattcc aacaccaagg tgcagatcag catagatctg 240
 tgattcagaa atcaggattt gttttggaaa gagctcaagg gttgagaaga actcaaagc 300
 aagtgaagat tactttggga actacagttt atcagaagat caacttttgc taattcaat 360
 accaaaggcc tgattatcat aaattcatat aggaatgcat aggtcatctg atcaataat 420
 attagccgtc ttctgctaca tcaatgcagc aaaaactctt aacaactgtg gataattgga 480

10

ES 2 447 516 T3

aatctgagtt tcagctttct tagaaataac tactcttgac atattccaaa atatttaaaa 540
 taggacagga aaatcggtag ggatgttgg ctcagaaatg tcaactgtcat gaaaaatagg 600
 taaatttggt ttttcagcta ctgggaaact gtacctccta gaaccttagg tttttttttt 660
 ttttaagagg acaagaagga ctaaaaatat caacttttgc ttttgacaa aatgcatct 720
 gactgtattt ttacttaagg gtattgtggg tttcctctgg agctgctggg ttctagtggg 780
 ttatgcaaaa ggaggtttgg gagacaatca tgttcaactc agttttatatt atagaagact 840
 acggaaccac gaaagacggg aaatacaaag ggaaattctc tctatcttgg gtttgcctca 900
 cagaccaga ccattttcac ctggaaaaca agcgtcctct gcacctctct ttatgctgga 960
 tctctacaat gccatgacca atgaagaaa tcctgaagag tcggagtact cagtaagggc 1020
 atccttggca gaagagacca gaggggcaag aaagggatac ccagcctctc ccaatgggta 1080
 tcctcgtcgc atacagttat ctcggacgac tcctctgacc acccagagtc ctctcttagc 1140
 cagcctccat gataccaact ttctgaatga tgctgacatg gtcattgagct ttgtcaactt 1200
 agttgaaaga gacaaggatt tttctacca gcgaaggcat tacaagaat ttcgatttga 1260
 tcttaccxaa attcctcatg gagaggcagt gacagcagct gaattccgga tatacaagga 1320
 ccggagcaac aaccgatttg aaaatgaaac aattaagatt agcatatatac aaatcatcaa 1380
 ggaatacaca aatagggatg cagatctggt cttgttagac acaagaaagg cccaagcttt 1440
 agatgtgggt tggcttgtct ttgatatac tgtgaccagc aatcattggg tgattaatcc 1500
 ccagaataat ttgggcttac agctctgtgc agaaacaggg gatggacgca gtatcaacgt 1560
 aaaatctgct ggtcttgtgg gaagacaggg acctcagtca aaacaacat tcatggtggc 1620
 cttcttcaag gcgagtgagg tacttcttcg atccgtgaga gcagccaaca aacgaaaaaa 1680
 tcaaaaccgc aataaatcca gctctcatca ggactcctcc agaatgtcca gtgttgagga 1740
 ttataacaca agtgagcaaa aacaagcctg taagaagcac gaactctatg tgagcttccg 1800
 ggatctggga tggcaggact ggattatagc accagaagga tacgctgcat tttattgtga 1860
 tggagaatgt tcttttccac ttaacgcca tatgaatgcc accaaccag ctatagttca 1920
 gactctgggt catctgatgt ttctgacca cgtaccaaag ccttgttgtg ctccaaccaa 1980
 attaatgcc atctctgttc tgtactttga tgacagctcc aatgtcattt tgaaaaata 2040
 tagaaatatg gtagtacgct catgtggctg ccactaatat taaataatat tgataataac 2100
 aaaaagatct gtattaaggt ttatggctgc aataaaaagc atactttcag acaaacgggg 2160
 aatttcctaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaa 2207

<210> 9
 <211> 513
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 9

Met Pro Gly Leu Gly Arg Arg Ala Gln Trp Leu Cys Trp Trp Trp Gly
 1 5 10 15

ES 2 447 516 T3

Leu Leu Cys Ser Cys Cys Gly Pro Pro Pro Leu Arg Pro Pro Leu Pro
 20 25 30
 Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Gln Leu Leu Gly Asp Gly Gly
 35 40 45
 Ser Pro Gly Arg Thr Glu Gln Pro Pro Pro Ser Pro Gln Ser Ser Ser
 50 55 60
 Gly Phe Leu Tyr Arg Arg Leu Lys Thr Gln Glu Lys Arg Glu Met Gln
 65 70 75 80
 Lys Glu Ile Leu Ser Val Leu Gly Leu Pro His Arg Pro Arg Pro Leu
 85 90 95
 His Gly Leu Gln Gln Pro Gln Pro Pro Ala Leu Arg Gln Gln Glu Glu
 100 105 110
 Gln Gln Gln Gln Gln Gln Leu Pro Arg Gly Glu Pro Pro Pro Gly Arg
 115 120 125
 Leu Lys Ser Ala Pro Leu Phe Met Leu Asp Leu Tyr Asn Ala Leu Ser
 130 135 140
 Ala Asp Asn Asp Glu Asp Gly Ala Ser Glu Gly Glu Arg Gln Gln Ser
 145 150 155 160
 Trp Pro His Glu Ala Ala Ser Ser Ser Gln Arg Arg Gln Pro Pro Pro
 165 170 175
 Gly Ala Ala His Pro Leu Asn Arg Lys Ser Leu Leu Ala Pro Gly Ser
 180 185 190
 Gly Ser Gly Gly Ala Ser Pro Leu Thr Ser Ala Gln Asp Ser Ala Phe
 195 200 205
 Leu Asn Asp Ala Asp Met Val Met Ser Phe Val Asn Leu Val Glu Tyr
 210 215 220
 Asp Lys Glu Phe Ser Pro Arg Gln Arg His His Lys Glu Phe Lys Phe
 225 230 235 240
 Asn Leu Ser Gln Ile Pro Glu Gly Glu Val Val Thr Ala Ala Glu Phe
 245 250 255
 Arg Ile Tyr Lys Asp Cys Val Met Gly Ser Phe Lys Asn Gln Thr Phe
 260 265 270
 Leu Ile Ser Ile Tyr Gln Val Leu Gln Glu His Gln His Arg Asp Ser
 275 280 285

ES 2 447 516 T3

Asp Leu Phe Leu Leu Asp Thr Arg Val Val Trp Ala Ser Glu Glu Gly
 290 295 300

Trp Leu Glu Phe Asp Ile Thr Ala Thr Ser Asn Leu Trp Val Val Thr
 305 310 315 320

Pro Gln His Asn Met Gly Leu Gln Leu Ser Val Val Thr Arg Asp Gly
 325 330 335

Val His Val His Pro Arg Ala Ala Gly Leu Val Gly Arg Asp Gly Pro
 340 345 350

Tyr Asp Lys Gln Pro Phe Met Val Ala Phe Phe Lys Val Ser Glu Val
 355 360 365

His Val Arg Thr Thr Arg Ser Ala Ser Ser Arg Arg Arg Gln Gln Ser
 370 375 380

Arg Asn Arg Ser Thr Gln Ser Gln Asp Val Ala Arg Val Ser Ser Ala
 385 390 395 400

Ser Asp Tyr Asn Ser Ser Glu Leu Lys Thr Ala Cys Arg Lys His Glu
 405 410 415

Leu Tyr Val Ser Phe Gln Asp Leu Gly Trp Gln Asp Trp Ile Ile Ala
 420 425 430

Pro Lys Gly Tyr Ala Ala Asn Tyr Cys Asp Gly Glu Cys Ser Phe Pro
 435 440 445

Leu Asn Ala His Met Asn Ala Thr Asn His Ala Ile Val Gln Thr Leu
 450 455 460

Val His Leu Met Asn Pro Glu Tyr Val Pro Lys Pro Cys Cys Ala Pro
 465 470 475 480

Thr Lys Leu Asn Ala Ile Ser Val Leu Tyr Phe Asp Asp Asn Ser Asn
 485 490 495

Val Ile Leu Lys Lys Tyr Arg Asn Met Val Val Arg Ala Cys Gly Cys
 500 505 510

His

- <210> 10
- <211> 3105
- <212> ADN
- <213> Homo sapiens

<400> 10

10 caactggggg cgccccggac gaccatgaga gataaggact gagggccagg aaggggaagc 60

ES 2 447 516 T3

gagcccgccg agaggtggcg gggactgctc acgccaaggg ccacagcggc cgcgctccgg 120
 cctcgctccg ccgctccacg cctcgcggga tccgcggggg cagcccggcc gggcggggat 180
 gccggggctg gggcggaggg cgcagtggct gtgctggtgg tgggggctgc tgtgcagctg 240
 ctgcggggcc ccgcccgtgc ggccgccctt gcccgctgcc gcggccgccg ccgcccgggg 300
 gcagctgctg ggggacggcg ggagccccgg ccgcacggag cagccgccgc cgtcgcgca 360
 gtctctctcg ggcttctgt accggcggct caagacgcag gagaagcggg agatgcagaa 420
 ggagatcttg tcggtgctgg ggctcccgca ccggccccgg cccctgcacg gcctccaaca 480
 gccgcagccc ccggcgtcc ggcagcagga ggagcagcag cagcagcagc agctgcctcg 540
 cggagagccc cctcccgggc gactgaagtc cgcgccctc ttcattgctgg atctgtacaa 600
 cgccctgtcc gccgacaacg acgaggacgg ggcgtcggag ggggagaggc agcagtcctg 660
 gccccacgaa gcagccagct cgtcccagcg tcggcagccg cccccgggcg ccgcgcaccc 720
 gctcaaccgc aagagccttc tggcccccg atctggcagc ggcggcgcgt cccactgac 780
 cagcgcgag gacagcgcct tcctcaacga cgcggacatg gtcattgagct ttgtgaacct 840
 ggtggagtac gacaaggagt tctcccctcg tcagcgacac cacaagagt tcaagttcaa 900
 cttatcccag attcctgagg gtgaggtggg gacggctgca gaattccgca tctacaagga 960
 ctgtgttatg gggagtttta aaaaccaaac ttttcttacc agcatttacc aagtcttaca 1020
 ggagcatcag cacagagact ctgacctgtt tttgttgac acccgtgtag tatgggcctc 1080
 agaagaaggc tggctggaat ttgacatcac ggccactagc aatctgtggg ttgtgactcc 1140
 acagcataac atggggcttc agctgagcgt ggtgacaagg gatggagtcc acgtccacc 1200
 ccgagccgca ggcctggtgg gcagagacgg cccttacgac aagcagccct tcattggtggc 1260
 tttcttcaaa gtgagtgagg tgcacgtgcg caccaccagg tcagcctcca gccggcggcg 1320
 acaacagagt cgtaatcgct ctaccagtc ccaggacgtg gcgcgggtct ccagtgcctc 1380
 agattacaac agcagtgaat tgaaaacagc ctgcaggaag catgagctgt atgtgagttt 1440
 ccaagacctg ggatggcagg actggatcat tgcacccaag ggctatgctg ccaattactg 1500
 tgatggagaa tgctccttc cactcaacgc acacatgaat gcaaccaacc acgcgattgt 1560
 gcagacctg gttcacctta tgaaccccga gtatgtcccc aaaccgtgct gtgcgccaac 1620
 taagctaaat gccatctcgg ttctttactt tgatgacaac tccaatgtca ttctgaaaaa 1680
 atacaggaat atggttgtaa gagcttgagg atgccactaa ctcgaaacca gatgctgggg 1740
 acacacattc tgccttggat tcctagatta catctgcctt aaaaaaacac ggaagcacag 1800
 ttggaggtgg gacgatgaga ctttgaact atctcatgcc agtgccttat taccaggaa 1860
 gattttaaag gacctatta ataatttgct cacttggtaa atgacgtgag tagttgttg 1920
 tctgtagcaa gctgagttg gatgtctgta gcataaggtc tggtaactgc agaaacataa 1980
 ccgtgaagct cttcctacc tcctcccca aaaaccacc aaaattagtt ttagctgtag 2040
 atcaagctat ttgggtgtt tgtagtaaa tagggaaaat aatctcaaag gagttaaatg 2100
 tattcttggc taaaggatca gctggttcag tactgtctat caaaggtaga ttttacagag 2160

ES 2 447 516 T3

aacagaaatc ggggaagtgg ggggaacgcc tctgttcagt tcattcccag aagtccacag 2220
gacgcacagc ccaggccaca gccagggctc cacggggcgc ccttgtctca gtcattgctg 2280
ttgtatgttc gtgctggagt tttgttggtg tgaaaataca cttatttcag ccaaaacata 2340
ccatttctac acctcaatcc tccatttgct gtactctttg ctagtaccaa aagtagactg 2400
attacactga ggtgaggcta caaggggtgt gtaaccgtgt aacacgtgaa ggcaatgctc 2460
acctcttctt taccagaacg gttctttgac cagcacatta acttctggac tgccggctct 2520
agtacctttt cagtaaagtg gttctctgcc tttttactat acagcatacc acgccacagg 2580
gttagaacca acgaagaaaa taaaatgagg gtgccagct tataagaatg gtgtagggg 2640
gatgagcatg ctgtttatga acggaaatca tgatttcctt tgtagaaagt gaggctcaga 2700
ttaaatttta gaatattttc taaatgtctt tttcacaatc atgtactggg aaggcaattt 2760
catactaaac tgattaaata atacatttat aatctacaac tgtttgact tacagctttt 2820
tttgtaaata taaactataa tttattgtct attttatatc tgttttgctg taacattgaa 2880
ggaaagacca gacttttaa aaaaaagagt ttatttagaa agtatcatag tgtaaacaaa 2940
caaattgtac cactttgatt ttcttggaat acaagactcg tgatgcaaag ctgaagttgt 3000
gtgtacaaga ctcttgacag ttgtgcttct ctaggagggt gggttttttt aaaaaagaa 3060
ttatctgtga accatacgtg attaataaag atttccttta aggca 3105

<210> 11
<211> 431
5 <212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 11

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

10

ES 2 447 516 T3

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

ES 2 447 516 T3

aaacatgagc agcatatggc ttttgatcag tttttcagtg gcagcatcca atgaacaaga 1620
 tcctacaagc tgtgcaggca aaacctagca ggaaaaaaaa acaacgcata aagaaaaatg 1680
 gccgggccag gtcattggct ggaagtctc agccatgcac ggactcgttt ccagaggtaa 1740
 ttatgagcgc ctaccagcca ggccaccag ccgtagggagg aagggggcgt ggcaaggggt 1800
 gggcacattg gtgtctgtgc gaaaggaaaa ttgaccgga agttcctgta ataaatgtca 1860
 caataaaacg aatgaatgaa aaaaaaaaaa aaaaaa 1896

<210> 13
 <211> 501
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

5

<400> 13

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

10

ES 2 447 516 T3

Ser Ala Asn Asn Val Val Tyr Lys Gln Tyr Glu Asp Met Val Val Glu
 485 490 495

Ser Cys Gly Cys Arg
 500

<210> 14
 <211> 2383
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 14

ctccttcaag ccctcagtca gttgtgcagg agaaaggggg cggttggctt tctcctttca 60
 agaacgagtt attttcagct gctgactgga gacggtgcac gtctggatac gagagcattt 120
 ccactatggg actggataca aacacacacc cggcagactt caagagtctc agactgagga 180
 gaaagccttt ccttctgctg ctactgctgc tgccgctgct tttgaaagtc cactcctttc 240
 atggtttttc ctgccaacc agaggcacct ttgctgctgc cgctgttctc tttggtgtca 300
 ttcagcggct ggccagagga tgagactccc caaactcctc actttcttgc tttggtacct 360
 ggcttggctg gacctggaat tcatctgcac tgtgttgggt gccctgact tgggccagag 420
 accccagggg accaggccag gattggccaa agcagaggcc aaggagaggc cccccctggc 480
 ccggaacgtc ttcaggccag ggggtcacag ctatggtggg ggggccacca atgccaatgc 540
 cagggcaaag ggaggcaccg ggcagacagg aggcctgaca cagcccaaga aggatgaacc 600
 caaaaagctg cccccagac cgggcgggcc tgaacccaag ccaggacacc ctccccaaac 660
 aaggcaggct acagcccgga ctgtgacccc aaaaggacag cttcccggag gcaaggcacc 720
 cccaaaagca ggatctgtcc ccagctcctt cctgctgaag aaggccaggg agcccgggcc 780
 cccacgagag cccaaggagc cgtttcgccc accccccatc acaccaccag agtacatgct 840
 ctcgctgtac aggacgctgt ccgatgctga cagaaagga ggcaacagca gcgtgaagtt 900
 ggaggctggc ctggccaaca ccatcaccag ctttattgac aaagggaag atgaccgagg 960
 tcccgtggtc aggaagcaga ggtacgtgtt tgacattagt gccctggaga aggatgggct 1020
 gctggggggc gagctgcgga tcttgcggaa gaagccctcg gacacggcca agccagcggc 1080
 ccccggaggc gggcgggctg cccagctgaa gctgtccagc tgccccagcg gccggcagcc 1140
 ggctccttg ctggatgtgc gctccgtgcc aggcctggac ggatctggct gggagggtgtt 1200
 cgacatctgg aagctcttcc gaaactttaa gaactcggcc cagctgtgcc tggagctgga 1260
 ggcttggaa cggggcaggg ccgtggacct ccgtggcctg ggcttcgacc gcgccgccg 1320
 gcaggctcac gagaaggccc tgttcctggt gtttggccgc accaagaaac gggacctggt 1380
 ctttaatgag attaaggccc gctctggcca ggacgataag accgtgtatg agtacctggt 1440
 cagccagcgg cgaaaacggc gggccccact ggccactcgc cagggcaagc gaccagcaa 1500
 gaaccttaag gctcgtgca gtcggaaggc actgcatgct aacttcaagg acatgggctg 1560
 ggacgactgg atcatcgcac cccttgagta cgaggctttc cactgagagg ggctgtgcga 1620

10

ES 2 447 516 T3

gttcccattg cgctcccacc tggagcccac gaatcatgca gtcattccaga ccctgatgaa 1680
ctccatggac cccgagtcca caccacccac ctgctgtgtg cccacgcggc tgagtcccat 1740
cagcatcctc ttcattgact ctgccaacaa cgtgggtgat aagcagtatg aggacatggt 1800
cgtggagtcg tgtggtgca ggtagcagca ctggccctct gtcttcctgg gtggcacatc 1860
ccaagagccc cttcctgcac tcctggaatc acagaggggt caggaagctg tggcaggagc 1920
atctacacag cttgggtgaa aggggattcc aataagcttg ctgctctct gagtgtgact 1980
tgggctaaag gccccctttt atccacaagt tcccctggct gaggattgct gcccgctgc 2040
tgatgtgacc agtggcaggc acaggtccag ggagacagac tctgaatggg actgagtccc 2100
aggaaacagt gctttccgat gagactcagc ccaccatttc tcctcacctg ggccttctca 2160
gcctctggac tctcctaagc acctctcagg agagccacag gtgccactgc ctcctcaaat 2220
cacatttgtg cctggtgact tcctgtccct gggacagttg agaagctgac tgggcaagag 2280
tgggagagaa gaggagaggg cttggataga gttgaggagt gtgaggctgt tagactgtta 2340
gatttaaag tatattgatg agataaaaag caaaactgtg cct 2383

<210> 15
<211> 455
5 <212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 15

Met Asp Thr Pro Arg Val Leu Leu Ser Ala Val Phe Leu Ile Ser Phe
1 5 10 15
Leu Trp Asp Leu Pro Gly Phe Gln Gln Ala Ser Ile Ser Ser Ser Ser
20 25 30
Ser Ser Ala Glu Leu Gly Ser Thr Lys Gly Met Arg Ser Arg Lys Glu
35 40 45
Gly Lys Met Gln Arg Ala Pro Arg Asp Ser Asp Ala Gly Arg Glu Gly
50 55 60
Gln Glu Pro Gln Pro Arg Pro Gln Asp Glu Pro Arg Ala Gln Gln Pro
65 70 75 80
Arg Ala Gln Glu Pro Pro Gly Arg Gly Pro Arg Val Val Pro His Glu
85 90 95
Tyr Met Leu Ser Ile Tyr Arg Thr Tyr Ser Ile Ala Glu Lys Leu Gly
100 105 110
Ile Asn Ala Ser Phe Phe Gln Ser Ser Lys Ser Ala Asn Thr Ile Thr
115 120 125
Ser Phe Val Asp Arg Gly Leu Asp Asp Leu Ser His Thr Pro Leu Arg
130 135 140

10

ES 2 447 516 T3

Arg Gln Lys Tyr Leu Phe Asp Val Ser Met Leu Ser Asp Lys Glu Glu
145 150 155 160

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

Trp Gly Pro Pro Ala Gly Pro Leu His Val Gln Leu Phe Pro Cys Leu
180 185 190

Ser Pro Leu Leu Leu Asp Ala Arg Thr Leu Asp Pro Gln Gly Ala Pro
195 200 205

Pro Ala Gly Trp Glu Val Phe Asp Val Trp Gln Gly Leu Arg His Gln
210 215 220

Pro Trp Lys Gln Leu Cys Leu Glu Leu Arg Ala Ala Trp Gly Glu Leu
225 230 235 240

Asp Ala Gly Glu Ala Glu Ala Arg Ala Arg Gly Pro Gln Gln Pro Pro
245 250 255

Pro Pro Asp Leu Arg Ser Leu Gly Phe Gly Arg Arg Val Arg Pro Pro
260 265 270

Gln Glu Arg Ala Leu Leu Val Val Phe Thr Arg Ser Gln Arg Lys Asn
275 280 285

Leu Phe Ala Glu Met Arg Glu Gln Leu Gly Ser Ala Glu Ala Ala Gly
290 295 300

Pro Gly Ala Gly Ala Glu Gly Ser Trp Pro Pro Pro Ser Gly Ala Pro
305 310 315 320

Asp Ala Arg Pro Trp Leu Pro Ser Pro Gly Arg Arg Arg Arg Arg Thr
325 330 335

Ala Phe Ala Ser Arg His Gly Lys Arg His Gly Lys Lys Ser Arg Leu
340 345 350

Arg Cys Ser Lys Lys Pro Leu His Val Asn Phe Lys Glu Leu Gly Trp
355 360 365

Asp Asp Trp Ile Ile Ala Pro Leu Glu Tyr Glu Ala Tyr His Cys Glu
370 375 380

Gly Val Cys Asp Phe Pro Leu Arg Ser His Leu Glu Pro Thr Asn His
385 390 395 400

Ala Ile Ile Gln Thr Leu Met Asn Ser Met Asp Pro Gly Ser Thr Pro
405 410 415

ES 2 447 516 T3

Pro Ser Cys Cys Val Pro Thr Lys Leu Thr Pro Ile Ser Ile Leu Tyr
 420 425 430

Ile Asp Ala Gly Asn Asn Val Val Tyr Lys Gln Tyr Glu Asp Met Val
 435 440 445

Val Glu Ser Cys Gly Cys Arg
 450 455

<210> 16
 <211> 3716
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 16

cccgaggagc cgggccccgg ccgctgtcca gccgctccgt gccccgcgcg tcctgcgccg 60
 ccgccaccgc ctctgggga gacgcagcca cttgcccgcc atggatactc ccagggtcct 120
 gctctcggcc gtcttcctca tcagttttct gtgggatttg cccggtttcc agcaggcttc 180
 catctcatcc tctctgctgt ccgccgagct gggttccacc aagggcagtc gaagccgcaa 240
 ggaaggcaag atgcagcggg cgccgcgcga cagtgcgcg ggccgggagg gccaggaacc 300
 acagccgcgg cctcaggacg aacccccggg tcagcagccc cgggcgcagg agccgccagg 360
 caggggtccg cgctggtg cccacgagta catgctgtca atctacagga cttactccat 420
 cgctgagaag ctgggcatca atgccagctt tttccagtct tccaagtcgg ctaatacgat 480
 caccagcttt gtagacagg gactagacga tctctcgcac actcctctcc ggagacagaa 540
 gtatttgttt gatgtgtcca tgctctcaga caaagaagag ctggtgggcg cggagctgcg 600
 gctctttcgc caggcgcct cagcgcctg ggggccacca gccgggccg tccacgtgca 660
 gctcttcct tgctttcgc ccctactgct ggacgcgcg accctggacc cgcagggggc 720
 gccgcccggc ggctgggaag tcttcgacgt gtggcagggc ctgcgccacc agccctggaa 780
 gcagctgtgc ttggagctgc gggccgcatg gggcgagctg gacgccgggg aggccgaggc 840
 gcgcgcgcgg ggaccccagc aaccgccgcc cccggacctg cggagtctgg gcttcggccg 900
 gaggggtgagg cctccccagg agcgggccct gctggtggtta ttcaccagat cccagcgcaa 960
 gaacctgttc gcagagatgc gcgagcagct gggctcggcc gaggctgagg gcccgggcgc 1020
 gggcgccgag gggtcgtggc cgccgccgtc gggcgccccg gatgccaggc cttggctgcc 1080
 ctcgcccggc cgccggcggc ggcgcacggc cttcgccagt cgccatggca agcggcacgg 1140
 caagaagtcc aggctacgct gcagcaagaa gcccctgcac gtgaacttca aggagctggg 1200
 ctgggacgac tggattatcg cgcccctgga gtacgaggcc tatcactgag aggggtgatg 1260
 cgacttcccg ctgcgctcgc acctggagcc caccaaccac gccatcatcc agacgctgat 1320
 gaactccatg gacccccgct ccacccccgc cagctgctgc gtgcccacca aattgactcc 1380
 catcagcatt ctatacatcg acgcgggcaa taatgtggtc tacaagcagt acgaggacat 1440
 ggtggtggag tcgtgaggct gcaggtagcg gtgcctttcc cgccgccttg gcccggaacc 1500

5

10

ES 2 447 516 T3

aaggtgggcc aaggtccgcc ttgcagggga ggcctggctg cagagaggcg gaggaggaag 1560
ctggcgctgg gggaggctga gggtgagggga acagcctgga tgtgagagcc ggtgggagag 1620
aagggagcgc agccttccca gtaacttcta cctgccagcc cagagggaaa tatggatttt 1680
cacaccttgc ctggccaccc tggaaaaaca agccaaggag gatttctttt gttctgtttt 1740
ctctctctct ctctctctct ctctctctct ctctctctct ctctctatta ctgtggcttt 1800
ggatttcctt atgtgtctta caggctttga tagaagggga ggggaggaga gatgcatacc 1860
cgtttctcaa ctgctccatg gattgaaaaa ataacagttt aaaaaggga acaatgtggg 1920
aggaagaatc accgttgacg catcttgatt tggttggtt ttacatgtgt aaagaagggtg 1980
gggtctctgg ccatgtcata gcccatgtct tgtgccctcc cacacagaaa gtgttagata 2040
gggaaattgg caaaaagaat agttaagtca ggaatggtcc tgcctataga agagctttga 2100
gagagggtggg cccacgggtg cccctctcac ccatttgtgt actctgtgag tttaccagct 2160
ctgccctggc ctctttcggg accaggaact ggcaaccttc atctcactcc tgagggccca 2220
ggtctctgcc ttcattgttg ctttttctgg tgggggcaag gggagctggt atggatggaa 2280
tgacaagaat tagtccaat ggaacccctt gaaggataat gagaaccac aaggcctgcc 2340
tctgactggg gctgacacgg aggtgcatta gcccaggctg gaggtagccc acccaaatgc 2400
cctttctgat tctaattgat ttctttcaac agaatttggc aaaattcaga catgcacttc 2460
taaggggaag gtgattttcc agttcaaaaa aatgggcagg agtggggaac aaaacaatta 2520
acgtaagagc taaaaggag ggaaggaa ccaagaagta gaaggagtcc catcaggagg 2580
gaagatggtg ggcctcaggg aggatgggga tcaagggaca ggccaggagc caggagtggg 2640
gaagggaggg atgaaagggg acacaagtcc ctgtctctga agtttcttta aaatctgagt 2700
tccctcccct ctctttgaca ttcctgaaag attaccagcc agcaatagcc cagggtccc 2760
ccaaaagaat tggttcagat tgtaattatc agttaggcaa tgtttttaa acttagtaat 2820
gagaaactgt gaaaagagcc aagtgttaca ttgagcttg ggtgggagat ggggaacagg 2880
cagtgaggaa ggagacaggg gtggaattcg tcttctggga ggaagctgga gagagcacag 2940
tgaaattgaa atacccattc ccagatagtc aaaaacatga actttcccc agcctgcacc 3000
agtattgttt tcaaacattg cccatgagta ggccctttga agagttagct tcctcctcat 3060
ctttgactat aaaattgttt aatcaatgga atttgtacca gcctttttaa agttttagt 3120
ttttcctaag tgattttgct ctcttccaat ctaaacctgt tgcttgttt gttcagagaa 3180
ctacaaactg tcaaagaaag ggtggggatg ataagaaatg ctaataataa aatgctaagt 3240
gaaaaaaga cttggccagg agaataatt taaaatgcac atttgctttg gatgcactgt 3300
tgttctgtta aggctgtata tatttgttta ttaagggtga ctgaaagtgc aaagaggaaa 3360
tggacagcat gcaattcatc ctaatgtaca aaacgttata tgcactcaa tgttataatt 3420
tctaataatt ttaaagttaa tattcgagtt gtacaaagtt aagcattaat cagatatttc 3480
atTTTTcat aatgttacca ttttcttaa tattattaca aaattttaag tctgtctaatt 3540
ggagagtttt ttttaaactg tctacctcat ataatacaag tattttacaac gctaaagtta 3600

ES 2 447 516 T3

ccagagggtca atgaataatc aaaacatttt ttacagtaca cctttcctgg atgatatgca 3660
 atcgaatgct atattattaa acgcattttt ctccttatta aaaaaaaaaa aaaaaa 3716

<210> 17
 <211> 450
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 17

5

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

10

ES 2 447 516 T3

Arg Pro Pro Arg Ala Phe Cys Leu Leu Leu Arg Ala Val Ala Gly Pro
225 230 235 240

Val Pro Ser Pro Leu Ala Leu Arg Arg Leu Gly Phe Gly Trp Pro Gly
245 250 255

Gly Gly Gly Ser Ala Ala Glu Glu Arg Ala Val Leu Val Val Ser Ser
260 265 270

Arg Thr Gln Arg Lys Glu Ser Leu Phe Arg Glu Ile Arg Ala Gln Ala
275 280 285

Arg Ala Leu Gly Ala Ala Leu Ala Ser Glu Pro Leu Pro Asp Pro Gly
290 295 300

Thr Gly Thr Ala Ser Pro Arg Ala Val Ile Gly Gly Arg Arg Arg Arg
305 310 315 320

Arg Thr Ala Leu Ala Gly Thr Arg Thr Ser Gln Gly Ser Gly Gly Gly
325 330 335

Ala Gly Arg Gly His Gly Arg Arg Gly Arg Ser Arg Cys Ser Arg Lys
340 345 350

Pro Leu His Val Asp Phe Lys Glu Leu Gly Trp Asp Asp Trp Ile Ile
355 360 365

Ala Pro Leu Asp Tyr Glu Ala Tyr His Cys Glu Gly Leu Cys Asp Phe
370 375 380

Pro Leu Arg Ser His Leu Glu Pro Thr Asn His Ala Ile Ile Gln Thr
385 390 395 400

Leu Leu Asn Ser Met Ala Pro Asp Ala Ala Pro Ala Ser Cys Cys Val
405 410 415

Pro Ala Arg Leu Ser Pro Ile Ser Ile Leu Tyr Ile Asp Ala Ala Asn
420 425 430

Asn Val Val Tyr Lys Gln Tyr Glu Asp Met Val Val Glu Ala Cys Gly
435 440 445

Cys Arg
450

<210> 18
<211> 1994
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 18

5 ctttgaggcc gccgggagca tcctgtggcc tctctctgcg cggccacccg gccgcggcgc 60
10 gaagcggctc ggagggcgag cccttcgcgc gccccaactc tgccgccccg ttcccggcat 120

ES 2 447 516 T3

tgggaaccag ggcagggagg gggcgggtgt ttctctgcgg gggagtgggg aggaagctgg 180
 gcgggtgcgc gcggtgcccc gagcctggaa ccacggaggg cgcgttggtc ttgggcggat 240
 ggagggggtg tcgactgcc gcggggaggc gtgtcgggag gctggggcca gtggcagtcg 300
 cttggcgagg gtgggggctg agcgtgcgg tgggaggagg cggctccggc cctggtctcc 360
 actctaggcc ggggtggggg gcgcatagcg gccgcggag ctttcagcag ggggcgctgc 420
 tccgggctgt gggcgggggt ggggtgggcc aggagggggg gccgcgggct ggccgcgcac 480
 acttccccca ttattaaaca ctatgttcaa aaggcgcggg gggacttccc ggagccacgg 540
 agcccgcgc gcccgcccgc ccggcccacg gagcccatgg acctgagcgc cggccgcgcg 600
 ctgtgccttt ggctgctgag cgctgcccgc ccccgcgacg ggctggaagc ggccgcccgtg 660
 ctgcgagcgg cgggggctgg gccggtccgg agcccagggg gcggcggcgg cggcggcggc 720
 gggggcgga ctcttgcca ggctgcgggc gccgcggctg tcccggccgc cgcggttccc 780
 cgggcccgc ccgcgcgcgc cggcgcgggc tccggcttca ggaacggctc ggtggtgccg 840
 caccattca tgatgtcgt ttaccggagc ctggccggga gggctccggc cggggcagcc 900
 gctgtctccg cctcgggcca tggctgcgcg gacacgatca ccggcttcac agaccaggcg 960
 accaagacg aatcggcagc cgaaacaggc cagagcttcc tgttcgacgt gtccagcctt 1020
 aacgacgag acgaggtggt gggtgccgag ctgcgcgtgc tgcgccgggg atctccagag 1080
 tcgggcccag gcagctggac ttctccgccc ttgctgctgc tgtccacgtg cccgggcgcc 1140
 gcccgagcgc cagcctgct gtactcgcgg gcagctgagc ccctagtcgg tcagcgtgg 1200
 gaggcgttcg acgtggcga cggcatgagg cggcaccgtc gtgaaccgcg cccccccgc 1260
 gcgttctgcc tcttgctgcg cgcagtgga gggccggtgc cgagcccgtt ggcactgcgg 1320
 cggctgggct tcggctggcc gggcggaggg ggctctgcgg cagaggagcg cgcggtgcta 1380
 gtcgtctcct cccgcacgca gaggaaagag agcttattcc gggagatccg cgcccagccc 1440
 cgcgcgctcg gggccgctct ggcctcagag ccgctgccc acccaggaac cggcaccgcg 1500
 tcgccaaggg cagtcattgg cggccgcaga cggaggagga cggcgttggc cgggacgcgg 1560
 acatcgcagg gcagcggcgg gggcgcgggc cggggccacg ggcgcagggg ccggagcccgc 1620
 tgcagccgca agccgttgca cgtggacttc aaggagctcg gctgggacga ctggatcatc 1680
 gcgccgctgg actacgagg gtaccactgc gagggccttt gcgacttccc tttgcttcg 1740
 cacctcagc ccaccaacca tgccatcatt cagacgctgc tcaactccat ggcaccagac 1800
 gcggcggcgg cctcctgctg tgtgccagcg cgcctcagcc ccatcagcat cctctacatc 1860
 gacgccgcca acaacgttgt ctacaagcaa tacgaggaca tggtggtgga ggcctgcggc 1920
 tgcaggtagc gcgagggccg gggagggggc agccacgcgg ccgaggatcc ccagctgatg 1980
 agcagcagcg ggcc 1994

REIVINDICACIONES

1. Una composición que comprende un cristal de BMP-7 para su uso en un método de implantación en el espacio inter-articular de una articulación, en el que dicha BMP-7 se libera en una forma de liberación sostenida para mejorar una lesión o enfermedad de la articulación.
- 5 2. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el cristal se forma *ex vivo*.
3. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde la composición está en una cantidad eficaz para mejorar: (a) una lesión o enfermedad del tejido esquelético seleccionada entre enfermedad ósea metabólica, osteoartritis, enfermedad osteocondral, artritis reumatoide, osteoporosis y enfermedad de Paget; (b) una lesión o enfermedad del tejido esquelético no mineralizado seleccionada entre osteoartritis, enfermedad osteocondral, enfermedad condral, artritis reumatoide, degeneración del cartílago inducida por trauma e inducida por inflamación, degeneración del cartílago relacionada con la edad, lesiones y enfermedades del cartílago articular, defectos de espesor total del cartílago, defectos superficiales del cartílago, secuelas de lupus eritematoso generalizado, secuelas de esclerodermia, regeneración de tejido periodontal, hernia y ruptura de discos intervertebrales, enfermedades degenerativas del disco intervertebral, osteocondrosis, y lesiones y enfermedades de ligamentos, tendones, cápsula sinovial, membrana sinovial y tejidos de menisco; (c) una lesión de tejido seleccionada entre degeneración del cartílago inducida por trauma e inducida por inflamación, lesiones del cartílago articular, defectos del espesor total del cartílago, defectos superficiales del cartílago, hernia y ruptura de discos intervertebrales, degeneración de los discos intervertebrales debida a una o varias lesiones, y lesiones de ligamento, tendones, cápsula sinovial, membrana sinovial y tejidos de menisco.
- 10
- 15
- 20 4. La composición para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el agente biológico se libera de una forma de liberación sostenida durante al menos aproximadamente 2-7 días.
5. La composición para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde dicha cantidad eficaz para el tratamiento de la osteoartritis es de aproximadamente 10 a aproximadamente 1000 microgramos.
- 25 6. La composición para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende adicionalmente un vehículo farmacéuticamente aceptable.
7. La composición para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende adicionalmente un agente modificador de la liberación.
- 30 8. La composición para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende adicionalmente un agente volumétrico.



FIGURA 1

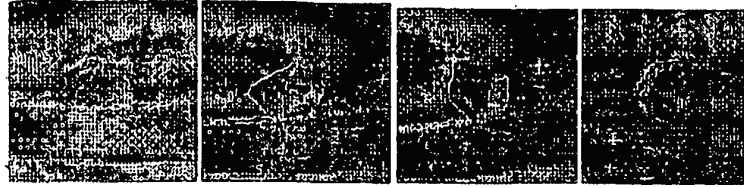


FIGURA 2

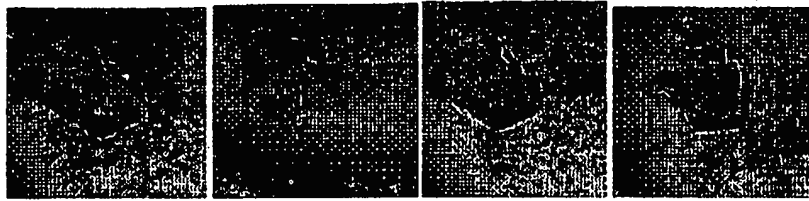


FIGURA 3

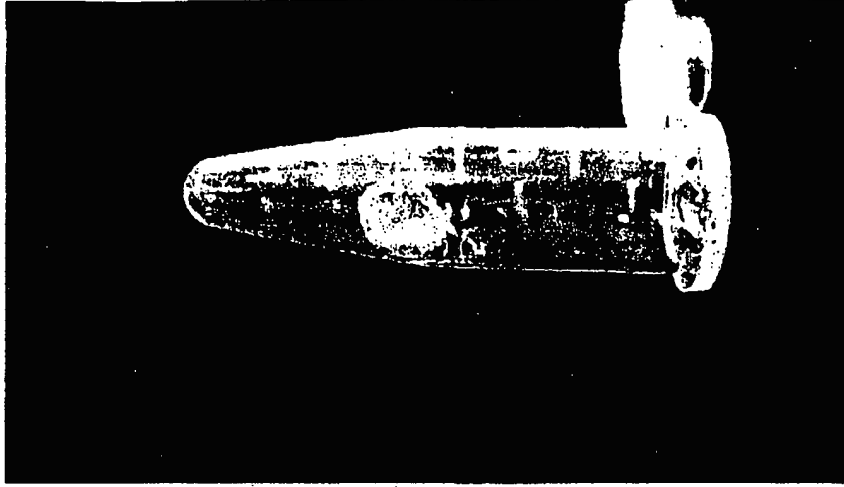


FIGURA 4

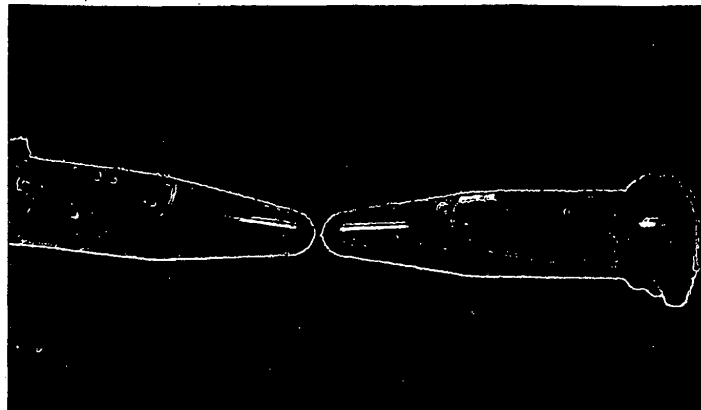


FIGURA 5