



**Assinado
Digitalmente**

REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL
MINISTÉRIO DA ECONOMIA
INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL

CARTA PATENTE Nº PI 0716983-3

O INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL concede a presente PATENTE DE INVENÇÃO, que outorga ao seu titular a propriedade da invenção caracterizada neste título, em todo o território nacional, garantindo os direitos dela decorrentes, previstos na legislação em vigor.

(21) Número do Depósito: PI 0716983-3

(22) Data do Depósito: 06/09/2007

(43) Data da Publicação do Pedido: 13/03/2008

(51) Classificação Internacional: C07K 16/10; A61K 39/145; C12N 5/10; C12N 15/09.

(30) Prioridade Unionista: EP 06120316.2 de 07/09/2006; US 60/842930 de 07/09/2006; EP 06120644.7 de 14/09/2006; EP 07111235.3 de 28/06/2007; EP 06125107.0 de 30/11/2006.

(54) Título: ANTICORPO HUMANO ISOLADO, OU FRAGMENTO DE LIGAÇÃO AO ANTÍGENO DO MESMO, CAPAZ DE RECONHECER E SE LIGAR A UM EPÍTOPO DA SUBUNIDADE HA2 DA PROTEÍNA HEMAGLUTININA DE INFLUENZA (HA), MOLÉCULA DE ÁCIDO NUCLEICO E COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA.

(73) Titular: JANSSEN VACCINES & PREVENTION B.V., Pessoa Jurídica. Endereço: NEWTONWEG 1, 2333 CP,, Leiden, HOLANDA(NL), Holandesa

(72) Inventor: EDWARD NORBERT VAN DEN BRINK; CORNELIS ADRIAAN DE KUIF; MARK THROSBY.

Código de Controle: FDF9A57ECDB147C9 C8EC6A01F325FC52

Prazo de Validade: 10 (dez) anos contados a partir de 26/03/2019, observadas as condições legais

Expedida em: 26/03/2019

Assinado digitalmente por:

Liane Elizabeth Caldeira Lage

Diretora de Patentes, Programas de Computador e Topografias de Circuitos Integrados

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "ANTICORPO HUMANO ISOLADO, OU FRAGMENTO DE LIGAÇÃO AO ANTÍGENO DO MESMO, CAPAZ DE RECONHECER E SE LIGAR A UM EPÍTOPO DA SUBUNIDADE HA2 DA PROTEÍNA HEMAGLUTININA DE INFLUENZA (HA), MOLÉCULA DE ÁCIDO NUCLEICO E COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA"

CAMPO DA INVENÇÃO

A invenção diz respeito a medicina. Em particular, a invenção diz respeito ao diagnóstico, profilaxia e/ou tratamento de uma infecção pelo vírus H5N1 da influenza.

FUNDAMENTOS DA INVENÇÃO

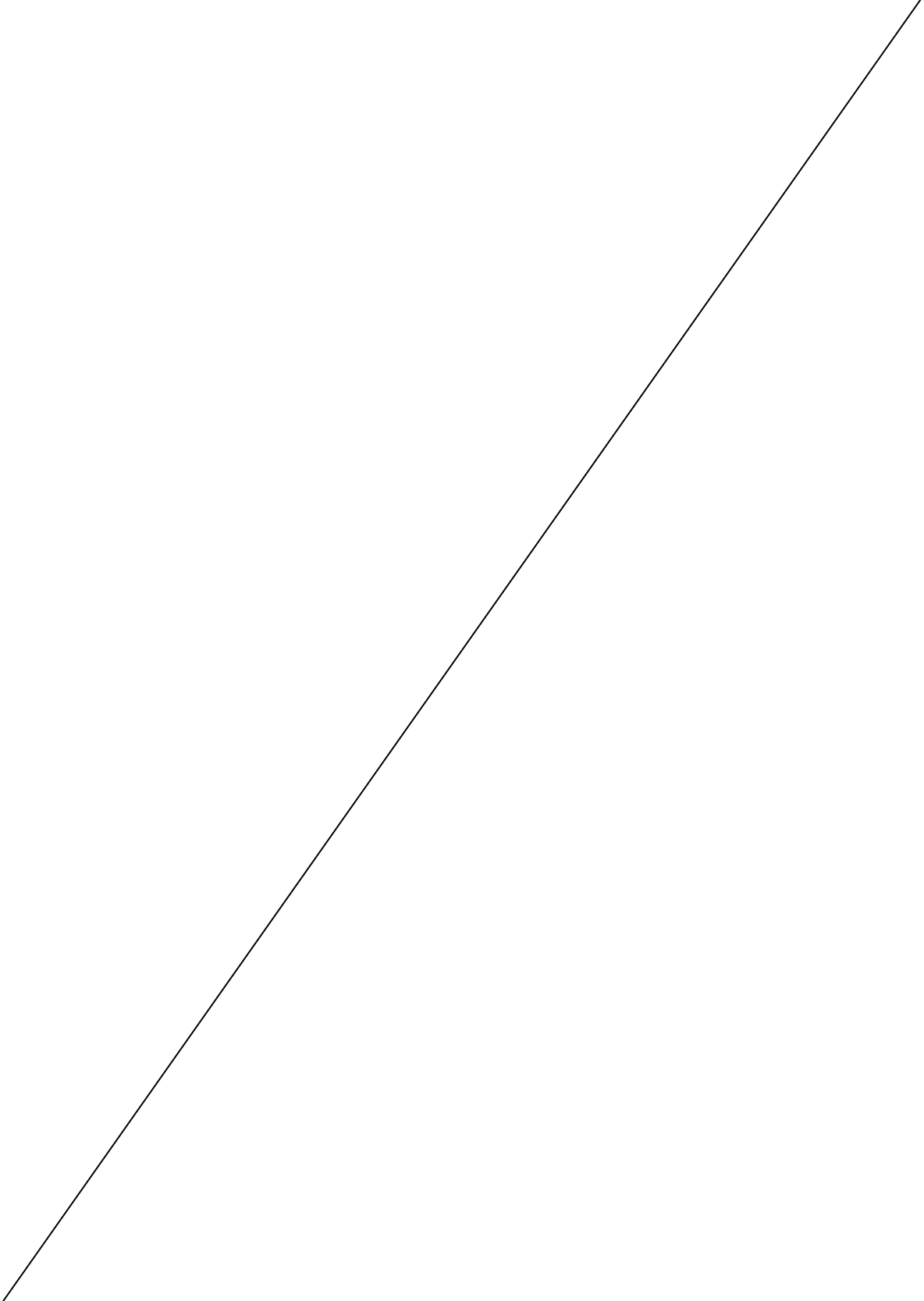
Os vírus da influenza consistem de três tipos, A, B e C. Os vírus da influenza A contaminam uma ampla variedade de pássaros e mamíferos, incluindo os seres humanos, cavalos, mamíferos marinhos, porcos, furões e galinhas. Nos animais, a maioria dos vírus da influenza A causa infecções localizadas brandas do trato respiratório e intestinal. Entretanto, existem cepas altamente patogênicas da influenza A, tal como a H5N1, que causam infecções sistêmicas nas aves domésticas nas quais a mortalidade pode alcançar os 100 %. Os animais contaminados com a influenza A frequentemente atuam como um reservatório para os vírus da influenza e certos subtipos têm sido apresentados como cruzando a barreira das espécies para os seres humanos.

Os vírus da Influenza A podem ser classificados em subtipos com base nas variações alélicas nas regiões antigênicas de dois genes que codificam as glicoproteínas superficiais, a saber, a hemaglutinina (HA) e a neuraminidase (NA), que são necessárias para a ligação viral e a liberação celular. Outras proteínas virais principais incluem a nucleoproteína, a proteína estrutural de nucleocapsídeo, as proteínas de membrana (M1 e M2), as polimerases (PA, PB e PB2) e as proteínas não estruturais (NS1 e

Segue-se folha 1a

NS2).

Presentemente, dezesseis subtipos de HA (H1 a H16) e nove variantes antigênicas NA (N1 a N9), são conhecidas no vírus da influenza A. Anteriormente, apenas três subtipos que circulavam nos seres humanos eram



Segue-se folha 2

conhecidos (H1N1, H1N2 e H3N2). Entretanto, nos anos recentes, o subtipo patogênico H5N1 da influenza A aviária tem sido relatado por cruzar a barreira das espécies e contaminar os seres humanos, como documentado em Hong Kong em 1997 e 2003, levando à morte vários pacientes.

5 Nos seres humanos, o vírus da influenza aviária contamina as células do trato respiratório, assim como do trato intestinal, do fígado, baço, rins e outros órgãos. Os sintomas da infecção da influenza aviária incluem febre, dificuldades respiratórias, incluindo a deficiência da respiração e a tosse, linfopenia, diarreia e dificuldades na regulação dos níveis de açúcar do
10 sangue. Ao contrário da influenza sazonal, o grupo mais em risco constituem-se dos adultos saudáveis que compõem a massa da população. Por causa da alta patogenicidade de certos subtipos da influenza A aviária, particularmente o H5N1, e de sua capacidade demonstrada de atravessar para contaminar os seres humanos, existe um risco significativo econômico e de saúde pública
15 associado com estas cepas virais, incluindo uma ameaça real epidêmica e pandêmica. A escala da ameaça é ilustrada pela influenza pandêmica de 1918 que matou mais de 50 milhões de pessoas.

 Presentemente, nenhuma vacina eficaz para a infecção da H5N1 se acha disponível, de modo que a imunoterapia passiva com
20 imunoglobulinas pode ser uma estratégia alternativa. O uso da imunização passiva durante a pandemia de 1918, segundo notícias, reduziu à metade o índice de mortes. Em virtude do seu efeito terapêutico benéfico nos seres humanos, existe assim uma necessidade de moléculas de ligação, preferivelmente moléculas de ligação humanas, capazes de neutralizar a
25 H5N1. A presente invenção fornece estas moléculas de ligação e mostra que elas podem ser usadas em medicina, em particular para o diagnóstico, prevenção e/ou tratamento das infecções da H5N1.

DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

Na Figura 1, a análise de imunomanchamento de diferentes

hemaglutininas (HAs) com o uso dos anticorpos CR6307 (parte da esquerda), CR6323 (parte central) e CR5111 (parte da direita) é apresentada. As HAs recombinantes foram submetidas à análise de redução de SDS-PAGE e à análise de imunomanchamento. Nas colunas 1, sHA de H5N1TV é mostrado; nas colunas 2, HA recombinante, subtipo H5 (A/Vietnam/1203/2004 (H5N1)) é mostrado; nas colunas 3, HA recombinante, subtipo H3 (A/Wyoming/3/2003(H3N2)) é mostrado; e nas colunas 4, HA recombinante, subtipo H1 (A/New Caledonia/20/99 (H1N1)) é mostrado. A posição em que HA0, HA1 e HA2 podem ser encontrados é também indicada.

10 A Figura 2 mostra a classificação clínica média por grupo de camundongos em um estudo (Exemplo 12), em que, um dia antes da infecção com o vírus da influenza H5N1, os camundongos foram profilaticamente tratados com três anticorpos monoclonais de H5N1 humanos CR6261, CR6323 e CR6325, em diferentes doses.

15 A Figura 3 mostra a mudança no peso corporal durante o tratamento profilático dos camundongos com anticorpos anti-H5N1 durante 21 dias após a infecção (Exemplo 12).

A Figura 4 mostra o número de camundongos sobreviventes nos diferentes grupos no estudo das Figuras 2 e 3 (Exemplo 12).

20 A Figura 5 mostra o índice de mortalidade em relação à dose dada dos anticorpos anti-H5N1 no estudo das Figuras 2 a 4 (Exemplo 12).

A Figura 6 mostra a classificação clínica média por grupo de camundongos em um estudo (Exemplo 13) em que os camundongos foram infectados com uma dose letal do vírus da influenza H5N1 e tratados em diferentes pontos do tempo após a infecção (4 horas, 1, 2 e 3 dias) com anticorpo monoclonal anti-H5N1 CR6261, ou um anticorpo CR2006 não relacionado (administrado no primeiro dia após a infecção).

A Figura 7 mostra o número de animais sobreviventes em cada grupo do estudo descrito na Figura 6. Todos os animais dos grupos 1 a 4,

exceto quanto a um animal do grupo 1, sobreviveram ao estudo inteiro até o vigésimo primeiro dia após a infecção. Todos os animais do grupo 5 haviam morrido no nono dia.

A Figura 8 mostra o peso corporal médio dos camundongos em cada grupo durante o estudo conforme descrito na Figura 6. A medição do peso corporal dos camundongos no grupo 5 foi interrompida no nono dia, já que todos os camundongos do grupo haviam morrido por aquele tempo. Todos os camundongos remanescentes nos grupos 1 a 4 alcançaram níveis normais de peso corporal no vigésimo primeiro dia após a infecção, embora dependesse do tempo de tratamento quão rápido cada grupo era recuperado.

A Figura 9 mostra o percentual de animais sobreviventes em cada grupo de um estudo em que os camundongos haviam sido infectados com uma dose letal do vírus da influenza H1N1 e tratados em diferentes pontos do tempo (1 dia antes da infecção, 1, 2 e 3 dias após a infecção) com anticorpo monoclonal anti-H5N1 CR6261, ou um anticorpo CR57 não relacionado (administrado no primeiro dia após a infecção).

A Figura 10 mostra o peso corporal médio dos camundongos em cada grupo durante o estudo, como descrito quanto à Figura 9. A medição do peso corporal dos camundongos no grupo 5 foi interrompida no dia 9, já que todos os camundongos naquele grupo haviam morrido por aquele tempo. Todos os camundongos remanescentes nos grupos 1 a 4 alcançaram níveis normais de peso corporal no vigésimo primeiro dia após a infecção, embora dependesse do tempo de tratamento quão rápido cada grupo era recuperado.

DESCRIÇÃO DA INVENÇÃO

Seguem abaixo definições dos termos usados na invenção.

Como usada neste relatório descritivo, a expressão “molécula de ligação” refere-se a uma imunoglobulina intacta incluindo anticorpos monoclonais, tais como os anticorpos monoclonais quiméricos, humanizados ou humanos, ou a um domínio de ligação a antígeno e/ou variável

compreendendo o fragmento de uma imunoglobulina que compete com a imunoglobulina intacta quanto à ligação específica ao parceiro de ligação da imunoglobulina, por exemplo H5N1. Independente da estrutura, o fragmento de ligação a antígeno se liga com o mesmo antígeno que é reconhecido pela imunoglobulina intacta. Um fragmento de ligação a antígeno pode compreender um peptídeo ou um polipeptídeo compreendendo uma sequência de aminoácidos de pelo menos 2, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 125, 150, 175, 200 ou 250 resíduos contíguos de aminoácidos da sequência de aminoácidos da molécula de ligação.

10 A expressão “molécula de ligação”, como aqui usada, inclui todas as classes e subclasses de imunoglobulina conhecidas na técnica. Dependendo da sequência de aminoácidos do domínio constante de suas cadeias pesadas, as moléculas de ligação podem ser divididas em cinco classes principais de anticorpos intactos: IgA, IgD, IgE, IgG e IgM, e vários
15 destes podem ser ainda divididos em subclasses (isótipos), por exemplo IgA1, IgA2, IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4.

Os fragmentos de ligação a antígenos incluem, inter alia, Fab, F(ab'), F(ab')₂, Fv, dAb, Fd, fragmentos da região determinante da complementaridade (CDR), anticorpos de cadeia única (scFv), anticorpos de
20 cadeia única bivalentes, anticorpos de fago de cadeia única, diacorpos, triacorpos, tetracorpos, (poli)peptídeos que contêm pelo menos um fragmento de uma imunoglobulina que seja suficiente para conferir ligação específica a antígeno ao (poli)peptídeo, etc. Os fragmentos acima podem ser produzidos sinteticamente ou por clivagem enzimática ou química das imunoglobulinas,
25 ou eles podem ser geneticamente engendrados por técnicas recombinantes de DNA. Os métodos de produção são bem conhecidos na técnica e são descritos, por exemplo, em *Antibodies: A Laboratory Manual*, Editado por: E. Harlow e D. Lane (1988), Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York, o qual fica aqui incorporado como referência. Uma

molécula de ligação ou seu fragmento de ligação a antígeno podem ter um ou mais sítios de ligação. Se houver mais do que um sítio de ligação, os sítios de ligação podem ser idênticos entre si ou eles podem ser diferentes.

A molécula de ligação pode ser uma molécula de ligação desnuda ou não conjugada, mas pode também fazer parte de um imunoconjugado. Uma molécula de ligação desnuda ou não conjugada refere-se a uma molécula de ligação que não seja conjugada, operativamente ligada ou de outra forma física ou funcionalmente associada com um componente efetor ou pólip, tal como, inter alia, uma substância tóxica, uma substância radioativa, um lipossoma, uma enzima. Será entendido que as moléculas de ligação desnudas ou não conjugadas não excluem as moléculas de ligação que tenham sido estabilizadas, multimerizadas, humanizadas ou de qualquer outra forma manipulada, de outra forma que não pela ligação de um componente efetor ou pólip. Consequentemente, todas as moléculas de ligação desnudas e não conjugadas pós-translacionalmente modificadas se acha por este meio aqui incluídas, incluindo quando as modificações sejam feitas no ambiente celular natural produtor das moléculas de ligação, por uma célula recombinante produtora das moléculas de ligação, e sejam introduzidas pela mão humana após a preparação inicial da molécula de ligação. Naturalmente, a expressão molécula de ligação desnuda ou não conjugada não exclui a capacidade da molécula de ligação de formar associações funcionais com as células efetoras e/ou as moléculas após a administração ao corpo, já que algumas de tais interações são necessárias de modo a exercer um efeito biológico. A falta do grupo efetor ou pólip associados é, portanto, aplicada por definição à molécula de ligação desnuda ou não conjugada in vitro, não in vivo.

Como aqui usada, a expressão “amostra biológica” inclui uma variedade de tipos de amostras, incluindo as amostras de origem biológica de sangue e de outros líquidos, as amostras de tecidos sólidas tais como um

espécime de biopsia ou culturas teciduais, ou células delas derivadas e a sua progênie. A expressão também inclui amostras que tenham sido manipuladas de qualquer forma após sua obtenção, tal como pelo tratamento com reagentes, solubilização ou enriquecimento por certos componentes, tais como

5 proteínas ou polinucleotídeos. A expressão inclui várias espécies de amostras clínicas obtidas de qualquer espécie, e também inclui células em cultura, sobrenadantes celulares e lisados celulares.

A expressão “regiões determinantes da complementaridade” (CDR), como aqui usada, significa sequências dentro das regiões variáveis

10 das moléculas de ligação, tais como as imunoglobulinas, que usualmente contribuem em uma grande extensão para o sítio de ligação a antígeno que é complementar na forma e na distribuição de carga ao epítipo reconhecido sobre o antígeno. As regiões CDR podem ser específicas para os epítopos lineares, epítopos descontínuos ou epítopos conformacionais das proteínas ou

15 dos fragmentos de proteínas, ou estão presentes sobre a proteína em sua conformação nativa ou, em alguns casos, presentes sobre as proteínas como desnaturadas, por exemplo por solubilização em SDS. Os epítopos também podem consistir de modificações pós-translacionais das proteínas.

O termo “deleção”, como aqui usado, denota uma mudança ou

20 na sequência de aminoácidos ou de nucleotídeos, em que um ou mais resíduos de aminoácidos ou de nucleotídeos, respectivamente, se acham ausentes em comparação com a precursora, frequentemente a molécula de ocorrência natural.

A expressão “sequência de ácidos nucleicos reguladores da

25 expressão”, como aqui usada, refere-se a sequências de polinucleotídeos necessárias e/ou para afetar a expressão de uma sequência codificadora operavelmente ligada em um organismo hospedeiro particular. As sequências de ácidos nucleicos reguladoras da expressão, tais como, inter alia, as sequências de iniciação apropriada da transcrição, de terminação, promotoras,

intensificadoras; as sequências repressoras ou ativadoras; sinais eficientes de processamento do RNA tais como os sinais de recombinação e de poliadenilação; sequências que estabilizam o mRNA citoplasmático; sequências que intensificam a eficiência de translação (por exemplo, os sítios de ligação ribossômica); sequências que intensificam a estabilidade protéica; e, quando desejável, sequências que intensificam a secreção protéica podem ser quaisquer sequências de ácidos nucleicos que apresente atividade no organismo hospedeiro de escolha e que podem ser derivadas das proteínas codificando genes, os quais sejam ou homólogos ou heterólogos ao organismo hospedeiro. A identificação e o emprego das sequências reguladoras da expressão são de rotina para a pessoa habilitada na técnica.

A expressão “variante funcional”, como aqui usada, refere-se a uma molécula de ligação que compreende uma sequência de nucleotídeos e/ou de aminoácidos a qual é alterada por um ou mais nucleotídeos e/ou aminoácidos em comparação com as sequências de nucleotídeos e/ou de aminoácidos da molécula de ligação precursora e que é ainda capaz de competir para a ligação ao parceiro de ligação, por exemplo H5N1, com a molécula de ligação precursora. Em outras palavras, as modificações na sequência de aminoácidos e/ou de nucleotídeos da molécula de ligação precursora não afetam ou alteram significativamente as características de ligação da molécula de ligação codificada pela sequência de nucleotídeos ou contendo a sequência de aminoácidos, isto é, a molécula de ligação é ainda capaz de reconhecer e ligar-se ao seu alvo. A variante funcional pode ter modificações conservativas de sequências, incluindo substituições, adições e deleções de nucleotídeos e de aminoácidos. Estas modificações podem ser introduzidas por técnicas padrão conhecidas na prática, tais como a mutagênese dirigida ao sítio e a mutagênese mediada por PCR aleatória, e podem compreender nucleotídeos e aminoácidos naturais, assim como não naturais.

As substituições conservativas de aminoácidos incluem aquelas em que o resíduo de aminoácido é substituído por um resíduo de aminoácido tendo propriedades estruturais ou químicas semelhantes. As famílias de resíduos de aminoácidos tendo cadeias laterais semelhantes foram

5 definidas na técnica. Estas famílias incluem aminoácidos com cadeias laterais básicas (por exemplo, lisina, arginina, histidina), cadeias laterais acídicas (por exemplo, ácido aspártico, ácido glutâmico), cadeias laterais polares não transformadas (por exemplo asparagina, glutamina, serina, treonina, tirosina, cisteína, triptofano), cadeias laterais não polares (isto é, glicina, alanina,

10 valina, leucina, isoleucina, prolina, fenilalanina, metionina), cadeias laterais beta-ramificadas (por exemplo, treonina, valina, isoleucina) e cadeias laterais aromáticas (por exemplo tirosina, fenilalanina, triptofano). Será claro ao técnico habilitado que outras classificações das famílias de resíduos de aminoácidos que não aquelas usadas acima, podem também ser empregadas.

15 Além disso, uma variante pode ter substituições não conservativas de aminoácidos, por exemplo a substituição de um aminoácido por um resíduo de aminoácido tendo diferentes propriedades estruturais ou químicas. Variações secundárias semelhantes podem também incluir deleções ou inserções de aminoácidos, ou ambas. A orientação quanto à determinação de

20 quais resíduos de aminoácidos podem ser substituídos, inseridos ou deletados sem abolir a atividade imunológica, pode ser encontrada com o uso de programas de computador bem conhecidos na técnica.

Uma mutação em uma sequência de nucleotídeos pode ser uma alteração única feita em um locus (uma mutação pontual), tal como mutações

25 de transição ou de transversão, ou alternativamente nucleotídeos múltiplos podem ser inseridos, deletados ou trocados em um locus único. Além disso, uma ou mais alterações podem ser feitas em qualquer número de locais dentro de uma sequência de nucleotídeos. As mutações podem ser realizadas por qualquer método adequado conhecido na técnica.

O termo “hospedeiro”, como aqui usado, refere-se a um organismo ou a uma célula dentro dos quais um vetor tal como um vetor de clonagem ou um vetor de expressão tenha sido introduzido. O organismo ou célula podem ser procarióticos ou eucarióticos. Deve ficar entendido que este termo se refere não apenas ao organismo ou à célula objeto particular, mas à progênie de um tal organismo ou célula também. Tendo em vista que certas modificações podem ocorrer nas gerações sucessivas por causa ou da mutação ou das influências ambientais, tal progênie podendo, de fato, não ser idêntica ao organismo ou célula precursora, mas acham-se ainda incluídas dentro do escopo do termo “hospedeiro” como usado neste relatório.

O termo “humano”, quando aplicado a moléculas de ligação como aqui definido, refere-se a moléculas que são ou diretamente derivadas de um ser humano, ou com base em uma sequência humana. Quando uma molécula de ligação é derivada ou baseia-se em uma sequência humana e é subsequentemente modificada, ela ainda deve ser considerada humana como usado na totalidade do relatório descritivo. Em outras palavras, o termo humano, quando aplicado às moléculas de ligação, intenta incluir moléculas de ligação tendo regiões variáveis e constantes derivadas de sequências de imunoglobulina da linha germinativa humana ou com base em regiões variáveis ou constantes que ocorram em um ser humano ou em linfócito humano e modificadas de alguma forma. Assim, as moléculas de ligação humanas podem incluir resíduos de aminoácidos não codificados por sequências de imunoglobulinas da linha germinativa humana, compreender substituições e/ou deleções (por exemplo, mutações introduzidas por exemplo por mutagênese aleatória ou específica do sítio in vitro, ou por mutação somática in vivo). “Com base em”, como aqui usado, refere-se à situação em que a sequência de ácido nucleico pode ser exatamente copiada de um gabarito, ou com mutações secundárias, tais como por métodos de PCR propensos a erros, ou sinteticamente produzida combinando o gabarito

exatamente ou com modificações secundárias. As moléculas semi-sintéticas com base nas sequências humanas são também consideradas como sendo humanas, como usado neste relatório.

O termo “inserção”, também conhecido como “adição”, denota uma mudança em uma sequência de aminoácidos ou de nucleotídeos, resultando na adição de um ou mais resíduos de aminoácidos ou de nucleotídeos, respectivamente, em comparação com a sequência precursora.

O termo “isolado”, quando aplicado às moléculas de ligação como aqui definidas, refere-se a moléculas de ligação que substancialmente são livres de outras proteínas ou polipeptídeos, particularmente livres de outras moléculas de ligação tendo diferentes especificidades antigênicas, e que são também substancialmente livres de outro material e/ou produtos químicos celulares. Por exemplo, quando as moléculas de ligação são recombinantemente produzidas, elas são de preferência substancialmente livres do meio de cultura, e quando as moléculas de ligação são produzidas por síntese química, elas são de preferência substancialmente livres de precursores químicos ou outros produtos químicos, isto é, elas são separadas dos precursores químicos ou outros produtos químicos que estejam envolvidos na síntese da proteína. O termo “isolado”, quando aplicado às moléculas de ácidos nucleicos codificando moléculas de ligação como aqui definido, refere-se às moléculas de ácido nucleico em que as sequências de nucleotídeos codificando as moléculas de ligação se acham livres de outras sequências de nucleotídeos, particularmente sequências de nucleotídeos codificando moléculas de ligação que ligam parceiros de ligação outros que não o H5N1. Além disso, o termo “isolado” refere-se a moléculas de ácido nucleico que são substancialmente separadas de outros componentes celulares que acompanham naturalmente a molécula de ácido nucleico nativa em seu hospedeiro natural, por exemplo ribossomas, polimerases ou sequências genômicas com as quais ele se acha naturalmente associado. Além disso, as

moléculas de ácido nucleico “isoladas”, tais como as moléculas de cDNA, podem ser substancialmente livres de outro material celular, ou meio de cultura, quando produzidas por técnicas recombinantes, ou substancialmente livres de precursores químicos ou outros produtos químicos quando quimicamente sintetizadas.

A expressão “anticorpo monoclonal”, como aqui usada, refere-se a uma preparação de moléculas de anticorpos de composição molecular única. Um anticorpo monoclonal apresenta uma especificidade e afinidade de ligação única quanto a um epítipo específico. Consequentemente, a expressão “anticorpo monoclonal humano” refere-se a um anticorpo apresentando uma especificidade de ligação única que possui regiões variáveis e constantes derivadas ou baseadas nas sequências de imunoglobulinas da linha germinativa humana, ou derivadas de sequências completamente sintéticas. O método de preparar o anticorpo monoclonal não é relevante.

A expressão “de ocorrência natural” como aqui usada, quando aplicada a um objeto, refere-se ao fato de que um objeto pode ser encontrado na natureza. Por exemplo, uma sequência de polipeptídeos ou polinucleotídeos que esteja presente em um organismo que possa ser isolada de uma fonte na natureza e que não tenha sido intencionalmente modificada pelo ser humano no laboratório, é de ocorrência natural.

A expressão “molécula de ácido nucleico”, como usada na presente invenção, refere-se a uma forma polimérica de nucleotídeos, e inclui filamentos de sentido e anti-sentido de RNA, cDNA, DNA genômicos, e formas sintéticas e polímeros mistos dos acima. Um nucleotídeo refere-se a um ribonucleotídeo, desoxinucleotídeo ou uma forma modificada de qualquer tipo de nucleotídeo. A expressão também inclui as formas de DNA de filamento único e filamento duplo. Além disso, um polinucleotídeo pode incluir qualquer um ou ambos os nucleotídeos de ocorrência natural e modificados ligados entre si por articulações de nucleotídeos de ocorrência

natural e/ou de ocorrência não natural. As moléculas de ácido nucleico podem ser modificadas química ou bioquimicamente, ou podem conter bases de nucleotídeo não naturais ou derivadas, como será facilmente observado por aqueles habilitados na técnica. Tais modificações incluem, por exemplo, rótulos, metilação, substituição de um ou mais dos nucleotídeos de ocorrência natural por um análogo, modificações inter-nucleotídeos tais como as articulações descarregadas (por exemplo, fosfonatos de metila, fosfotriésteres, fosforamidatos, carbamatos etc.), articulações carregadas (por exemplo, fosforotioatos, fosforoditioatos etc.), componentes pendentos (por exemplo, polipeptídeos), intercaladores (por exemplo, acridita, psoralén etc.), quelantes, alquilantes, e articulações modificadas (por exemplo os ácidos nucleicos alfa-anoméricos, etc.). A expressão acima inclui também qualquer conformação topológica, incluindo as conformações de filamento único, filamento duplo, parcialmente duplicadas, triplex, em grampo de cabelo, circular e de cadeado fechado. Também incluídas são as moléculas sintéticas que imitam os polinucleotídeos em sua capacidade de se ligarem a uma sequência projetada através da ligação de hidrogênio e outras interações químicas. Tais moléculas são conhecidas na técnica e incluem, por exemplo, aquelas em que as articulações de fosfato substituem as articulações peptídicas na estrutura da molécula. Uma referência a uma sequência de ácidos nucleicos inclui seu complemento, a menos que de outra forma especificado. Assim, uma referência a uma molécula de ácido nucleico tendo uma sequência particular deve ser entendida como incluindo seu filamento complementar, com sua sequência complementar. O filamento complementar também é útil, por exemplo, para a terapia anti-sentido, sondas de hibridização e iniciadores de PCR.

A expressão “operavelmente ligados” refere-se a dois ou mais elementos de sequência de ácidos nucleicos que comumente sejam fisicamente ligados e estejam em um relacionamento funcional um com o

outro. Por exemplo, um promotor é operavelmente ligado a uma sequência codificadora se o promotor for capaz de iniciar ou regular a transcrição ou a expressão de uma sequência codificadora, em cujo caso a sequência codificadora deve ser entendida como estando “sob o controle do” promotor.

5 Por “excipiente farmacêuticamente aceitável” denota-se qualquer substância inerte que seja combinada com uma molécula ativa tal como um medicamento, agente ou molécula de ligação, para preparar uma forma de dosagem agradável ou conveniente. O “excipiente farmacêuticamente aceitável” é um excipiente que seja não tóxico aos
10 receptores nas dosagens e concentrações empregadas, e seja compatível com os outros ingredientes da formulação compreendendo o medicamento, agente ou molécula de ligação. Os excipientes farmacêuticamente aceitáveis são amplamente aplicados na técnica.

A expressão “especificamente ligando”, como aqui usada, com
15 referência à interação de uma molécula de ligação, por exemplo um anticorpo, e seu parceiro de ligação, por exemplo um antígeno, significa que a interação é dependente da presença de uma estrutura particular, por exemplo um determinante antigênico ou epítipo, sobre o parceiro de ligação. Em outras palavras, o anticorpo preferivelmente liga ou reconhece o parceiro de ligação
20 mesmo quando o parceiro de ligação esteja presente em uma mistura de outras moléculas ou organismos. A ligação pode ser mediada por interações covalentes ou não covalentes, ou por uma combinação de ambos. Em ainda outras palavras, a expressão “especificamente ligando” significa ligando imuno-especificamente a um antígeno ou a um seu fragmento, e não ligando
25 imuno-especificamente a outros antígenos. Uma molécula de ligação que se ligue imuno-especificamente a um antígeno pode ligar-se a outros peptídeos ou polipeptídeos com menor afinidade, como determinado, por exemplo, pelos radioimunoensaios (RIA), ensaios imunoabsorvente ligado a enzima (ELISA), BIACORE, ou outros ensaios conhecidos na técnica. As moléculas de ligação

ou seus fragmentos que imuno-especificamente se ligam a um antígeno podem ser de reação cruzada com antígenos relacionados. Preferivelmente, as moléculas de ligação ou seus fragmentos que imuno-especificamente se ligam a um antígeno, não têm reação cruzada com outros antígenos.

5 Uma “substituição”, como aqui usada, denota a substituição de um ou mais aminoácidos ou nucleotídeos por diferentes aminoácidos ou nucleotídeos, respectivamente.

 A expressão “quantidade terapêuticamente eficaz” refere-se a uma quantidade da molécula de ligação como definida neste relatório, que
10 seja eficaz para prevenir, melhorar e/ou tratar de uma condição resultante de uma infecção pelo H5N1.

 O termo “tratamento” refere-se a tratamento terapêutico, bem como às medidas profiláticas ou preventivas para curar ou deter, ou pelo menos retardar, o progresso da doença. Aqueles em necessidade de tratamento
15 incluem aqueles já infligidos com uma condição resultante da infecção com H5N1, bem como aqueles em que a infecção com o H5N1 deva ser prevenida. Os pacientes parcial ou totalmente recuperados da infecção com H5N1 também podem estar em necessidade do tratamento. A prevenção inclui inibir ou reduzir a dispersão do H5N1 ou inibir ou reduzir o início, desenvolvimento
20 ou progressão de um ou mais dos sintomas associados com a infecção pelo H5N1.

 O termo “vetor” denota uma molécula de ácido nucleico dentro da qual uma segunda molécula de ácido nucleico pode ser introduzida para introdução em um hospedeiro em que ela será replicada e, em alguns
25 casos, expressa. Em outras palavras, um vetor é capaz de transportar uma molécula de ácido nucleico à qual ele tenha sido ligado. A clonagem, bem como os vetores de expressão, são considerados pelo termo “vetor”, como aqui usado. Os vetores incluem, porém sem limitar, os plasmídeos, cosmídeos, cromossomas bacterianos artificiais (BAC) e cromossomas

artificiais de leveduras (YAC) e vetores derivados de bacteriófagos ou vírus de plantas ou de animais (incluindo o ser humano). Os vetores compreendem uma origem de replicação reconhecida pelo hospedeiro proposto e, no caso dos vetores de expressão, o promotor e outras regiões reguladoras reconhecidas pelo hospedeiro. Um vetor contendo uma segunda molécula de ácido nucleico é introduzida em uma célula mediante transformação, transfecção, ou mediante o uso de mecanismos de entrada viral. Certos vetores são capazes de replicação autônoma em um hospedeiro em que eles sejam introduzidos (por exemplo, vetores tendo uma origem bacteriana de replicação podem replicar nas bactérias). Outros vetores podem ser integrados no genoma de um hospedeiro após introdução no hospedeiro, e por esse meio são replicados junto com o genoma hospedeiro.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

A invenção fornece moléculas de ligação humanas capazes de especificamente ligar-se ao vírus H5N1 da influenza e apresentar atividade de neutralização contra o H5N1. A invenção também fornece moléculas de ligação que se ligam a um epítipo na proteína de hemaglutinina que é dividida entre os subtipos da influenza e, portanto, diz respeito às moléculas de ligação de reação cruzada entre os subtipos com base na influenza H5, H1, H2-, H6- e H9, tais como o H5N1, H1N1 e outras cepas da influenza que contêm a proteína HA com estes epítipos particulares. A invenção também diz respeito a moléculas de ácido nucleico codificando pelo menos a região de ligação das moléculas de ligação humanas. A invenção ainda leva em conta o uso das moléculas de ligação humanas da invenção na profilaxia e/ou tratamento de um paciente tendo, ou estando em risco de desenvolver, uma infecção de H5N1. Além disso, a invenção diz respeito ao uso das moléculas de ligação humanas da invenção no diagnóstico/detecção do H5N1.

DESCRIÇÃO DETALHADA

Em um primeiro aspecto, a presente invenção inclui moléculas

de ligação capazes de especificamente ligar-se ao vírus A da influenza, em particular ao subtipo H5N1 do vírus A da influenza. Preferivelmente, as moléculas de ligação são moléculas de ligação humanas. Preferivelmente, as moléculas de ligação da invenção apresentam atividade de neutralização

5 contra o subtipo H5N1 do vírus A da influenza. Em um outro aspecto, as moléculas de ligação da invenção são capazes de especificamente se ligar e/ou ter atividade de neutralização contra diferentes cepas do vírus H5N1 da influenza. Estas cepas podem ser um membro das cepas do vírus H5N1 da influenza do clado 1, clado 2 ou clado 3. Análises filogenéticas dos genes HA

10 do cruzamento dos H5N1 2004 e 2005 apresentaram duas diferentes linhagens de genes HA, denominadas clados 1 e 2. Os vírus em cada um destes clados são distribuídos em regiões geográficas não sobrepostas da Ásia. Os vírus H5N1 da península da Indochina acham-se rigorosamente agrupados dentro do clado 1, enquanto os isolados do H5N1 de vários países vizinhos são

15 distintos dos isolados do clado 1 e pertencem ao clado 2 mais divergente. Os vírus H5N1 do clado 1 foram isolados dos seres humanos e dos pássaros no Vietnam, na Tailândia e no Camboja, mas apenas dos pássaros no Laos e na Malásia. Os vírus do clado 2 foram encontrados nos vírus isolados exclusivamente dos pássaros na China, na Indonésia, no Japão e na Coreia do

20 Sul. Os vírus isolados dos pássaros e seres humanos em Hong Kong em 2003 e em 1997 compõem os clados 1' (também categorizados no clado 1) e 3, respectivamente (ver o WHO Global Influenza Program Surveillance Network, 2005). As hemaglutininas dos clados diferem em suas sequências de aminoácidos. Exemplos de cepas do clado 1 incluem, sem limitar, A/Hong

25 Kong/213/03, A/Vietnam/1194/04, A/Vietnam/1203/04 e A/Thailand/1(KAN-1)/2004. Exemplos de cepas do clado 2 incluem, sem limitar, A/Indonesia/5/05, A/bar headed goose/Qinghai/1A/05, A/turkey/Turkey/1/05 e A/Anhui/1/05. Exemplos de cepas do clado 3 incluem, sem limitar, A/Hong Kong/156/97 e A/goose/Guangdong/1/96. Outras cepas podem ser

encontradas, por exemplo, em WHO Global Influenza Program Surveillance Network, 2005 e em

http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/guidelines/recommendationvaccine.pdf

Preferivelmente, as moléculas de ligação da invenção são capazes especificamente de ligação aos, e de atividade de neutralização contra, as cepas do clado 1, clado 2 e clado 3. As moléculas de ligação da invenção podem ser capazes de ligação específica aos vírus H5N1 da influenza que sejam viáveis, vivos e/ou infecciosos ou que estejam na forma inativada/atenuada. Os métodos para inativar/atenuar os vírus H5N1 da influenza são bem conhecidos na técnica e incluem, sem limitar, o tratamento com formalina, β -propiolactona (BPL), mertiolato e/ou luz ultravioleta.

As moléculas de ligação da invenção podem também ser capazes de ligação específica a um ou mais fragmentos do vírus H5N1 da influenza, tal como, inter alia, uma preparação de uma ou mais proteínas e/ou (poli)peptídeos derivados do subtipo H5N1 ou uma ou mais proteínas e/ou polipeptídeos recombinantemente produzidos de H5N1. Quanto aos métodos de tratamento e/ou prevenção das infecções de H5N1, as moléculas de ligação são preferivelmente capazes de ligação específica às proteínas de H5N1 acessíveis na superfície, tais como as glicoproteínas superficiais, a hemaglutinina (HA) e a neuraminidase (NA), que são necessárias para a ligação viral e liberação celular, ou proteínas das membranas (M1 e M2). Em uma forma de realização específica, as moléculas de ligação da invenção são capazes de ligar-se especificamente à molécula HA das cepas de H5N1. Elas podem ser capazes de ligação específica à subunidade HA1 e/ou HA2 da molécula HA. Elas podem ser capazes de ligação específica aos epítomos lineares ou estruturais e/ou conformacionais nas subunidades HA1 e/ou HA2 da molécula HA. A molécula HA pode ser purificada dos vírus ou produzida recombinantemente e isolada opcionalmente antes do uso. Alternativamente, a HA pode ser expressa sobre a superfície das células.

Para fins de diagnóstico, as moléculas de ligação podem também ser capazes de ligar-se especificamente às proteínas não presentes sobre a superfície do H5N1, incluindo a nucleoproteína, a proteína estrutural nucleocapsídeo, polimerases (PA, PB e PB2), e proteínas não estruturais (NS1 e NS2). A sequência de nucleotídeos e/ou de aminoácidos das proteínas de várias cepas de H5N1 pode ser encontrada no banco de dados do GenBank, NCBI Influenza Virus Sequence Database, Influenza Sequence Database (ISD), EMBL-database e/ou em outros bancos de dados. Acha-se bem dentro do alcance da pessoa habilitada, encontrar tais sequências nos respectivos bancos de dados.

Em outra forma de realização, as moléculas de ligação da invenção são capazes de especificamente se ligarem a um fragmento das proteínas e/ou polipeptídeos acima mencionados, em que o fragmento pelo menos compreenda um determinante antigênico reconhecido pelas moléculas de ligação da invenção. Um “determinante antigênico”, como aqui usado, “é um componente que é capaz de ligar-se a uma molécula de ligação da invenção com afinidade suficientemente elevada para formar um complexo de antígeno-molécula de ligação detectável. As moléculas de ligação da invenção podem ou não ser capazes de ligação específica à parte extracelular de HA [também denominada aqui de HA solúvel (sHA)].

As moléculas de ligação da invenção podem ser moléculas intactas de imunoglobulina, tais como anticorpos policlonais ou monoclonais, ou as moléculas de ligação podem ser fragmentos de ligação a antígenos que incluem, porém sem limitar, Fab, F(ab’), F(ab’)₂, Fv, dAb, Fd, fragmentos determinantes da complementaridade (CDR), anticorpos de cadeia única (scFv), anticorpos bivalentes de cadeia única, anticorpos de fago de cadeia única, diacorpos, triacorpos, tetracorpos e (poli)peptídeos que contenham pelo menos um fragmento de uma imunoglobulina que seja suficiente para conferir ligação específica a antígeno às cepas dos vírus H5N1 da influenza ou a um

seu fragmento. Em uma forma de realização preferida, as moléculas de ligação da invenção são anticorpos monoclonais humanos.

As moléculas de ligação da invenção podem ser usadas na forma não isolada ou isolada. Além disso, as moléculas de ligação da invenção podem ser usadas isoladamente ou em uma mistura contendo pelo menos uma molécula de ligação (ou sua variante ou fragmento) da invenção. Em outras palavras, as moléculas de ligação podem ser usadas em combinação, por exemplo como uma composição farmacêutica compreendendo duas ou mais moléculas de ligação da invenção, suas variantes ou fragmentos. Por exemplo, as moléculas de ligação tendo atividades diferentes, porém complementares, podem ser combinadas em uma terapia única para se obter um efeito profilático, terapêutico ou diagnóstico desejado, porém, alternativamente, as moléculas de ligação tendo atividades idênticas também podem ser combinadas em uma terapia única para se obter um efeito profilático, terapêutico ou diagnóstico desejado. Opcionalmente, a mistura ainda compreende pelo menos um outro agente terapêutico. Preferivelmente, o agente terapêutico, tal como, por exemplo, os inibidores M2 (por exemplo amantidina, rimantadina) e/ou inibidores da neuraminidase (por exemplo, zanamivir, oseltamivir), é útil na profilaxia e/ou tratamento de uma infecção do vírus H5N1 da influenza.

Tipicamente, as moléculas de ligação de acordo com a invenção podem ligar-se a seus parceiros de ligação, isto é, o vírus H5N1 da influenza ou seus fragmentos, com uma constante de afinidade (valor K_d) que seja menor do que $0,2 \times 10^{-4}$ M, $1,0 \times 10^{-5}$ M, $1,0 \times 10^{-6}$ M, $1,0 \times 10^{-7}$ M, de preferência menor do que $1,0 \times 10^{-8}$ M, mais preferível menor do que $1,0 \times 10^{-9}$ M, mais preferível menor do que $1,0 \times 10^{-10}$ M, ainda mais preferível menor do que $1,0 \times 10^{-11}$ M, e em particular menor do que $1,0 \times 10^{-12}$ M. As constantes de afinidade podem variar quanto aos isótipos de anticorpos. Por exemplo, a ligação de afinidade quanto a um isótipo de IgM refere-se a uma

afinidade de ligação de pelo menos cerca de $1,0 \times 10^{-7}$ M. As constantes de afinidade podem, por exemplo, ser medidas com o uso da ressonância de plasmon superficial, por exemplo usando o sistema BIACORE (Pharmacia Biosensor AB, Uppsala, Suécia).

5 As moléculas de ligação de acordo com a invenção podem ligar-se ao vírus H5N1 da influenza ou a um seu fragmento, na forma solúvel, tal como, por exemplo, em uma amostra ou em suspensão, ou podem ligar-se ao vírus H5N1 da influenza ou a um seu fragmento ligado ou articulado a um portador ou substrato, por exemplo a placas microtituladoras, membranas e
10 contas etc. Os portadores ou substratos podem ser produzidos de vidro, plástico (por exemplo, poliestireno), polissacarídeos, náilon, nitrocelulose, ou Teflon, etc. A superfície de tais suportes pode ser sólida ou porosa e de qualquer conformação conveniente. Além disso, as moléculas de ligação podem ligar-se ao vírus H5N1 da influenza na forma purificada/isolada ou
15 não purificada/não isolada.

 As moléculas de ligação da invenção apresentam atividade de neutralização. A atividade de neutralização pode, por exemplo, ser medida como aqui descrito. Ensaio alternativo que medem a atividade de neutralização são descritos, por exemplo, no WHO Manual on Animal
20 Influenza Diagnosis and Surveillance, Geneva: Organização Mundial da Saúde, 2005, versão 2002.5.

 A presente invenção diz respeito a uma molécula de ligação humana isolada que é capaz de reconhecer e ligar-se a um epítipo na subunidade HA2 da proteína de hemaglutinina (HA) da influenza,
25 caracterizada em que referida molécula de ligação tem atividade de neutralização contra um vírus da influenza compreendendo HA do subtipo H5. Exemplos de cepas da influenza que contêm um tal HA do subtipo H5 e que sejam cepas importantes em vista das ameaças pandêmicas, são H5N1, H5N2, H5N8 e H5N9. Particularmente preferidas são as moléculas de ligação

que pelo menos neutralizem a cepa da influenza H5N1. Preferivelmente, referidas moléculas de ligação de acordo com a invenção não dependem de um epítopo na subunidade HA1 da proteína HA para ligação à referida proteína HA. O anticorpo de murino conhecido que foi descrito na técnica (C179) que também se liga ao mesmo epítopo no domínio HA2 também depende da ligação a um epítopo no domínio HA1 da proteína HA. Isto é desvantajoso já que isto acrescenta a possibilidade de fuga dos mutantes que não mais sejam reconhecidos pelo anticorpo. Além disso, vários anticorpos da presente invenção (tais como o CR6307 e o CR6323) não dependem dos epítopos conformacionais e reconhecem o epítopo HA2 mesmo em uma forma reduzida (quando usados no Western-blotting). Isto é uma vantagem sobre os anticorpos da técnica, porque, quando uma mudança conformacional é induzida na proteína HA por causa de qualquer mutação em outra parte da proteína, tal mudança conformacional muito provavelmente não obstrui a ligação dos anticorpos da presente invenção para o epítopo HA2, enquanto os anticorpos que dependem da conformação podem muito bem ser incapazes de se ligarem quando tais mutações ocorrem.

Em outra forma de realização preferida, a molécula de ligação de acordo com a invenção também tem atividade de neutralização contra um vírus da influenza compreendendo HA do subtipo H1, e preferivelmente em que referida molécula de ligação também tem atividade de neutralização contra um vírus da influenza compreendendo HA do subtipo H2, H6 e/ou H9. Foi também observado aqui que as moléculas de ligação da presente invenção interagem com um epítopo presente nos epítopos HA2 presentes nos subtipos H5, H1, H2, H6 e H9, e foi mostrado que as moléculas de ligação da presente invenção se neutralizam de forma cruzada entre os subtipos da influenza por causa deste compartilhamento do epítopo. Conclui-se que as moléculas de ligação da presente invenção, que dependem da ligação àquela parte particular no domínio HA2 (e não no outro epítopo propenso mutacional em HA1)

podem neutralizar-se de maneira cruzada entre os subtipos do vírus da influenza, já que eles não parecem depender da ligação aos domínios dentro de HA1, o que pode ser alterado significativamente por causa dos desvios antigênicos. A pessoa habilitada, com base no que foi aqui apresentado, pode
 5 agora determinar se um anticorpo de fato reage de forma cruzada com as proteínas HA de diferentes subtipos, e também determinar se elas são capazes de neutralizar os vírus da influenza de diferentes subtipos in vivo.

Em outro aspecto preferido da invenção, a molécula de ligação da presente invenção se liga a um epítipo na subunidade HA2 que é
 10 selecionada do grupo consistindo da sequência de aminoácidos: GVTNKVNSIIDK (SEQ ID NO: 368), GVTNKVNSIINK (SEQ ID NO: 369), GVTNKENSIIDK (SEQ ID NO: 370), GVTNKVNRIIDK (SEQ ID NO: 371), GITNKVNSVIEK (SEQ ID NO: 372), GITNKENSVIEK (SEQ ID NO: 373), GITNKVNSIIDK (SEQ ID NO: 374) e KITSKVNNIVDK (SEQ
 15 ID NO: 375). Como se pode concluir dos dados apresentados na Tabela 13, certas moléculas de ligação da presente invenção, CR6261, CR6325 e CR6329 interagem com o epítipo GVTNKVNSIIDK (SEQ ID NO: 368) presente no H5N1, e não são impedidos por uma mutação no epítipo TGLRN em HA1 que influenciam a ligação de C179. Além disso, algumas moléculas
 20 de ligação, tais como a CR6307 e CR6323, não são mesmo impedida por um mutante de escape, como apresentado em Okuno et al. (1993) com uma mutação de valina → ácido glutâmico na posição 6 [exemplificada por GVTNKENSIIDK (SEQ ID NO: 370)]. Este epítipo é parte de uma hélice alfa prolongada na região HA2. Os resíduos neste epítipo putativo que são
 25 previstos serem os solventes mais expostos são sublinhados em negrito: GVTNKENSIIDK (SEQ ID NO: 370). Estes aminoácidos devem ser os mais acessíveis a uma molécula de ligação e, assim, podem formar a região mais importante do epítipo. Consistente com esta noção, os aminoácidos realçados são absolutamente conservados em identidade e posição em todas as

sequências apresentadas. Este conhecimento pode ser usado para se prever epítomos de ligação nos subtipos da influenza que não carreguem a mesma sequência como acima (isto é, cepas H3, H7 e B).

Preferida é uma molécula de ligação de acordo com a presente invenção, que é selecionada do grupo consistindo de:

a) uma molécula de ligação compreendendo uma região CDR1 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 1, uma região CDR2 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 2, e uma região CDR3 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 3,

b) uma molécula de ligação compreendendo uma região CDR1 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 16, uma região CDR2 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 17, e uma região CDR3 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 18,

c) uma molécula de ligação compreendendo uma região CDR1 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 1, uma região CDR2 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 22, e uma região CDR3 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 23,

d) uma molécula de ligação compreendendo uma região CDR1 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 27, uma região CDR2 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 28, e uma região CDR3 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 29,

e) uma molécula de ligação compreendendo uma região CDR1 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 39, uma região CDR2 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 40, e uma região CDR3 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 41,

f) uma molécula de ligação compreendendo uma região CDR1 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 45, uma região CDR2 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 46, e uma região CDR3 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 47,

g) uma molécula de ligação compreendendo uma região CDR1 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 1, uma região de cadeia pesada CDR2 de SEQ ID NO: 49, e uma região CDR3 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 50,

h) uma molécula de ligação compreendendo uma região CDR1 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 52, uma região CDR2 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 53, e uma região CDR3 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 54,

i) uma molécula de ligação compreendendo uma região CDR1 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 262, uma região CDR2 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 263, e uma região CDR3 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 264,

j) uma molécula de ligação compreendendo uma região CDR1 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 268, uma região CDR2 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 269, e uma região CDR3 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 270,

k) uma molécula de ligação compreendendo uma região CDR1 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 274, uma região CDR2 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 275, e uma região CDR3 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 276,

l) uma molécula de ligação compreendendo uma região CDR1 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 280, uma região CDR2 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 281, e uma região CDR3 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 282,

m) uma molécula de ligação compreendendo uma região CDR1 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 286, uma região CDR2 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 287, e uma região CDR3 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 288,

n) uma molécula de ligação compreendendo uma região CDR1 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 292, uma região CDR2 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 293, e uma região CDR3 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 294,

o) uma molécula de ligação compreendendo uma região CDR1 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 304, uma região CDR2 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 305, e uma região CDR3 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 306, e

p) uma molécula de ligação compreendendo uma região CDR1 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 310, uma região CDR2 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 311, e uma região CDR3 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 312.

Em uma forma de realização preferida, a molécula de ligação de acordo com a invenção destina-se ao uso como um medicamento e, preferivelmente, para o tratamento diagnóstico, terapêutico e/ou profilático da

infecção da influenza. Em um aspecto de tal uso, referida infecção da influenza é causada por um vírus da influenza que é associado com uma eclosão pandêmica, ou que tenha o potencial de ser associado com uma eclosão pandêmica (ver a WO 2007/045674 e as tabelas nela incluídas). De preferência, a cepa dos vírus da influenza que é associada com a eclosão pandêmica e em que a doença causada por estas cepas pode ser tratada pelas moléculas de ligação da presente invenção, é selecionada do grupo consistindo de H1N1, H5N1, H5N2, H5N8, H5N9, vírus com base no H2, e H9N2.

A presente invenção também diz respeito a uma composição farmacêutica compreendendo uma molécula de ligação de acordo com a invenção, e um excipiente farmacêuticamente aceitável.

Em ainda outra forma de realização, a invenção diz respeito a um uso de uma molécula de ligação de acordo com a invenção, na preparação de um medicamento para o diagnóstico, profilaxia e/ou tratamento de uma infecção do vírus da influenza. Tais infecções podem ocorrer em pequenas populações, mas podem também espalhar-se ao redor do mundo em epidemias sazonais ou, pior, em pandemias globais em que milhões de indivíduos ficam em risco. A invenção fornece moléculas de ligação que podem neutralizar a infecção das cepas da influenza que causam tais epidemias sazonais, bem como pandemias potenciais. É importante mencionar que a proteção e o tratamento podem ser previstos agora com as moléculas de ligação da presente invenção em relação às múltiplas cepas da influenza, tendo sido apresentado que, por causa da ligação de um epítipo que é compartilhado entre as proteínas HA de diferentes cepas da influenza, a neutralização cruzada entre tais cepas é agora possível mediante o uso das moléculas de ligação da presente invenção. Isto é altamente vantajoso já que as moléculas de ligação podem proteger os mamíferos quando elas são administradas ou antes ou após a infecção (como apresentado nos exemplos),

e, portanto, também quando não esteja claro (nos estágios prematuros da ocorrência) se a infecção é causada por uma cepa à base de H1, H2, H5, H6 ou H9. Os trabalhadores da saúde, as forças militares, bem como a população geral podem ser profilaticamente tratadas, ou tratadas após a infecção, com as moléculas de ligação da presente invenção. Potencialmente, as moléculas de ligação da presente invenção podem ser preparadas e armazenadas em amplos estoques porque isso proporcionará proteção contra as diferentes cepas pandêmicas, e isto será benéfico na prevenção de possíveis pandemias da influenza no futuro.

10 Em uma forma de realização preferida, as moléculas de ligação humanas de acordo com a invenção são caracterizadas no fato de que são selecionadas do grupo consistindo de: a) uma molécula de ligação humana compreendendo uma região de CDR1 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, uma região de CDR2 de cadeia
15 pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 2, uma região de CDR3 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 3, uma região de CDR1 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 4, uma região de CDR2 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 5, e uma região de CDR3 de cadeia leve tendo a
20 sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 6; b) uma molécula de ligação humana compreendendo uma região de CDR1 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, uma região de CDR2 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 2, uma região de CDR3 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 3,
25 uma região de CDR1 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 7, uma região de CDR2 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 8, e uma região de CDR3 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 9; c) uma molécula de ligação humana compreendendo uma região de CDR1 de cadeia pesada tendo a

sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, uma região de CDR2 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 2, uma região de CDR3 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 3, uma região de CDR1 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 10, uma região de CDR2 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 11, e uma região de CDR3 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 12; d) uma molécula de ligação humana compreendendo uma região de CDR1 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, uma região de CDR2 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 2, uma região de CDR3 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 3, uma região de CDR1 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 13, uma região de CDR2 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 14, e uma região de CDR3 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 15; e) uma molécula de ligação humana compreendendo uma região de CDR1 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 16, uma região de CDR2 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 17, uma região de CDR3 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 18, uma região de CDR1 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 19, uma região de CDR2 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 20, e uma região de CDR3 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 21; f) uma molécula de ligação humana compreendendo uma região de CDR1 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, uma região de CDR2 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 22, uma região de CDR3 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 23, uma região de CDR1 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 24, uma região de CDR2 de cadeia leve tendo a sequência de

aminoácidos de SEQ ID NO: 25, e uma região de CDR3 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 26; g) uma molécula de ligação humana compreendendo uma região de CDR1 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 27, uma região de CDR2 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 28, uma região de CDR3 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 29, uma região de CDR1 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 30, uma região de CDR2 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 31, e uma região de CDR3 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 32; h) uma molécula de ligação humana compreendendo uma região de CDR1 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, uma região de CDR2 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 2, uma região de CDR3 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 3, uma região de CDR1 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 33, uma região de CDR2 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 34, e uma região de CDR3 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 35; i) uma molécula de ligação humana compreendendo uma região de CDR1 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, uma região de CDR2 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 2, uma região de CDR3 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 3, uma região de CDR1 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 36, uma região de CDR2 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 37, e uma região de CDR3 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 38; j) uma molécula de ligação humana compreendendo uma região de CDR1 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 39, uma região de CDR2 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 40, uma região de

CDR3 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 41, uma região de CDR1 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 42, uma região de CDR2 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 43, e uma região de CDR3 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 44; k) uma molécula de ligação humana compreendendo uma região de CDR1 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 45, uma região de CDR2 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 46, uma região de CDR3 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 47, uma região de CDR1 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 7, uma região de CDR2 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 8, e uma região de CDR3 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 48; l) uma molécula de ligação humana compreendendo uma região de CDR1 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, uma região de CDR2 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 49, uma região de CDR3 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 50, uma região de CDR1 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 33, uma região de CDR2 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 34, e uma região de CDR3 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 51; m) uma molécula de ligação humana compreendendo uma região de CDR1 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 52, uma região de CDR2 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 53, uma região de CDR3 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 54, uma região de CDR1 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 55, uma região de CDR2 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 56, e uma região de CDR3 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 57; n) uma molécula de ligação

humana compreendendo uma região de CDR1 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 262, uma região de CDR2 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 263, uma região de CDR3 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 264, uma região de CDR1 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 265, uma região de CDR2 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 266, e uma região de CDR3 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 267; o) uma molécula de ligação humana compreendendo uma região de CDR1 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 268, uma região de CDR2 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 269, uma região de CDR3 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 270, uma região de CDR1 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 271, uma região de CDR2 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 272, e uma região de CDR3 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 273; p) uma molécula de ligação humana compreendendo uma região de CDR1 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 274, uma região de CDR2 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 275, uma região de CDR3 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 276, uma região de CDR1 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 277, uma região de CDR2 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 278, e uma região de CDR3 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 279; q) uma molécula de ligação humana compreendendo uma região de CDR1 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 280, uma região de CDR2 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 281, uma região de CDR3 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 282, uma região de CDR1 de

cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 283, uma região de CDR2 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 284, e uma região de CDR3 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 285; r) uma molécula de ligação humana compreendendo uma região de CDR1 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 286, uma região de CDR2 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 287, uma região de CDR3 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 288, uma região de CDR1 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 289, uma região de CDR2 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 290, e uma região de CDR3 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 291; s) uma molécula de ligação humana compreendendo uma região de CDR1 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 292, uma região de CDR2 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 293, uma região de CDR3 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 294, uma região de CDR1 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 295, uma região de CDR2 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 296, e uma região de CDR3 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 297; t) uma molécula de ligação humana compreendendo uma região de CDR1 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 304, uma região de CDR2 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 305, uma região de CDR3 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 306, uma região de CDR1 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 307, uma região de CDR2 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 308, e uma região de CDR3 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 309; u) uma molécula de ligação humana compreendendo uma região de CDR1 de

cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 310, uma região de CDR2 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 311, uma região de CDR3 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 312, uma região de CDR1 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 313, uma região de CDR2 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 314, e uma região de CDR3 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 315; v) uma molécula de ligação humana compreendendo uma região de CDR1 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 238, uma região de CDR2 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 239, uma região de CDR3 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 240, uma região de CDR1 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 241, uma região de CDR2 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 242, e uma região de CDR3 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 243; w) uma molécula de ligação humana compreendendo uma região de CDR1 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 244, uma região de CDR2 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 245, uma região de CDR3 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 246, uma região de CDR1 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 247, uma região de CDR2 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 248, e uma região de CDR3 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 249; x) uma molécula de ligação humana compreendendo uma região de CDR1 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 250, uma região de CDR2 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 251, uma região de CDR3 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 252, uma região de CDR1 de cadeia leve tendo a sequência de

aminoácidos de SEQ ID NO: 253, uma região de CDR2 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 254, e uma região de CDR3 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 255; y) uma molécula de ligação humana compreendendo uma região de CDR1 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 256, uma região de CDR2 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 257, uma região de CDR3 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 258, uma região de CDR1 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 259, uma região de CDR2 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 260, e uma região de CDR3 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 261; e z) uma molécula de ligação humana compreendendo uma região de CDR1 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 298, uma região de CDR2 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 299, uma região de CDR3 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 300, uma região de CDR1 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 301, uma região de CDR2 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 302, e uma região de CDR3 de cadeia leve tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 303.

Em uma forma de realização específica, as moléculas de ligação da invenção compreendem uma região de CDR1 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, uma região de CDR2 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 2, uma região de CDR3 de cadeia pesada tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 3. As regiões de CDR da molécula de ligação da invenção são apresentadas na Tabela 7. As regiões de CDR estão de acordo com Kabat et al. (1991) como descrito em *Sequences of Proteins of Immunological Interest*. Em uma forma de realização da presente invenção as moléculas de ligação

podem compreender duas, três, quatro, cinco ou todas as seis regiões de CDR como aqui apresentado. Preferivelmente, uma molécula de ligação de acordo com a presente invenção compreende pelo menos duas das CDRs aqui apresentadas.

5 Em uma forma de realização as moléculas de ligação da invenção compreendem a linha germinativa de VH, VH1-69 [ver Tomlinson, I. M, Williams, S. C., Ignatovitch, O., Corbett, S. J., Winter, G. V-BASE Sequence Directory. Cambridge, Reino Unido: MRC Centre for Protein Engineering (1997)]. Em ainda outra forma de realização, as moléculas de
10 ligação de acordo com a invenção compreendem uma cadeia pesada contendo uma cadeia pesada variável da sequência de aminoácidos selecionada do grupo consistindo das SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81,
15 SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 317, SEQ ID NO: 321, SEQ ID NO: 325, SEQ ID NO: 329, SEQ ID NO: 333, SEQ ID NO: 337, SEQ ID NO: 341, SEQ ID NO: 345, SEQ ID NO: 349, SEQ ID NO: 353, SEQ ID NO: 357, SEQ ID NO: 361 e SEQ ID NO: 365. Em uma outra forma de realização, as moléculas de ligação de acordo com a invenção compreendem uma cadeia leve contendo
20 a cadeia leve variável da sequência de aminoácidos selecionada do grupo consistindo das SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 319, SEQ ID NO: 323, SEQ ID NO: 327,
25 SEQ ID NO: 331, SEQ ID NO: 335, SEQ ID NO: 339, SEQ ID NO: 343, SEQ ID NO: 347, SEQ ID NO: 351, SEQ ID NO: 355, SEQ ID NO: 359, SEQ ID NO: 363 e SEQ ID NO: 367. A Tabela 8 especifica as regiões variáveis de cadeia pesada e leve da molécula de ligação da invenção.

Outro aspecto da invenção inclui variantes funcionais das

moléculas de ligação conforme aqui definido. As moléculas são consideradas como sendo variantes funcionais de uma molécula de ligação de acordo com a invenção, se as variantes forem capazes de competir, para especificamente se ligarem ao vírus H5N1 da influenza ou a um seu fragmento, com as moléculas de ligação precursoras. Em outras palavras, quando as variantes funcionais forem ainda capazes de ligação ao vírus H5N1 da influenza ou a um seu fragmento. Preferivelmente, as variantes funcionais são capazes de competir para ligação específica a pelo menos duas cepas diferentes do vírus H5N1 da influenza ou seus fragmentos que sejam especificamente ligados pelas moléculas de ligação precursoras. Além disso, as moléculas são consideradas como sendo variantes funcionais de uma molécula de ligação de acordo com a invenção, se elas tiverem atividade de neutralização contra o vírus H5N1 da influenza, preferivelmente contra as pelo menos duas (ou mais) cepas do vírus H5N1 da influenza contra as quais a molécula de ligação precursora apresente atividade de neutralização. As variantes funcionais incluem, porém sem limitar, derivados que sejam substancialmente similares na sequência estrutural primária, mas que contenham, por exemplo, modificações *in vitro* ou *in vivo*, químicas e/ou bioquímicas, que não sejam encontradas na molécula de ligação precursora. Tais modificações incluem, *inter alia*, a acetilação, acilação, ligação covalente de um nucleotídeo ou derivado de nucleotídeo, ligação covalente de um lipídeo ou derivado de lipídeo, ligação cruzada, formação de ligação de dissulfeto, glicosilação, hidroxilação, metilação, oxidação, peguilação, processamento proteolítico, fosforilação, e outras.

Alternativamente, as variantes funcionais podem ser moléculas de ligação conforme definido na presente invenção, compreendendo uma sequência de aminoácidos contendo substituições, inserções, deleções ou combinações destas de um ou mais aminoácidos em comparação com as sequências de aminoácidos das moléculas de ligação precursoras. Além disso,

as variantes funcionais podem compreender truncamentos da sequência de aminoácidos em qualquer, ou em ambos, dos terminos amino ou carboxila. As variantes funcionais de acordo com a invenção podem ter as mesmas ou diferentes afinidades de ligação, ou mais elevadas ou mais baixas, em
5 comparação com a molécula de ligação precursora, mas serão ainda capazes de ligação ao vírus H5N1 da influenza ou a um seu fragmento. Por exemplo, as variantes funcionais de acordo com a invenção podem ter afinidades de ligação aumentadas ou reduzidas quanto ao vírus H5N1 da influenza ou a um fragmento deste, em comparação com as moléculas de ligação precursoras.
10 De preferência, as sequências de aminoácidos das regiões variáveis, incluindo, porém sem limitar, as regiões de estrutura, as regiões hipervariáveis, em particular as regiões de CDR3, são modificadas. Geralmente, as regiões variáveis de cadeia leve e de cadeia pesada compreendem três regiões hipervariáveis, compreendendo três CDRs, e mais
15 regiões conservadas, as assim chamadas regiões de estrutura (FRs). As regiões hipervariáveis compreendem resíduos de aminoácidos das CDRs e resíduos de aminoácidos das alças hipervariáveis. As variantes funcionais que se pretende se situem dentro do escopo da presente invenção têm pelo menos cerca de 50 % a cerca de 99 %, preferivelmente pelo menos cerca de 60 % a
20 cerca de 99 %, mais preferível pelo menos cerca de 70 % a cerca de 99 %, ainda mais preferível pelo menos cerca de 80 % a cerca de 99 %, o mais preferível pelo menos cerca de 90 % a cerca de 99 %, em particular pelo menos cerca de 95 % a cerca de 99 % e, em particular, pelo menos cerca de 97 % a cerca de 99 % de homologia da sequência de aminoácidos com as
25 moléculas de ligação precursoras como definido neste relatório. Os algoritmos de computadores, tais como, inter alia, o Gap ou o Bestfit, conhecidos de uma pessoa habilitada na técnica, podem ser usados para alinhar de forma ótima as sequências de aminoácidos a serem comparadas, e para definir os resíduos de aminoácidos similares ou idênticos. As variantes funcionais podem ser

obtidas mediante alteração das moléculas de ligação precursoras ou partes destas, mediante os métodos gerais da biologia molecular conhecidos na técnica, incluindo, porém sem limitar, PCR propensa a erro, a mutagênese dirigida ao oligonucleotídeo, a mutagênese dirigida ao sítio, e rearranjo de cadeia pesada e/ou leve. Em uma forma de realização, as variantes funcionais da invenção têm atividade de neutralização contra o vírus H5N1 da influenza. A atividade de neutralização pode ou ser idêntica, ou ser mais elevada ou ser menor em comparação às moléculas de ligação precursoras. Daqui por diante, quando a expressão molécula de ligação (humana) for usada, esta também inclui as variantes funcionais da molécula de ligação (humana).

Em ainda um outro aspecto, a invenção inclui imunoconjugados, isto é, moléculas compreendendo pelo menos uma molécula de ligação como aqui definido, e ainda compreendendo pelo menos um marcador, tal como, inter alia, um componente/agente detectável. Igualmente consideradas na presente invenção são as misturas de imunoconjugados de acordo com a invenção ou misturas de pelo menos um imunoconjugado de acordo com a invenção, e outra molécula, tal como um agente terapêutico ou outra molécula de ligação ou imunoconjugado. Em uma outra forma de realização, os imunoconjugados da invenção podem compreender mais do que um marcador. Estes marcadores podem ser os mesmos ou podem ser distintos um ou outro e podem ser unidos/conjugados diretamente às moléculas de ligação humanas através de ligação covalente. Alternativamente, o(s) marcador(es) podem ser unidos/conjugados às moléculas de ligação por meio de um ou mais compostos de ligação. As técnicas para conjugar os marcadores às moléculas de ligação são bem conhecidas do técnico habilitado.

Os marcadores dos imunoconjugados da presente invenção podem ser agentes terapêuticos, mas eles podem também ser componentes/agentes detectáveis. Marcadores adequados na terapia e/ou na

prevenção podem ser toxinas ou suas partes funcionais, antibióticos, enzimas, outras moléculas de ligação que intensifiquem a fagocitose ou a estimulação imune. Os imunoconjugados compreendendo um agente detectável podem ser usados diagnosticamente para, por exemplo, avaliar se um paciente foi infectado com uma cepa do vírus H5N1 da influenza ou monitorar o desenvolvimento ou a progressão de uma infecção do vírus H5N1 da influenza como parte de um procedimento de testes clínicos para, por exemplo, determinar a eficácia de um dado regime de tratamento. Entretanto, eles podem também ser usados para outros fins de detecção e/ou analíticos e/ou diagnósticos. Os componentes/agentes detectáveis incluem, porém sem limitar, enzimas, grupos prostéticos, materiais fluorescentes, materiais luminescentes, materiais bioluminescentes, materiais radioativos, metais emissores de pósitrons, e íons de metais paramagnéticos não radioativos. Os marcadores usados para rotular as moléculas de ligação para fins de detecção e/ou analíticos e/ou diagnósticos dependem das técnicas específicas de detecção/análise/diagnóstico e/ou dos métodos usados tais como, inter alia, o manchamento imunoistoquímico das amostras (de tecidos), a detecção citométrica do fluxo, a detecção citométrica do laser de varredura, os imunoensaios fluorescentes, os ensaios imunoabsorventes ligados à enzima (ELISAs), os radioimunoensaios (RIAs), os bioensaios (por exemplo os ensaios de fagocitose), as aplicações do Western blotting, etc. Rótulos adequados para as técnicas de detecção/análise/diagnóstico e/ou os métodos conhecidos na técnica, acham-se bem dentro do alcance do técnico habilitado.

Além disso, as moléculas de ligação humanas ou os imunoconjugados da invenção podem também ser ligados a suportes sólidos, os quais são particularmente úteis para os imunoensaios in vitro ou purificação do vírus H5N1 da influenza ou um seu fragmento. Tais suportes sólidos podem ser porosos ou não porosos, planares ou não planares. As moléculas de ligação da presente invenção podem ser fundidas às sequências

marcadoras, tais como um peptídeo para facilitar a purificação. Exemplos incluem, sem limitar, o marcador hexa-histidina, o marcador de hemaglutinina (HA), o marcador myc ou o marcador flag. Alternativamente, um anticorpo pode ser conjugado a um segundo anticorpo para formar um heteroconjugado de anticorpos. Em outro aspecto, as moléculas de ligação da invenção podem ser conjugadas/articuladas a um ou mais antígenos. Preferivelmente, estes antígenos são antígenos que são reconhecidos pelo sistema imune de um indivíduo ao qual o conjugado de molécula de ligação-antígeno esteja sendo administrado. Os antígenos podem ser idênticos, mas podem também diferir um do outro. Os métodos de conjugação para articular os antígenos com as moléculas de ligação são bem conhecidos na técnica e incluem, porém sem limitar, o uso dos agentes de encadeamento cruzado. As moléculas de ligação da invenção se ligarão ao vírus H5N1 da influenza e os antígenos articulados às moléculas de ligação iniciarão um ataque poderoso de células T sobre o conjugado, o que eventualmente levará à destruição do vírus H5N1 da influenza.

A seguir, para produzir imunoconjugados quimicamente por conjugação, direta ou indiretamente, através, por exemplo, de um articulador, os imunoconjugados podem ser produzidos como proteínas de fusão contendo as moléculas de ligação da invenção e um marcador adequado. As proteínas de fusão podem ser produzidas por métodos conhecidos na técnica, tais como, por exemplo, recombinantemente pela construção de moléculas de ácido nucleico contendo sequências de nucleotídeos codificando as moléculas de ligação na matriz com sequências de nucleotídeos codificando o(s) marcador(es) adequados e então expressando as moléculas de ácido nucleico.

É outro aspecto da presente invenção fornecer uma molécula de ácido nucleico codificando pelo menos uma molécula de ligação, variante funcional ou imunoconjugado, de acordo com a invenção. Essas moléculas de ácido nucleico podem ser usadas como intermediários para fins de clonagem,

por exemplo no processo de maturação de afinidade, como descrito acima. Em uma forma de realização preferida, as moléculas de ácido nucleico são isoladas ou purificadas.

5 O técnico habilitado observará que se pretende que as variantes funcionais destas moléculas de ácido nucleico façam parte também da presente invenção. As variantes funcionais são sequências de ácidos nucleicos que podem ser diretamente transladadas, com o uso do código genético padrão, para fornecer uma sequência de aminoácidos idêntica àquela transladada das moléculas de ácido nucleico precursoras.

10 Preferivelmente, as moléculas de ácido nucleico codificam moléculas de ligação compreendendo as regiões de CDR como descrito acima. Em uma outra forma de realização, as moléculas de ácido nucleico codificam moléculas de ligação contendo duas, três, quatro, cinco ou mesmo todas as seis regiões de CDR das moléculas de ligação da invenção.

15 Em outra forma de realização, as moléculas de ácido nucleico codificam moléculas de ligação contendo uma cadeia pesada compreendendo as sequência variáveis de cadeia pesada, conforme descrito acima. Em outra forma de realização, as moléculas de ácido nucleico codificam moléculas de ligação contendo uma cadeia leve compreendendo as sequências variáveis de
20 cadeia leve, como descrito acima. As sequências de nucleotídeos das moléculas de ligação da invenção são apresentadas na seção de Exemplos (ver, por exemplo, as Tabelas 6 e 8).

É outro aspecto da invenção prover vetores, isto é, construções de ácido nucleico, compreendendo uma ou mais moléculas de ácido nucleico
25 de acordo com a presente invenção. Os vetores podem ser derivados de plasmídeos tais como, inter alia, F, R1, RP1, Col, pBR322, TOL, Ti etc; cosmídeos; fagos tais como lambda, lambdóide, M13, Mu, P1, P22, Q β , T-even, T-odd, T2, T4, T7 etc.; vírus das plantas. Os vetores podem ser usados para clonar e/ou para expressão das moléculas de ligação da invenção e

podem mesmo ser usados para fins de terapia de genes. Os vetores compreendendo uma ou mais moléculas de ácido nucleico de acordo com a invenção operavelmente articulados a uma ou mais moléculas de ácido nucleico reguladoras da expressão, são também cobertos pela presente invenção. A escolha do vetor depende dos procedimentos recombinantes seguidos e do hospedeiro usado. A introdução dos vetores nas células hospedeiras pode ser efetuada, inter alia, por transfecção de fosfato de cálcio, infecção viral, transfecção mediada por DEAE-dextrano, transfecção da lipofectamina ou eletroporação. Os vetores podem ser autonomamente replicantes ou podem replicar juntamente com o cromossoma em que eles tenham sido integrados. Preferivelmente, os vetores contêm um ou mais marcadores de seleção. A escolha dos marcadores pode depender das células hospedeiras de escolha, embora isto não seja crítico para a invenção, já que é bem conhecida das pessoas habilitadas na técnica. Eles incluem, porém sem limitar, canamicina, neomicina, puromicina, higromicina, zeomicina, gene da timidina quinase do vírus do Herpes simples (HSV-TK), o gene da diidrofolato redutase de camundongos (dhfr). Os vetores que compreendem uma ou mais moléculas de ácido nucleico codificando as moléculas de ligação humanas como descrito acima, operavelmente ligadas a uma ou mais moléculas de ácido nucleico codificando proteínas ou peptídeos que possam ser usados para isolar as moléculas de ligação humanas, acham-se também cobertos pela invenção. Estas proteínas ou peptídeos incluem, porém sem limitar, a glutathione-S-transferase, a proteína de ligação da maltose, a poliistidina de ligação de metais, a proteína fluorescente verde, a luciferase e a beta-galactosidade.

Os hospedeiros contendo uma ou mais cópias dos vetores acima mencionados são um objeto adicional da presente invenção. Preferivelmente, os hospedeiros são células hospedeiras. As células hospedeiras incluem, sem limitar, as células de origem de mamíferos, plantas,

insetos, fúngica ou bacteriana. As células bacterianas incluem, porém sem limitar, as células de bactérias Gram-positivas ou de bactérias Gram-negativas, tais como as várias espécies dos gêneros *Escherichia*, tais como *E. coli* e *Pseudomonas*. No grupo de células fúngicas, preferivelmente as células de levedura são usadas. A expressão na levedura pode ser obtida mediante o uso das cepas de levedura tais como, inter alia, *Pichia pastoris*, *Saccharomyces cerevisiae* e *Hansenula polymorpha*. Além disso, as células de insetos, tais como as células da *Drosophila* e Sf9, podem ser usadas como células hospedeiras. Além disso, as células hospedeiras podem ser células de plantas tais como, inter alia, as células das plantas de colheita, tais como as plantas das áreas florestais, ou células das plantas que fornecem alimentos e materiais brutos tais como as plantas de cereais, ou plantas medicinais, ou células de plantas ornamentais, ou células de plantações de bulbosas de flores. As plantas ou células de plantas transformadas (transgênicas) são produzidas por métodos conhecidos, por exemplo, a transferência de genes mediada pela *Agrobacterium*, a transformação de discos das folhas, a transformação de protoplastos mediante transferência do DNA induzida pelo polietileno glicol, eletroporação, sonicação, microinjeção ou transferência bolística de genes. Adicionalmente, um sistema de expressão adequado pode ser um sistema de baculovírus. Os sistemas de expressão com o uso de células de mamíferos, tais como as células de Ovário de Hamster Chinês (CHO), as células COS, células BHK, células NSO ou células do melanoma de Bowes, são preferidas na presente invenção. As células de mamíferos fornecem proteínas expressas com modificações pós-translacionais que são muito semelhantes às moléculas naturais de origem mamífera. Uma vez que a presente invenção lida com moléculas que possam ser administradas a seres humanos, um sistema de expressão completamente humana deve ser particularmente preferido. Portanto, de modo ainda mais preferido, as células hospedeiras são células humanas. Exemplos de células humanas são, inter alia, as células HeLa, 911,

AT1080, A549, 293 e HEK293T. Nas formas de realização preferidas, as células produtoras humanas compreendem, pelo menos, uma parte funcional de uma sequência de ácido nucleico codificando uma região E1 do adenovírus em formato exprimível. Nas formas de realização ainda mais preferidas, referidas células hospedeiras são derivadas de uma retina humana e imortalizadas com ácidos nucleicos compreendendo sequências adenovirais E1, tais como as células 911 ou a linhagem celular depositada no European Collection of Cell Cultures (ECACC), CAMR, Salisbury, Wiltshire SP4 OJG, Grã-Bretanha em 29 de fevereiro de 1996 sob o número 96022940 e comercializada sob a marca registrada de PER.C6[®] (PER.C6 é uma marca comercial registrada da Crucell Holland B.V.). Para os fins deste pedido, “células PER.C6” refere-se às células depositadas sob o número 96022940 ou ascendentes, passagens a montante ou a jusante, assim como descendentes dos ascendentes das células depositadas, bem como derivados de qualquer dos precedentes. A produção de proteínas recombinantes nas células hospedeiras pode ser realizada de acordo com métodos bem conhecidos na técnica. O uso das células comercializadas sob a marca comercial de PER.C6[®] como uma plataforma de produção para as proteínas de interesse foi descrito na WO 00/63403, cujo teor fica aqui incorporado como referência em sua totalidade.

Um método de produzir uma molécula de ligação de acordo com a invenção é uma parte adicional da invenção. O método compreende as etapas de a) cultivar um hospedeiro de acordo com a invenção, sob condições conducentes à expressão da molécula de ligação, e b) opcionalmente recuperar a molécula de ligação expressa. As moléculas de ligação expressas podem ser recuperadas do extrato livre de células, mas preferivelmente elas são recuperadas do meio de cultura. O método de produção acima pode também ser usado para produzir variantes funcionais das moléculas de ligação e/ou imunoconjugados da presente invenção. Métodos para recuperar proteínas, tais como moléculas de ligação, dos extratos livres de células ou do

meio de cultura, são bem conhecidos na pessoa habilitada na técnica. As moléculas de ligação, as variantes funcionais e/ou os imunocjugados, como obteníveis pelo método acima descrito, são também uma parte da presente invenção.

- 5 Alternativamente, após a expressão em hospedeiros, tais como células hospedeiras, as moléculas de ligação e imunocjugados da invenção podem ser produzidos sinteticamente por sintetizadores de peptídeo convencionais ou sistemas de translação livre de célula usando ácido nucleico de RNA derivado das moléculas de DNA de acordo com a invenção.
- 10 Moléculas de ligação e imunocjugados como obtidos pelos métodos de produção sintética descritos acima ou sistemas de translação livre de célula são também uma parte da presente invenção.

- Em ainda outra forma de realização, as moléculas de ligação da presente invenção também podem ser produzidas em mamíferos transgênicos não humanos, tais como, inter alia, coelhos, cabras ou vacas, e secretadas, por exemplo, no leite destes.
- 15

- Em ainda outra forma de realização alternativa, as moléculas de ligação de acordo com a presente invenção, preferivelmente moléculas de ligação humanas especificamente ligando-se ao vírus H5N1 da influenza ou a um seu fragmento, podem ser geradas pelos mamíferos transgênicos não humanos, tais como, por exemplo, camundongos ou coelhos transgênicos, que expressam genes da imunoglobulina humana. Preferivelmente, os mamíferos transgênicos não humanos têm um genoma compreendendo um transgene humano de cadeia pesada e um transgene humano de cadeia leve codificando
- 20
- 25 todas ou uma porção das moléculas de ligação humanas como descrito acima. Os mamíferos transgênicos não humanos podem ser imunizados com uma preparação purificada ou enriquecida do vírus H5N1 da influenza ou de um seu fragmento. Os protocolos para imunizar mamíferos não humanos são bem estabelecidos na técnica. Ver Using Antibodies: A Laboratory Manual,

Editado por: E. Harlow, D. Lane (1998), Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York e Current Protocols in Immunology, Editado por: J. E. Coligan, A. M. Kruisbeek, D. H. Margulies, E. M. Shevach, W. Strober (2001), John Wiley & Sons Inc., New York, cujos teores são aqui
5 incorporados como referência. Os protocolos de imunização frequentemente incluem imunizações múltiplas, ou com ou sem adjuvantes, tais como o adjuvante completo de Freund e o adjuvante incompleto de Freund, mas podem também incluir imunizações de DNA desnudo. Em outra forma de realização, as moléculas de ligação humanas são produzidas pelas células B,
10 as células plasmáticas e/ou de memória derivadas de animais transgênicos. Em ainda outra forma de realização, as moléculas de ligação humanas são produzidas por hibridomas, as quais são preparadas pela fusão das células B produzidas dos mamíferos não humanos transgênicos acima descritos em células imortalizadas. As células B, células plasmáticas e hibridomas, como
15 obteníveis dos mamíferos não humanos transgênicos acima descritos, e as moléculas de ligação humanas como obteníveis dos mamíferos transgênicos não humanos acima descritos, as células B, as células plasmáticas e/ou de memória e os hibridomas, fazem também parte da presente invenção.

Em um outro aspecto, a invenção fornece um método de
20 identificar uma molécula de ligação, tal como uma molécula de ligação humana, por exemplo um anticorpo monoclonal humano ou seu fragmento, especificamente ligando-se ao vírus H5N1 da influenza, ou moléculas de ácido nucleico codificando tais moléculas de ligação, e compreende as etapas de: (a) proceder ao contato de uma porção de moléculas de ligação sobre a
25 superfície de pacotes genéticos replicáveis com o vírus H5N1 da influenza ou um fragmento deste, sob condições conducentes à ligação, (b) selecionar pelo menos uma vez quanto à ligação do pacote genético replicável ao vírus H5N1 da influenza ou a um seu fragmento, (c) separar e recuperar a ligação do pacote genético replicável ao vírus H5N1 da influenza ou a um seu fragmento

dos pacotes genéticos replicáveis que não se liguem ao vírus H5N1 da influenza ou a um seu fragmento. Um pacote genético replicável como aqui usado pode ser procariótico ou eucariótico e inclui células, esporos, leveduras, bactérias, vírus, (bacterió)fago, ribossomas e polissomas. Um pacote genético replicável preferido é um fago. As moléculas de ligação, tais como, por exemplo, Fvs de cadeia única, são apresentadas sobre o pacote genético replicável, isto é, elas são ligadas a um grupo ou molécula localizados em uma superfície externa do pacote genético replicável. O pacote genético replicável é uma unidade triável compreendendo molécula de ligação a ser triada, ligada a uma molécula de ácido nucleico codificando a molécula de ligação. A molécula de ácido nucleico deve ser replicável ou in vivo (por exemplo, um vetor) ou in vitro (por exemplo, por PCR, transcrição e translação). A replicação in vivo pode ser autônoma (quanto a uma célula), com o auxílio dos fatores hospedeiros (quanto a um vírus) ou com o auxílio tanto do hospedeiro quanto do vírus auxiliar (quanto a um fagemídeo). O pacote genético replicável apresentando um conjunto de moléculas de ligação é formado pela introdução de moléculas de ácido nucleico apresentando um conjunto de moléculas de ligação, é formado pela introdução de moléculas de ácido nucleico codificando moléculas de ligação exógena a serem apresentadas nos genomas dos pacotes genéticos replicáveis para formar proteínas de fusão com proteínas endógenas que sejam normalmente expressas da superfície externa dos pacotes genéticos replicáveis. A expressão das proteínas de fusão, o transporte para a superfície externa e a montagem resultam na apresentação de moléculas de ligação exógena da superfície externa dos pacotes genéticos replicáveis.

A(s) etapa(s) de seleção no método de acordo com a presente invenção pode(m) ser realizada(s) com os vírus H5N1 da influenza que sejam vivos e ainda infecciosos ou inativados. A inativação do vírus H5N1 da influenza pode ser realizada pelos métodos de inativação viral bem

conhecidos do técnico habilitado, tais como, inter alia, o tratamento com formalina, β -propiolactona (BPL), mertiolato, e/ou luz ultravioleta. Os métodos para teste, se o vírus H5N1 da influenza ainda estiver vivo, infeccioso e/ou viável ou parcial ou completamente inativado, são bem conhecidos da pessoa habilitada na técnica. O vírus H5N1 da influenza usado no método acima pode ser não isolado, por exemplo presente no soro e/ou no sangue de um indivíduo infectado. O vírus H5N1 da influenza usado pode também ser isolado da cultura de células em um meio adequado.

Em uma forma de realização, o vírus H5N1 da influenza fica em suspensão quanto em contato com os pacotes genéticos replicáveis. Alternativamente, eles podem também ser acoplados com um portador quando o contato ocorre. Em uma forma de realização uma primeira e adicional seleção pode ter lugar contra uma cepa do vírus H5N1 da influenza do mesmo clado. Alternativamente, a primeira e outras séries de seleção podem ser realizadas contras as cepas dos vírus H5N1 da influenza de diferentes clados (por exemplo, a primeira seleção nas cepas do clado 1 e a segunda seleção nas cepas dos clados 2 ou 3).

Alternativamente, a(s) etapa(s) de seleção pode(m) ser realizada(s) na presença de um fragmento do vírus H5N1 da influenza, tais como, por exemplo, as preparações das membranas celulares, as proteínas ou polipeptídeos recombinantes do H5N1, as proteínas de fusão compreendendo as proteínas ou polipeptídeos do H5N1, células expressando as proteínas ou polipeptídeos recombinantes do H5N1, e outros. As partes extracelularmente expostas destas proteínas ou polipeptídeos podem também ser usadas como material de seleção. Os fragmentos do vírus H5N1 da influenza podem ser imobilizados em um material adequado antes do uso ou podem ser usados em suspensão. Em uma forma de realização, a seleção pode ser realizada em diferentes fragmentos do vírus H5N1 da influenza ou em fragmentos de diferentes cepas do vírus H5N1 da influenza. O encontro de combinações de

seleção adequadas acham-se bem dentro do alcance do técnico habilitado. As seleções podem ser realizadas por ELISA ou FACS.

Em ainda um outro aspecto, a invenção fornece um método de se obter uma molécula de ligação especificamente ligando-se a uma cepa do vírus H5N1 da influenza ou a um seu fragmento, ou uma molécula de ácido nucleico codificando uma tal molécula de ligação, em que o método compreende as etapas de a) realizar o método acima descrito de identificar as moléculas de ligação, e b) isolar do pacote genético replicável recuperado a molécula de ligação e/ou a molécula de ácido nucleico codificando a molécula de ligação. A coleta de moléculas de ligação sobre a superfície dos pacotes genéticos replicáveis pode ser uma coleta de scFvs ou Fabs. Uma vez um novo scFv ou Fab tenha sido estabelecido ou identificado com o método acima mencionado de identificar moléculas de ligação ou moléculas de ácido nucleico codificando as moléculas de ligação, o DNA codificando o scFv ou o Fab pode ser isolado das bactérias ou fagos e combinado com técnicas biológicas moleculares padrão para produzir construções codificando scFvsm scFvs bivalentes, Fabs ou imunoglobulinas humanas completas de uma especificidade desejada (por exemplo, IgG, IgA ou IgM). Estas construções podem ser transfectadas em linhagens celulares adequados e os anticorpos monoclonais humanos completos podem eventualmente ser produzidos (ver HuIs et al., 1999; Boel et al., 2000).

Como antes mencionado, o pacote genético replicável preferido é um fago. Os métodos de apresentação de fago para identificar e obter moléculas de ligação (humanas), por exemplo anticorpos monoclonais (humanos), são por ora métodos bem estabelecidos conhecidos pela pessoa habilitada na técnica. Eles são, por exemplo, descritos na Patente U.S. Número 5.696.108; em Burton e Barbas, 1994; em de Kruif et al., 1995b; e em Phage Display: A Laboratory Manual. Editado por: C. F. Barbas, D. R. Burton, J. K. Scott e G. J. Silverman (2001), Cold Spring Harbor Laboratory

Press, Cold Spring Harbor, New York. Todas estas referências são por este meio aqui incorporadas em sua totalidade. Para a construção das bibliotecas de apresentação de fago, as coletas dos genes de região variável de cadeia pesada e leve de anticorpos monoclonais humanos são expressas sobre a superfície do bacteriófago, preferivelmente bacteriófago filamentosos, partículas, por exemplo no formato de Fv (ScFv) ou Fab de cadeia única (ver de Kruif et al., 1995b). Grandes bibliotecas dos fagos expressando fragmentos de anticorpos tipicamente contêm mais do que $1,0 \times 10^9$ especificidades de anticorpos e podem ser montadas das regiões da imunoglobulina V expressas nos linfócitos B de indivíduos imunizados ou não imunizados. Em uma forma de realização específica da invenção, a biblioteca de fago das moléculas de ligação, preferivelmente a biblioteca de fago de scFv, é preparada do RNA isolado das células obtidas de um paciente que tenha sido vacinado contra o vírus da influenza (por exemplo, H5N1), recentemente vacinado contra um patógeno não relacionado, recentemente tenha sofrido de uma infecção do vírus H5N1 da influenza, ou de um indivíduo saudável. O RNA pode ser isolado, inter alia, da medula óssea ou do sangue periférico, preferivelmente linfócitos do sangue periférico ou células B isoladas ou ainda de subpopulações de células B tais como as células B de memória. O paciente pode ser um animal, preferivelmente um ser humano. Em uma forma de realização preferida, as bibliotecas podem ser montadas das regiões da imunoglobulina V expressas pelas células B de memória de IgM.

Alternativamente, as bibliotecas de apresentação de fato podem ser construídas das regiões variáveis da imunoglobulina que tenham sido parcialmente montadas in vitro para introduzir a diversidade de anticorpos adicionais na biblioteca (bibliotecas semi-sintéticas). Por exemplo, as regiões variáveis montadas in vitro contêm estrias de DNA sinteticamente produzido, randomizado ou parcialmente randomizado nessas regiões das moléculas que são importantes para a especificidade dos

anticorpos, por exemplo as regiões de CDR. Os anticorpos de fato específicos para o vírus H5N1 da influenza podem ser selecionados da biblioteca mediante exposição dos vírus ou de seus fragmentos a uma biblioteca de fago para possibilitar a ligação dos fagos expressando fragmentos de anticorpos específicos para o vírus ou seus fragmentos. Os fagos não ligados são removidos por lavagem e os fagos ligados eluídos para infecção das bactérias de *E. coli* e subsequente propagação. Séries múltiplas de seleção e propagação são usualmente necessárias para enriquecer suficientemente quanto à ligação de fagos especificamente ao vírus ou seu fragmento. Se desejável, antes de se expor a biblioteca de fago ao vírus ou a seu fragmento, a biblioteca de fago pode primeiro ser subtraída pela exposição da biblioteca de fago a material não alvo tal como os vírus ou seus fragmentos de uma cepa diferente, isto é, vírus da influenza que não o H5N1. Estes vírus de subtração ou seus fragmentos podem ser ligados a uma fase sólida ou podem estar em suspensão. Os fagos podem também ser selecionados para ligação a antígenos complexos tais como as misturas complexas das proteínas de H5N1 ou (poli)peptídeos opcionalmente suplementados com outro material. As células hospedeiras expressando uma ou mais proteínas ou (poli)peptídeos do vírus H5N1 da influenza podem também ser usadas para fins de seleção. Um método de apresentação de fago com o uso destas células hospedeiras pode ser estendido e melhorado pela subtração de aglutinantes não relevantes durante a triagem mediante adição de um excedente de células hospedeiras não compreendendo nenhuma molécula alvo ou moléculas não alvo que sejam semelhantes, mas não idênticas, ao alvo, e por esse meio fortemente intensificar a oportunidade de encontrar moléculas de ligação relevantes. Naturalmente, a subtração pode ser realizada antes, durante ou após a triagem com vírus ou seus fragmentos. O processo é referido como o processo MABSTRACT® (O MABSTRACT® é uma marca comercial registrada da Crucell Holland B.V.; ver também a Patente U.S. Número 6.265.150, que fica

aqui incorporada como referência).

Em ainda outro aspecto, a invenção fornece um método de se obter uma molécula de ligação potencialmente tendo atividade de neutralização contra o vírus H5N1 da influenza, preferivelmente pelo menos
5 contra as cepas do vírus H5N1 da influenza do clado 1, clado 2 e clado 3, em que o método compreende as etapas de (a) realizar o método de se obter uma molécula de ligação especificamente ligando-se ao vírus H5N1 da influenza ou a um seu fragmento, ou uma molécula de ácido nucleico codificando uma tal molécula de ligação como descrito acima, e (b) verificar se a molécula de
10 ligação isolada tem atividade de neutralização contra o vírus, preferivelmente contra pelo menos as cepas do vírus H5N1 da influenza do clado 1 e do clado 2. Os ensaios para se verificar se uma molécula de ligação tem atividade de neutralização são bem conhecidos na técnica (ver WHO Manual on Animal Influenza Diagnosis and Surveillance, Geneva: Organização Mundial da
15 Saúde, 2005 versão 2002.5).

Em um outro aspecto, a invenção diz respeito a uma molécula de ligação tendo atividade de neutralização obtenível pelos métodos descritos acima.

Em ainda um outro aspecto, a invenção fornece composições
20 contendo pelo menos uma molécula de ligação, preferivelmente um anticorpo monoclonal humano de acordo com a invenção, pelo menos uma sua variante funcional, pelo menos um imunoconjugado de acordo com a invenção, ou uma combinação destes. Além disso, as composições podem compreender, inter alia, a estabilização de moléculas, tais como albumina ou polietileno
25 glicol, ou sais. Preferivelmente, os sais usados são sais que conservam a atividade biológica desejada das moléculas de ligação e não comunicam quaisquer efeitos toxicológicos indesejáveis. Se necessário, as moléculas de ligação humanas da invenção podem ser revestidas sob ou sobre um material para protegê-las da ação de ácidos ou outras condições naturais ou não

naturais que possam inativá-las.

Em ainda um outro aspecto, a invenção fornece composições compreendendo pelo menos uma molécula de ácido nucleico como definido na presente invenção. As composições podem compreender soluções aquosas tais como as soluções aquosas que contenham sais (por exemplo, NaCl ou sais como descrito acima), detergentes (por exemplo, SDS) e/ou outros componentes adequados.

Além disso, a presente invenção diz respeito a composições farmacêuticas que compreendem pelo menos uma molécula de ligação, tal como um anticorpo monoclonal humano da invenção (ou seu fragmento ou variante funcionais), pelo menos um imunoconjugado de acordo com a invenção, pelo menos uma composição de acordo com a invenção, ou combinações destes. A composição farmacêutica da invenção ainda compreende pelo menos um excipiente farmacêuticamente aceitável. Os excipientes farmacêuticamente aceitáveis são bem conhecidos da pessoa habilitada. A composição farmacêutica de acordo com a invenção ainda pode compreender pelo menos um outro agente terapêutico. Agentes adequados são também bem conhecidos do técnico habilitado.

Em uma forma de realização, as composições farmacêuticas podem compreender duas ou mais moléculas de ligação que tenham atividade de neutralização contra o vírus H5N1 da influenza. Em uma forma de realização, as moléculas de ligação apresentam atividade de neutralização sinérgica, quando usadas em combinação. Em outras palavras, as composições compreendem pelo menos duas moléculas de ligação tendo atividade de neutralização, caracterizadas em que as moléculas de ligação atuam sinérgicamente na neutralização do vírus H5N1 da influenza. Como aqui usado, o termo “sinérgico” significa que o efeito combinado das moléculas de ligação, quando usadas em combinação, é maior do que seus efeitos acumulados quando usadas individualmente. As moléculas de ligação

de atuação sinérgica podem ligar-se a diferentes estruturas sobre os mesmos ou distintos fragmentos do vírus H5N1 da influenza. Um meio de se calcular a sinergia é através do índice de combinação. O conceito do índice de combinação (CI) foi descrito por Chou e Talalay (1984). As composições podem também compreender uma molécula de ligação tendo atividade de neutralização e uma molécula de ligação específica do H5N1 não neutralizante. As moléculas de ligação não neutralizantes e específicas do H5N1 de neutralização podem também atuar sinérgicamente na neutralização do vírus H5N1 da influenza.

Uma composição farmacêutica de acordo com a invenção pode ainda compreender pelo menos um outro agente terapêutico, profilático e/ou diagnóstico. Preferivelmente, a composição farmacêutica compreende pelo menos um outro agente profilático e/ou terapêutico. Preferivelmente, referidos outros agentes terapêuticos e/ou profiláticos são agentes capazes de prevenir e/ou tratar uma infecção do vírus H5N1 da influenza e/ou uma condição resultante de uma tal infecção. Agentes terapêuticos e/ou profiláticos incluem, porém sem limitar, agentes antivirais. Tais agentes podem ser moléculas de ligação, moléculas pequenas, compostos orgânicos ou inorgânicos, enzimas, sequências de polinucleotídeos, peptídeos antivirais, etc. Outros agentes que são presentemente usados para tratar de pacientes infectados com o vírus H5N1 da influenza são os inibidores M2 (por exemplo, amantidina, rimantadina) e/ou os inibidores da neuraminidase (por exemplo, zanamivir, oseltamivir). Estes podem ser usados em combinação com as moléculas de ligação da invenção. Agentes capazes de prevenir e/ou tratar de uma infecção do vírus H5N1 da influenza e/ou de uma condição resultante de uma tal infecção que esteja na fase experimental, podem ser usados como outros agentes terapêuticos e/ou profiláticos úteis na presente invenção.

As moléculas de ligação ou as composições farmacêuticas da invenção podem ser testadas em sistemas de modelos de animais adequados,

antes do uso em seres humanos. Tais sistemas de modelos de animais incluem, sem limitar, camundongo, furão e macaco.

Tipicamente, composições farmacêuticas devem ser estéreis e estáveis sob as condições de produção e armazenamento. As moléculas de ligação, os imunoconjugados as moléculas de ácido nucleico ou as composições da presente invenção, podem estar na forma de pó para reconstituição no excipiente apropriado farmacêuticamente aceitável antes ou no momento da liberação. No caso de pós estéreis para a preparação de soluções injetáveis estéreis, os métodos preferidos de preparação são a secagem a vácuo e a secagem por congelamento (liofilização) que produz um pó do ingrediente ativo mais qualquer ingrediente adicional desejado de uma sua solução previamente filtrada de forma estéril.

Alternativamente, as moléculas de ligação, os imunoconjugados, as moléculas de ácido nucleico ou as composições da presente invenção podem estar em solução e o excipiente apropriado farmacêuticamente aceitável pode ser adicionado e/ou misturado antes ou no momento da liberação, para prover uma forma injetável de dosagem unitária. Preferivelmente, o excipiente farmacêuticamente aceitável usado na presente invenção é adequado para alta concentração do medicamento, pode manter a fluidez apropriada e, se necessário, pode retardar a absorção.

A escolha da via de administração ótima das composições farmacêuticas será influenciada por vários fatores, incluindo as propriedades físico-químicas das moléculas ativas dentro das composições, a urgência da situação clínica e o relacionamento das concentrações plasmáticas das moléculas ativas com o efeito terapêutico desejado. Por exemplo, se necessário, as moléculas de ligação da invenção podem ser preparadas com portadores que as protegerão contra a liberação rápida, tal como uma formulação de liberação controlada, incluindo implantes, emplastros transdérmicos, e sistemas de liberação microencapsulada. Os polímeros

biodegradáveis biocompatíveis podem inter alia ser usados, tais como o vinil acetato de etileno, polianidridos, ácido poliglicólico, colágeno, poliortoésteres e ácido polilático. Além disso, pode ser necessário cobrir as moléculas de ligação, ou coadministrar as moléculas de ligação, com um material ou composto que impeça a inativação das moléculas de ligação humanas. Por exemplo, as moléculas de ligação podem ser administradas a um paciente em um portador apropriado, por exemplo lipossomas ou um diluente.

As vias de administração podem ser divididas em duas categorias principais, a administração oral e a parenteral. A via de administração preferida é intravenosa ou por inalação.

As formas de dosagem oral podem ser formuladas, inter alia, como tabletes, trociscos, pastilhas, suspensões aquosas ou oleosas, pós ou grânulos dispersáveis, emulsões, cápsulas duras, cápsulas de gelatina macia, xaropes ou elixires, pílulas, drágeas, líquidos, géis ou pastas. Estas formulações podem conter excipientes farmacêuticos incluindo, porém sem limitar, diluentes inertes, agentes granuladores ou desintegrantes, agentes de ligação, agentes lubrificantes, preservativos, colorantes, agentes aromatizantes ou edulcorantes, óleos vegetais ou minerais, agentes umectantes, e agentes espessantes.

As composições farmacêuticas da presente invenção podem também ser formuladas para administração parenteral. As formulações para administração parenteral podem estar, inter alia, na forma de injeção ou de soluções ou suspensões de infusão não tóxicas estéreis isotônicas aquosas ou não aquosas. As soluções ou suspensões podem compreender agentes que sejam não tóxicos para o receptor nas dosagens e concentrações empregadas, tais como o 1,3-butanodiol, a solução de Ringer, a solução de Hank, a solução isotônica de cloreto de sódio, óleos, ácidos graxos, agentes anestésicos locais, preservativos, tampões, agentes de aumento da viscosidade ou da solubilidade, antioxidantes solúveis em água, antioxidantes solúveis em óleo,

e agentes de quelação de metais.

Em um outro aspecto, as moléculas de ligação tais como os anticorpos monoclonais humanos (seus fragmentos funcionais e variantes), imunoconjugados, composições, ou composições farmacêuticas da invenção, podem ser usadas como um medicamento. Assim, um método de tratamento e/ou prevenção da infecção do vírus H5N1 da influenza com o uso das moléculas de ligação, dos imunoconjugados, das composições, ou das composições farmacêuticas da invenção, é outra parte da presente invenção. As moléculas acima mencionadas podem, inter alia, ser usadas no diagnóstico, na profilaxia, no tratamento, ou na combinação destes, de uma infecção do vírus H5N1 da influenza. Elas são adequadas para o tratamento de pacientes ainda não tratados que estejam sofrendo de uma infecção do vírus H5N1 da influenza e pacientes que tenham sido ou são tratados quanto a uma infecção do vírus H5N1 da influenza. Elas podem ser usadas para pacientes tais como os trabalhadores em tratamento da saúde, parentes de pacientes infectados, criadores (de aves domésticas), etc.

As moléculas ou composições acima mencionadas podem ser empregadas em combinação com outras moléculas úteis no diagnóstico, profilaxia e/ou tratamento. Elas podem ser usadas in vitro, ex vivo ou in vivo. Por exemplo, as moléculas de ligação tais como os anticorpos monoclonais humanos (ou suas variantes funcionais), os imunoconjugados, as composições ou composições farmacêuticas da invenção podem se co-administradas com uma vacina contra o vírus H5N1 da influenza (se disponível). Alternativamente, a vacina pode também ser administrada antes ou após a administração das moléculas da invenção. Ao invés de uma vacina, agentes antivirais podem também ser empregados em combinação com as moléculas de ligação da presente invenção. Agentes antivirais adequados são mencionados acima.

As moléculas são tipicamente formuladas nas composições e

nas composições farmacêuticas da invenção em uma quantidade terapêutica ou diagnosticamente eficaz. Alternativamente, elas podem ser formuladas e administradas separadamente. Por exemplo, as outras moléculas tais como os agentes antivirais podem ser aplicadas sistemicamente, ao passo que as moléculas de ligação da invenção podem ser aplicadas intravenosamente.

Os regimes de dosagem podem ser ajustados para proporcionar uma resposta desejada ótima (por exemplo, uma resposta terapêutica). Uma faixa de dosagem adequada pode, por exemplo, ser de 0,1 a 100 mg/kg de peso corporal, preferivelmente de 0,5 a 15 mg/kg de peso corporal. Além disso, por exemplo, um bolo único pode ser administrado, várias doses divididas podem ser administradas no decorrer do tempo, ou a dose pode ser proporcionalmente reduzida ou aumentada como indicado pelas exigências da situação terapêutica. As moléculas e composições de acordo com a presente invenção são preferivelmente estéreis. Os métodos para tornar estas moléculas e composições estéreis são bem conhecidos na técnica. As outras moléculas úteis no diagnóstico, profilaxia e/ou tratamento podem ser administradas em um regime de dosagem semelhante conforme proposto para as moléculas de ligação da invenção. Se as outras moléculas forem administradas separadamente, elas podem ser administradas a um paciente antes (por exemplo 2 minutos, 5 minutos, 10 minutos, 15 minutos, 30 minutos, 45 minutos, 60 minutos, 2 horas, 4 horas, 6 horas, 8 horas, 10 horas, 12 horas, 14 horas, 16 horas, 18 horas, 20 horas, 22 horas, 24 horas, 2 dias, 3 dias, 4 dias, 5 dias, 7 dias, 2 semanas, 4 semanas ou 6 semanas antes), concomitantemente com, ou subsequente (por exemplo, 2 minutos, 5 minutos, 10 minutos, 15 minutos, 30 minutos, 45 minutos, 60 minutos, 2 horas, 4 horas, 6 horas, 8 horas, 10 horas, 12 horas, 14 horas, 16 horas, 18 horas, 20 horas, 22 horas, 24 horas, 2 dias, 3 dias, 4 dias, 5 dias, 7 dias, 2 semanas, 4 semanas ou 6 semanas após) à administração de uma ou mais das moléculas de ligação humanas ou composições farmacêuticas da invenção. O regime de

dosagem exato é usualmente escolhido durante os testes clínicos nos pacientes humanos.

As moléculas de ligação humanas e as composições farmacêuticas contendo as moléculas de ligação humanas, são particularmente úteis, e frequentemente preferidas, quando sejam administradas aos seres humanos como agentes terapêuticos in vivo, uma vez que a resposta imune do receptor ao anticorpo administrado frequentemente será substancialmente menor do que aquela ocasionada pela administração de uma molécula monoclonal murina, quimérica ou humanizada.

Em outro aspecto, a invenção diz respeito ao uso das moléculas de ligação tais como os anticorpos monoclonais humanos de neutralização (fragmentos funcionais e suas variantes), imunoconjugados, moléculas de ácido nucleico, composições ou composições farmacêuticas de acordo com a invenção na preparação de um medicamento para o diagnóstico, profilaxia, tratamento, ou combinações destes, de uma infecção do vírus H5N1 da influenza.

Em seguida a isso, os kits compreendendo pelo menos uma molécula de ligação tal como um anticorpo monoclonal humano de neutralização (fragmentos funcionais e suas variantes), pelo menos um imunoconjugado, pelo menos uma molécula de ácido nucleico, pelo menos uma composição, pelo menos uma composição farmacêutica, pelo menos um vetor, pelo menos um hospedeiro de acordo com a invenção, ou uma combinação destes, são também parte da presente invenção. Opcionalmente, os componentes acima descritos dos kits da invenção são acondicionados em recipientes adequados e rotulados quanto ao diagnóstico, profilaxia e/ou tratamento das condições indicadas. Os componentes acima mencionados podem ser acondicionados em recipientes unitários ou de dose múltipla como uma solução aquosa, preferivelmente estéril, ou como uma formulação liofilizada, preferivelmente estéril, para reconstituição. Os recipientes podem

ser formados de uma variedade de materiais tais como vidro ou plástico, e podem ter uma porta de acesso estéril (por exemplo, o recipiente pode ser um saco de solução intravenosa ou um frasco tendo uma tampa penetrável por uma agulha hipodérmica de injeção). O kit pode ainda compreender mais

5 recipientes contendo um tampão farmacêuticamente aceitável. Ele pode ainda incluir outros materiais desejáveis de um ponto de vista comercial e do usuário, incluindo outros tampões, diluentes, filtros, agulhas, seringas, meio de cultura para um ou mais dos hospedeiros adequados e, possivelmente, ainda pelo menos um outro agente terapêutico, profilático ou diagnóstico.

10 Associadas com os kits pode haver instruções costumeiramente incluídas nas embalagens comerciais dos produtos terapêuticos, profiláticos ou diagnósticos, que contenham informações acerca, por exemplo, das indicações, uso, dosagem, fabricação, administração, contra-indicações e/ou advertências concernentes ao uso de tais produtos terapêuticos, profiláticos ou

15 diagnósticos.

A invenção ainda diz respeito a um método de detectar o vírus H5N1 da influenza em uma amostra, em que o método compreenda as etapas de (a) colocar em contato uma amostra com uma quantidade diagnosticamente eficaz de uma molécula de ligação (fragmentos funcionais e suas variantes)

20 ou um imunoconjugado de acordo com a invenção, e (b) determinar se a molécula de ligação ou imunoconjugado especificamente se liga a uma molécula da amostra. A amostra pode ser uma amostra biológica incluindo, sem limitar, sangue, soro, fezes, esputo, aspirados nasofaríngeos, lavagens brônquicas, urina, tecido ou outro material biológico de pacientes

25 (potencialmente) infectados, ou uma amostra não biológica tal como água, bebida etc. Os pacientes (potencialmente) infectados, podendo ser pacientes humanos, mas também animais que sejam suspeitos de serem portadores do vírus H5N1 da influenza, podem ser testados quanto a presença do vírus, com o uso das moléculas de ligação humanas ou imunoconjugados da invenção. A

amostra pode primeiro ser manipulada para torná-la mais adequada para o método de detecção. Manipulação significa, inter alia, tratar a amostra suspeita de conter e/ou contendo o vírus, de uma maneira tal que o vírus se desintegre em componentes antigênicos tais como proteínas, (poli)peptídeos ou outros fragmentos antigênicos. Preferivelmente, as moléculas de ligação humanas ou imunoconjugados da invenção são colocadas em contato com a amostra sob condições que possibilitem a formação de um complexo imunológico entre as moléculas de ligação humanas e o vírus ou seus compostos antigênicos que possam estar presentes na amostra. A formação de um complexo imunológico, se houver algum, indicando a presença do vírus na amostra, é então detectada e medida por meios adequados. Tais métodos incluem, inter alia, imunoenaios de ligação homogênea e heterogênea, tais como os radioimunoenaios (RIA), ELISA, imunofluorescência, imunoistoquímica, FACS, BIACORE e as análises de Western blot.

Técnicas de ensaios preferidas, especialmente para triagem clínica de larga escala de soros e sangue dos pacientes e de produtos derivados do soro, são o ELISA e as técnicas de Western blot. Os testes de ELISA são particularmente preferidos. Para uso como reagentes nestes ensaios, as moléculas de ligação ou os imunoconjugados da invenção são ligados convenientemente à superfície interna dos reservatórios microtituladores. As moléculas de ligação ou imunoconjugados da invenção podem ser diretamente ligados ao reservatório microtitulador. Entretanto, a ligação máxima das moléculas de ligação ou imunoconjugados da invenção aos reservatórios pode ser realizada mediante o pré-tratamento dos reservatórios com polilisina antes da adição das moléculas de ligação ou imunoconjugados da invenção. Além disso, as moléculas de ligação ou imunoconjugados da invenção podem ser covalentemente ligados por meios conhecidos aos reservatórios. Geralmente, as moléculas de ligação ou imunoconjugados são usados entre 0,01 a 100 µg/ml para revestimento,

embora quantidade mais elevadas assim como menores, possam também ser usadas. As amostras são então adicionadas aos reservatórios revestidos com as moléculas de ligação ou imunoconjugados da invenção.

Além disso, as moléculas de ligação da invenção podem ser usadas para identificar estruturas de ligação específicas do vírus H5N1 da influenza. As estruturas de ligação podem ser epítomos sobre as proteínas e/ou os polipeptídeos. Elas podem ser lineares, mas também estruturais e/ou conformacionais. Em uma forma de realização, as estruturas de ligação podem ser analisadas por meio da análise PEPSCAN (ver, inter alia, a WO 84/03564, a WO 93/09872, Slootstra et al., 1996). Alternativamente, uma biblioteca de peptídeos aleatória compreendendo peptídeos de uma proteína do vírus H5N1 da influenza, pode ser examinada quanto a peptídeos capazes de ligação às moléculas de ligação da invenção. As estruturas de ligação/peptídeos/epítomos encontrados podem ser usadas como vacinas e para o diagnóstico das infecções do vírus H5N1 da influenza. No caso em que fragmentos outros que não as proteínas e/ou os polipeptídeos sejam ligados pelas moléculas de ligação, as estruturas de ligação podem ser identificadas por espectrometria de massa, cromatografia líquida de alto desempenho e ressonância magnética nuclear.

Em um outro aspecto, a invenção fornece um método de triar uma molécula de ligação (ou um seu fragmento ou variante funcionais) para ligação específica ao mesmo epítomo do vírus H5N1 da influenza, como o epítomo ligado por uma molécula de ligação humana da invenção, em que o método compreende as etapas de (a) proceder ao contato de uma molécula de ligação a ser examinada, uma molécula de ligação da invenção e o vírus H5N1 da influenza ou um seu fragmento, (b) medir se a molécula de ligação a ser examinada é capaz de competir para especificamente ligar-se ao vírus H5N1 da influenza ou a um seu fragmento, com a molécula de ligação da invenção. Em uma outra etapa, pode ser determinado se as moléculas de

ligação que sejam capazes de competir para especificamente ligarem-se ao vírus H5N1 da influenza ou a um seu fragmento, têm atividade de neutralização. Uma molécula de ligação que seja capaz de competir para especificamente ligar-se ao vírus H5N1 da influenza ou a um seu fragmento, com a molécula de ligação da invenção, é outra parte da presente invenção. No método de triagem acima descrito, “especificamente ligar-se ao mesmo epítopo” também inclui ligação específica substancial ou essencialmente ao mesmo epítopo, como o epítopo ligado pela molécula de ligação da invenção. A capacidade de bloquear, ou competir com, a ligação das moléculas de ligação da invenção ao vírus H5N1 da influenza, tipicamente indica que uma molécula de ligação a ser examinada se liga a um epítopo ou sítio de ligação sobre o vírus H5N1 da influenza que estruturalmente se sobrepõe ao sítio de ligação sobre o vírus H5N1 da influenza que é imuno-especificamente reconhecido pelas moléculas de ligação da invenção. Alternativamente, isto pode indicar que uma molécula de ligação a ser examinada se liga a um epítopo ou sítio de ligação que esteja suficientemente próximo do sítio de ligação imuno-especificamente reconhecido pelas moléculas de ligação da invenção para estericamente ou de outra forma inibir a ligação das moléculas de ligação da invenção ao vírus H5N1 da influenza.

Em geral, a inibição competitiva é medida por meio de um ensaio, em que uma composição antigênica, isto é, uma composição contendo o vírus H5N1 da influenza ou seus fragmentos, é misturada com as moléculas de ligação de referência, isto é, as moléculas de ligação da invenção, e as moléculas de ligação a serem examinadas. Usualmente, as moléculas de ligação a serem examinadas se acham presente em excesso. Os protocolos com base nos ELISAS e Western blotting são adequados para uso em tais estudos simples de competição. Mediante o uso de anticorpos de espécie ou isótipo secundário, uma pessoa será capaz de detectar apenas as moléculas de ligação de referência ligadas, cuja ligação será reduzida pela presença de uma

molécula de ligação a ser examinada, que reconheça substancialmente o mesmo epítopo. Na condução de um estudo de competição das moléculas de ligação entre uma molécula de ligação de referência e qualquer molécula de ligação a ser examinada (independente da espécie ou do isótipo), pode-se

5 primeiro rotular a molécula de ligação de referência com o rótulo detectável, tal como, por exemplo, a biotina, um rótulo enzimático, um radioativo ou outro, para possibilitar a identificação subsequente. As moléculas de ligação identificadas por estes ensaios de competição (“moléculas de ligação competitivas” ou “moléculas de ligação de reação cruzada”) incluem, porém

10 sem limitar, anticorpos, fragmentos de anticorpos e outros agentes de ligação que se liguem a um epítopo ou sítio de ligação ligado pela molécula de ligação de referência, isto é, uma molécula de ligação da invenção, bem como anticorpos, fragmentos de anticorpos e outros agentes de ligação que se liguem a um epítopo ou sítio de ligação suficientemente próximo de um

15 epítopo ligado pela molécula de ligação de referência para que a ligação competitiva entre as moléculas de ligação a serem examinadas e a molécula de ligação de referência ocorra. Preferivelmente, as moléculas de ligação competitivas da invenção, quando presentes em excesso, inibirão a ligação específica de uma molécula de ligação de referência a uma espécie alvo

20 selecionada em pelo menos 10 %, preferivelmente pelo menos 25 %, mais preferível em pelo menos 50 %, e o mais preferível em pelo menos 75 % a 90 %, ou ainda mais. A identificação de uma ou mais moléculas de ligação competitivas que se liguem ao redor, substancialmente, essencialmente, ou ao mesmo epítopo como as moléculas de ligação da invenção, é uma matéria

25 técnica direta. Como a identificação das moléculas de ligação competitiva é determinada em comparação com uma molécula de ligação de referência, isto é, uma molécula de ligação da invenção, será entendido que determinar realmente o epítopo ao qual a molécula de ligação de referência e a molécula de ligação competitiva se ligam, não é de qualquer forma necessário de modo

a identificar-se uma molécula de ligação competitiva que se ligue ao mesmo ou substancialmente ao mesmo epítipo como a molécula de ligação de referência.

EXEMPLOS

5 Para ilustrar a invenção, os seguintes exemplos são fornecidos. Os exemplos não intentam limitar o escopo da invenção, sob qualquer hipótese.

EXEMPLO 1

CONSTRUÇÃO DAS BIBLIOTECAS DE APRESENTAÇÃO DE FAGO 10 scFv USANDO O RNA EXTRAÍDO DAS CÉLULAS B DE MEMÓRIA

Sangue periférico foi colhido de doadores saudáveis normais por venopuntura em tubos de amostras anticoagulação de EDTA. Uma amostra de sangue (45 ml) foi diluída duas vezes com PBS e alíquotas de 30 ml foram reforçadas com 10 ml de Ficoll-Hypaque (Pharmacia) e
15 centrifugados em 900 xg por 20 minutos na temperatura ambiente, sem falhas. O sobrenadante foi removido cuidadosamente para logo acima da camada branca contendo a fração linfocítica e trombocítica. Em seguida, esta camada foi cuidadosamente removida (~10 ml), transferida para um tubo de 50 ml fresco e lavada por três vezes com 40 ml de PBS e girada em 400 xg por 10
20 minutos na temperatura ambiente para remover os trombócitos. A pelota obtida contendo os linfócitos foi recolocada em suspensão em meio RPMI contendo 2 % de FBS e o número celular foi determinado por contagem das células. Aproximadamente 1×10^8 linfócitos foram manchados por classificação celular fluorescente com o uso de CD24, CD27 e IgM
25 superficial como marcadores para o isolamento das células B de memória de IgM. Um aparelho Becton Dickinson Digital Vantage ajustado no Modo de Produção foi usado para separação e isolamento físico das células B de memória. Os linfócitos foram trancados como a pequena população compacta da janela FSC/SSC. Células B de memória (CD24+/CD27+) foram

subsequentemente separadas das células B ingênuas (CD24+/CD27+) e das células T de memória (CD24+/CD27+). Em uma etapa a seguir, as células B de memória de IgM (IgM+) foram separadas das células B de memória de mudança (IgM-) com o uso da expressão de IgM. Nesta etapa, as células B de memória de IgM foram classificadas em um tubo de amostras separado. 1 x 10⁵ células foram coletadas em DMEM/50 % de FBS e, após a conclusão da classificação, elas foram centrifugadas em 400 xg por 10 minutos e lisadas em 500 µl de solução de extração de RNA total de TRIZOL (Invitrogen). O RNA foi extraído da solução de lise com o uso de 200 µl de clorofórmio e precipitação de isopropanol como detalhado no protocolo da solução de TRIZOL. Em seguida, 1 µl de Pellet Paint (Novogen) foi aplicado para intensificar e visualizar o processo de pelletização. A preparação completa do RNA foi dissolvida em 23 µl de água pura tratada com DEPC (Invitrogen) e usada para conversão do cDNA com Superscript III Reverse Transcriptase (Invitrogen). 1 µl de Random Hexamers (500 ng/µl) (Promega) foi adicionado à amostra de RNA e misturado e fundido em 65 °C por 5 minutos em uma máquina de PCR de tampa aquecida. A amostra foi esfriada rapidamente sobre gelo úmido e os seguintes componentes foram adicionados: 8 µl de tampão 5X RT (250 mM de Tris-HCl pH 8,3, 375 mM de KCl, 15 mM de MgCl₂), 2 µl de dNTPs (10 mM de cada) (Invitrogen), 2 µl de DTT (100 mM), 2 ml de Inibidor da RNase (40 U/µl) (Promega), 2 µl de Superscript III (200 U/µl) (Invitrogen). A mistura obtida foi primeiramente incubada por 5 minutos na temperatura ambiente e depois transferida para uma máquina de PCR de tampa aquecida em 50 °C por uma hora. A reação foi interrompida por aquecimento até 75 °C por 15 minutos. O cDNA obtido foi diluído até 200 µl com água ultra-pura e armazenado em -20 °C até outro uso.

Uma abordagem de amplificação de PCR de duas séries foi aplicada com o uso dos conjuntos de iniciadores apresentados nas Tabelas 1 e 2, para isolar as regiões de imunoglobulina VH e VL do repertório do doador

respectivo. A formulação de PCR para amplificação usada na totalidade do procedimento foi como segue: 5 µl de gabarito de cDNA, 32,75 µl de água ultra-pura, 2,5 µl de cada iniciador (10 µM), 5 µl de tampão de 10X PCR (200 mM de Tris-HCl pH 8,4, 500 mM de KCl), 1,5 µl de MgCl₂ (50 mM), 0,5 µl de dNTP's (25 mM de cada), 0,25 µl de polimerase Taq (5 U/µl) (Invitrogen). A primeira amplificação da série sobre o respectivo cDNA com o uso dos conjuntos de iniciadores mencionados na Tabela 1, produziu 7,6 e 9 produtos de cerca de 650 pares de base para as regiões respectivamente VH, Vcapa e Vlambda. Quanto à amplificação da região VH das células B de memória de IgM, o iniciador constante de OCM foi usado em combinação com OH1 a OH7. O programa de ciclagem térmica para as amplificações da primeira série foi: 2 minutos a 96 °C (etapa de desnaturação), 30 ciclos de 30 segundos a 96 °C/30 segundos a 55 °C/60 segundos a 72 °C, 10 minutos a 72 °C de alongamento final e 4 °C de refrigeração. Os produtos foram carregados e isolados de 1 % de gel de agarose com o uso de colunas de extração de gel (Qiagen) e eluídos em 50 µl de Tris 1 mM-HCl pH 8,0. Dez por cento dos produtos da primeira série (5 µl) foram submetidos à amplificação da segunda série com o uso dos iniciadores mencionados na Tabela 2. Estes iniciadores foram estendidos com sítios de restrição possibilitando a clonagem direcional das respectivas regiões VL e VH no vetor de apresentação de fago PDV-C06. O programa da PCR para a segunda série de amplificações foi como segue: 2 minutos a 96 °C (etapa de desnaturação), 30 ciclos de 30 segundos a 96 °C/30 segundos a 60 °C/60 segundos a 72 °C, 10 minutos a 72 °C de alongamento final e 4 °C de refrigeração. Os produtos da segunda série (~350 pares de base) foram primeiro reunidos de acordo com a ocorrência natural dos segmentos J encontrados nos produtos de genes de imunoglobulina, resultando em 7, 6 e 9 aglomerados para respectivamente as regiões variáveis VH, Vcapa e Vlambda (ver as Tabelas 3 e 4). Para se obter uma distribuição normalizada das sequências de imunoglobulina na biblioteca imune, os 6

aglomerados Vcapa e os 9 Vlambda de cadeia leve foram misturados de acordo com os percentuais mencionados na Tabela 3. Este aglomerado VL (3 µg) final único foi digerido durante a noite com as enzimas de restrição SalI e NotI, carregados e isolados de um gel de agarose a 1,5 % (~350 pares de base) usando-se as colunas de extração de gel Qiagen, e ligados no vetor PDV-C06 cortados com SalI-NotI (~5000 pares de base) como segue: 10 µl do vetor PDV-C06 (50 ng/µl), 7 µl do inserto VL (10 ng/µl), 5 µl de 10X tampão de ligação (NEB), 2,5 T4 DNA Ligase (400 U/µl) (NEB), 25,5 µl de água ultra-pura (a relação de vetor para inserto foi de 1:2). A ligação foi realizada durante a noite em um banho de água de 16 °C. A seguir, o volume foi duplicado com água, extraído com um volume igual de fenol-clorofórmio-álcool isoamílico (75:24:1) (Invitrogen), seguido pela extração de clorofórmio (Merck) e precipitado com 1 µl de Pellet Paint (Novogen), 10 µl de acetato de sódio (3 M, pH 5,0) e 100 µl de isopropanol por 2 horas em -20 °C. A amostra obtida foi subsequentemente centrifugada em 20.000 xg por 30 minutos em 4 °C. O precipitado obtido foi lavado com 70 % de etanol e centrifugado por 10 minutos em 20.000 xg na temperatura ambiente. O etanol foi removido por aspiração a vácuo e a pelota foi secada em ar por vários minutos e depois dissolvida em 50 µl de tampão contendo Tris 10 mM-HCl, pH 8,0. 1 µl da mistura de ligação foi usado para a transformação de 40 µl de células eletrocompetentes TG-1 (Stratagene) em uma cubeta de eletroporação de 0,1 cm esfriada (Biorad) com o uso de um aparelho Genepulser II (Biorad) ajustado em 1,7 kV, 200 Ohm, 25 µF (constante do tempo de ~4,5 mseg). Diretamente após o pulso, as bactérias foram jateadas da cubeta com 1000 µl de meio SOC (Invitrogen) contendo 5 % (p/v) de glicose (Sigma) em 37 °C e transferidas para um tubo de cultura de fundo redondo de 15 ml. Outros 500 µl de SOC/glicose foram usados para jatear as bactérias residuais da cubeta e foram adicionados ao tubo de cultura. As bactérias foram recuperadas mediante cultura por exatamente uma hora em 37 °C em uma incubadora de

agitação em 220 rpm. As bactérias transformadas foram plaqueadas sobre grandes placas de Petri quadradas de 240 mm (NUNC) contendo 200 ml de ágar 2TY (16 g/litro de bacto-triptona, 10 g/litro de extrato de bacto-levedura, 5 g/litro de NaCl, 15 g/litro de ágar, pH 7,0) suplementados com 50 µg/ml de ampicilina e 5 % (p/v) de glicose (Sigma). Uma diluição de 1 a 1000 foi plaqueada para fins de contagem sobre placas de Petri de 15 cm contendo o mesmo meio. Este procedimento de transformação foi sequencialmente repetido vinte vezes e a biblioteca completa foi colocada sobre um total de trinta grandes placas de Petri quadradas e cultivada durante a noite em um forno de cultura a 37 °C. Tipicamente, ao redor de 1×10^7 cfu foram obtidos com o uso do protocolo acima. A biblioteca de cadeia leve do intermediário VL foi colhida das placas mediante raspagem branda das bactérias em meio de 10 ml de 2TY por placa. A massa celular foi determinada pela medição da OD600 e duas vezes 500 OD das bactérias foram usadas para a preparação do máxi-DNA plasmídeo com o uso de duas colunas maxiprep P500 (Qiagen) de acordo com as instruções do fabricante.

Análogo às regiões variáveis VL, a segunda série de produtos VH-JH foi primeiro misturada entre si para se obter a distribuição de uso do segmento J normal (ver Tabela 4), resultando em 7 subgrupos de VH denominados PH1 a PH7. Os grupos foram misturados para se adquirir uma distribuição de sequências normalizada com o uso dos percentuais apresentados na Tabela 4, obtendo-se uma fração de VH que foi digerida com as enzimas de restrição SfiI e XhoI e ligada na biblioteca intermediária de PDV-VI cortada em SfiI-XhoI obtida como descrito acima. A ligação estabelecida, o método de purificação, a transformação subsequente de TG1 e a colheita das bactérias, foram exatamente como descrito para a biblioteca intermediária de VL (ver acima). A biblioteca final (aproximadamente 5×10^6 cfu) foi conferida quanto à frequência do inserto com uma PCR de colônia usando um conjunto de iniciadores flanqueando as regiões VH-VL inseridas.

Mais do que 95 % das colônias apresentaram inserto de comprimento correto (ver a Tabela 5). Os produtos da PCR de colônia foram usados para a análise de sequência de DNA subsequente para conferir a variação de sequências e para avaliar o percentual de colônias apresentando uma ORF completa. Esta foi tipicamente acima dos 70 % (ver Tabela 5). A frequência das mutações nos genes V foi também analisada. Das 50 sequências, 47 (94 %) não ficaram na configuração da linha germinativa, indicativo de um processo de maturação e consistente com o fenótipo de memória das células B usadas como uma fonte de RNA para a biblioteca. Finalmente, a biblioteca foi resgatada e amplificada mediante o uso de fagos auxiliares CT (ver a WO 02/103012) e foi usada para seleção de anticorpos de fago por métodos de classificação como descrito abaixo.

EXEMPLO 2

SELEÇÃO DE FAGOS CARREGANDO FRAGMENTOS DE F_v DE CADEIA ÚNICA CONTRA O H5N1

Os fragmentos de anticorpos foram selecionados com o uso das bibliotecas de apresentação de fago de anticorpos construídas essencialmente como descrito acima, e tecnologia geral de apresentação de fago, e tecnologia MABSTRACT[®] essencialmente como descrito na Patente U.S. Número 6.265.150 e na WO 98/15833 (ambas as quais sendo aqui incorporadas como referência). Além disso, os métodos e os fagos auxiliares, como descrito na WO 02/103012 (que é aqui incorporada como referência, foram usados na presente invenção.

A seleção foi realizada em relação ao subtipo H5 da hemaglutinina (HA) recombinante (A/Vietnam/1203/2004; ver SEQ ID NO: 110) produzida com o uso de vetores de baculovírus em células de insetos (Protein Sciences, CT, USA). A sequência de aminoácidos de HA do isolado A/Vietnam/1194/2004 (H5N1TV) e a sequência de aminoácidos de consenso representando HAs das cepas isoladas na Indonésia e na China (H5N1IC) são

apresentadas na SEQ ID NO: 111 e na SEQ ID NO: 112, respectivamente. As seleções foram também realizadas contra o HA recombinante solúvel (sHA) do H5N1. A sequência codificando para a parte extracelular (solúvel) de HA (sHA) do isolado A/Vietnam/1194/2004 (H5N1), representando os HAs identificados nas cepas de influenza isoladas na Tailândia e no Vietnã (sHA de H5N1TV, SEQ ID NO: 113) em 2004 (clado 1) e uma sequência de consenso representando partes solúveis dos HAs das cepas de H5N1 isoladas na Indonésia e na China (sHA de H5N1IC, SEQ ID NO: 114) em 2003/2004 (clado 2) foram clonadas em um vetor de expressão contendo myc- e his-tag usando-se técnicas padrão de clonagem de DNA. Os HAs de H5N1TV e H5N1IC diferem em 9 posições do aminoácido, todas localizadas na subunidade HA1 das moléculas. As transfecções do DNA foram realizadas em células PER.C6 para expressão transiente e/ou estável com o uso de técnicas padrão. O sHA foi purificado do sobrenadante da cultura com o uso de cromatografia de afinidade de quelato de metal com o uso de Colunas HisTrap[®] FF (Amersham Biosciences) de acordo com as instruções do fabricante.

Os antígenos HA (HA e sHA recombinantes de H5N1TV) foram diluídos em PBS (5,0 µg/ml), adicionados a Tubos MaxiSorp[®] Nunc-Immuno (Nunc) e incubados durante a noite em 4 °C em uma roda giratória. Os imuntubos foram esvaziados e lavados por três vezes em tampão de bloco [2 % de leite em pó desengordurado (ELK) em PBS]. Subsequentemente, os imuntubos foram enchidos completamente com tampão de bloco e incubados por 1 a 2 horas na temperatura ambiente. Além disso, os imuntubos foram cobertos durante a noite com anticorpo anti-myc e incubados com tampão de bloco contendo 5 µg/ml de sHA rotulado myc de H5N1TV. Alíquotas das biblioteca de apresentação de fago agrupadas [500 a 1000 µl, $0,5 \times 10^{13}$ a 1×10^{13} cfu, amplificadas com o uso do fago auxiliar CT (ver WO 02/103012)] foram bloqueadas em tampão de bloqueio suplementado com 10 % de soro

bovino fetal inativado sem calor e 2 % de soro de camundongo por 1 a 2 horas na temperatura ambiente. A biblioteca de fago bloqueada foi adicionada aos imunotubos, incubada por 2 horas na temperatura ambiente, e lavada com tampão de lavagem [0,05 % (v/v) de Tween-20 em PBS] para remover fagos não ligados. Os fagos ligados foram eluídos do respectivo antígeno por incubação com 1 ml de trietilamina (TEA) 100 mM por 10 minutos na temperatura ambiente. Subsequentemente, os fagos eluídos foram misturados com 0,5 ml de Tris 1 M-HCl, pH 7,5, para neutralizar o pH. Esta mistura foi usada para infectar 5 ml de uma cultura de *E. coli* XL1-Blue que havia sido cultivada em 37 °C a uma OD 600 nm de aproximadamente 0,3. Os fagos foram deixados infeccionar as bactérias XL1-Blue por 30 minutos em 37 °C. Depois, a mistura foi centrifugada por 10 minutos em 3000 xg na temperatura ambiente e a pelota bacteriana foi recolocada em suspensão em 0,5 ml de meio de extrato de levedura de 2-triptona (2TY). A suspensão bacteriana obtida foi dividida sobre duas placas de ágar 2TY suplementadas com tetraciclina, ampicilina e glicose. Após a incubação das placas durante a noite em 37 °C, as colônias foram raspadas das placas e usadas para preparar uma biblioteca de fago enriquecida, essencialmente como descrito por De Kruif et al. (1995a) e na WO 02/103012. Resumidamente, as bactérias raspadas foram usadas para inocular o meio 2TY contendo ampicilina, tetraciclina e glicose e cultivadas em uma temperatura de 37 °C a uma OD 600 nm de ~0,3. Os fagos auxiliares CT foram adicionados e deixados infeccionarem as bactérias, após o que o meio foi mudado para 2TY contendo ampicilina, tetraciclina e canamicina. A incubação foi continuada durante a noite em 30 °C. No dia seguinte, as bactérias foram removidas do meio de 2TY por centrifugação, após o que os fagos no meio foram precipitados com o uso de polietileno glicol (PEG) 6000/NaCl. Finalmente, os fagos foram dissolvidos em 2 ml de PBS com 1 % de albumina de soro bovino (BSA), esterilizados por filtração e usados para a série seguinte de seleção.

Alternativamente, as seleções de fago com o uso das linhagens celulares expressando HA de comprimento completo foram realizadas. Para este fim, os vetores de expressão contendo a sequência codificadora completa do HA de comprimento completo do isolado A/Vietnam/1194/2004 (H5N1TV) e uma sequência de consenso representando os HAs de comprimento completo das cepas de H5N1 isoladas na Indonésia e na China (H5N1IC) foram usadas para transfectar as células PER.C6. A análise de citometria de fluxo usando um anticorpo anti-HA foi realizada em paralelo com cada uma seleção de fago para garantir a expressão de HA pelas células PER.C6 transfectadas por H5N1TV e H5N1IC (dados não mostrados). 10 x 10⁶ células PER.C6 não transfectadas foram recolocadas em suspensão em 0,5 ml da biblioteca de fago agrupada e 0,5 ml de meio de cultura PER.C6 suplementado com 4 % de ELK e incubado por 1 hora em um conjunto de rotor direto em 5 rpm a 4 °C. Após 5 minutos de centrifugação a 300 xg a 4 °C da mistura de biblioteca de fago/células PER.C6 não transfectadas, o sobrenadante contendo os fagos foi subtraído por uma segunda vez com 10 x 10⁶ células PER.C6 não transfectadas. A preparação de fago subtraída foi subsequentemente misturada com 1 x 10⁶ células PER.C6 expressando HA e incubada por 2 horas em um conjunto de rotor direto em 5 rpm a 4 °C. Subsequentemente, as células foram giradas por 2 minutos em 3000 xg e a pelota celular foi recolocada em suspensão em 1 ml de PBS/0,05 % de Tween-20 para remover por lavagem os fagos não ligados. As células foram centrifugadas por 2 minutos em 3000 xg e a lavagem foi repetida por um adicional de 5 vezes. Após cada lavagem, as células foram transferidas para um novo tubo. Os fagos ligados foram eluídos do antígeno por incubação com 1 ml de TEA 100 mM por 10 minutos em um conjunto de rotor direto em 5 rpm na temperatura ambiente. As células foram giradas por 2 minutos em 3000 xg e os fagos eluídos foram transferidos para um tubo de 50 ml contendo 0,5 ml de Tris 1 M-HCl, pH 7,5. O resgate e a propagação dos fagos

eluídos foram realizados como descrito acima. Duas séries de seleções foram realizadas antes do isolamento dos anticorpos de fago individuais de cadeia única. Após a segunda série de seleção, as colônias individuais de E. coli foram usadas para preparar anticorpos monoclonais de fago. Essencialmente, colônias individuais foram cultivadas para a fase log no formato de placa de 96 reservatórios e infeccionadas com fagos auxiliares VCS-M13 após o que a produção de anticorpos de fago foi deixada prosseguir durante a noite. Os sobrenadantes contendo os anticorpos de fago foram usados diretamente no ELISA para ligação aos antígenos de HA. Alternativamente, os anticorpos de fago foram precipitados em PEG/NaCl e esterilizados por filtração para análise de citometria de fluxo.

EXEMPLO 3

VERIFICAÇÃO DOS ANTICORPOS DE FAGO DE CADEIA ÚNICA ESPECÍFICOS DE HA

Os anticorpos de fago de cadeia única selecionados, que foram obtidos na triagem descrita acima, foram validados no ELISA quanto à especificidade, isto é, a ligação aos antígenos de HA. Para este fim, os HA recombinantes expressos por baculovírus (Protein Sciences, CT, USA) e sHAs purificados de H5N1TV e H5N1IC foram aplicados a placas de ELISA Maxisorp[®]. Anti-myc mA 9E10 (Roche) foi imobilizado em placas ELISA Maxisorp[®] como antígeno de controle negativo. Após a aplicação, as placas foram lavadas por três vezes com PBS contendo 0,1 % v/v de Tween-20 e bloqueadas em PBS contendo 3 % de BSA ou 2 % de ELK por 1 hora na temperatura ambiente. Os anticorpos de fago de cadeia única selecionados foram incubados por 1 hora em um volume igual de PBS contendo 4 % de ELK para se obter anticorpos de fago bloqueados. As placas foram esvaziadas, lavadas por três vezes com PBS/0,1 % de Tween-20 e os anticorpos de fago de cadeia única bloqueados foram adicionados aos reservatórios. A incubação foi deixada prosseguir por uma hora, as placas

foram lavadas com PBS/0,1 % de Tween-20 e os anticorpos de fago ligados foram detectados (com o uso de medição de OD 492 nm) usando um anticorpo anti-M13 conjugado à peroxidase. Como um controle, o procedimento foi realizado simultaneamente sem anticorpo de fago de cadeia única e com um anticorpo de fago de cadeia única de controle negativo. Das seleções em diante, os diferentes antígenos de HA com a biblioteca de células B de memória de IgM, 92 anticorpos de fago de cadeia única específicos para qualquer HA ou sHA recombinante foram obtidos.

Alternativamente, a reatividade dos anticorpos de cadeia única que foram selecionados para ligação às células PER.C6 expressando HA foi testada com o uso da análise de citometria de fluxo. Os fagos precipitados de PEG/NaCl foram misturados com um volume igual de PBS/2 % de ELK bloqueados por 30 minutos sobre gelo. Os fagos bloqueados foram adicionados às células em pelotas (células PER.C6 não transfectadas e PER.C6 expressando HA) e incubados por uma hora sobre gelo. As células foram lavadas por três vezes com PBS/1 % de BSA, seguido por uma centrifugação de 1 minuto em 300 xg, e a ligação dos anticorpos de fago de cadeia única às células foi observada com o uso de um anticorpo anti-M13 biotinilado (Fitzgerald) seguido pelo conjugado de estreptavidina-ficoeritrina (Caltag). As seleções com o uso das células PER.C6 expressando HA forneceram 24 anticorpos únicos de fago de cadeia única que não foram identificados durante as seleções com o uso das diferentes proteínas HA recombinantes;

EXEMPLO 4

25 CARACTERIZAÇÃO DOS scFvs ESPECÍFICOS DE HA

Dos anticorpos de fago de cadeia única específicos selecionados (scFv), o DNA plasmídeo dos clones foi obtido e as sequências de nucleotídeos e de aminoácidos e a identidade dos genes de VH e VL [ver Tomlinson, I. M. et al. V-BASE Sequence Directory. Cambridge, Reino

Unido: MRC Centre for Protein Engineering (1997)] dos scFvs é apresentada na Tabela 6. As regiões de CDR das imunoglobulinas específicas de HA são apresentadas na Tabela 7.

EXEMPLO 5

5 CONSTRUÇÃO DAS MOLÉCULAS DE IMUNOGLOBULINA TOTALMENTE HUMANAS (ANTICORPOS MONOCLONAIS HUMANOS) DE Fvs SELECIONADOS DE CADEIA ÚNICA

As regiões variáveis de cadeia pesada e leve dos scFvs foram clonadas diretamente por digestão de restrição para expressão nos vetores de
 10 expressão de IgG plg-C911-HCgama1 (ver a SEQ ID NO: 141), plG-C909-Ccapa (ver a SEQ ID NO: 142), ou pIg-C910-Clambda (ver a SEQ ID NO: 143). As sequências de nucleotídeos para todas as construções foram verificadas de acordo com as técnicas padrão conhecidas do técnico habilitado. As construções de expressão resultantes codificando as cadeias
 15 pesadas e leves de IgG1 humanas foram transientemente expressas em combinação nas células 293T e os sobrenadantes contendo os anticorpos de IgG1 humanos foram obtidos e produzidos com o uso de procedimentos de purificação padrão. Os anticorpos IgG1 humanos foram titulados em uma faixa de concentração entre 10 e 0,003 µg/ml em relação a H5 (dados não
 20 mostrados). Um anticorpo específico de SARS-CoV foi incluído como um anticorpo de controle. As moléculas de IgG1 apresentaram o mesmo padrão de reatividade, como demonstrado pelos anticorpos de fago de cadeia única.

As sequências de nucleotídeos e de aminoácidos da cadeia pesada e leve dos anticorpos denominados CR6141, CR6255, CR6257,
 25 CR6260, CR6261, CR6262, CR6268, CR6272, CR6296, CR6301, CR6307, CR6310, CR6314, CR6323, CR6325, CR6327, CR6328, CR6329, CR6331, CR6332, CR6334, CR6336, CR6339, CR6342, CR6343 e CR6344 bem como suas regiões variáveis de cadeia pesada e leve, são fornecidas na Tabela 8. Subsequentemente, a ligação do IgG anti-HA às células PER.C6 expressando

HA foi pesquisada por citometria de fluxo. A análise de citometria de fluxo quanto à ligação dos anticorpos a HA demonstrou que os anticorpos CR6255, CR6257, CR6260, CR6261, CR6262, CR6268, CR6307, CR6310, CR6314, CR6323, CR6325, CR6331 e CR6344 são ligados às células PER.C6 expressando HA (H5N1TV) (ver Tabela 9). Os anticorpos CR6261 e CR6344 também apresentaram ligação às células de controle não transfectadas, mas os sinais obtidos foram aproximadamente 10 vezes menores do que os sinais obtidos quanto à ligação às células PER.C6 expressando HA (H5N1TV) (ver Tabela 9). Nenhuma ligação do anticorpo de controle CR3014 às células expressando HA e às células de controle não transfectadas foi observada.

EXEMPLO 6

NEUTRALIZAÇÃO IN VITRO DO VÍRUS H5N1 DA INFLUENZA PELOS IgGs ESPECÍFICOS DO H5N1 (ENSAIO DE NEUTRALIZAÇÃO VIRAL)

De modo a determinar se os IgGs selecionados foram capazes de bloquear a infecção do H5N1, os ensaios de neutralização viral in vitro (VNA) foram realizados. Os VNA foram realizados em células MDCK (ATCC CCL-34). As células MDCK foram cultivadas em meio de cultura de células MDCK [meio MEM suplementado com antibióticos, Hepes 10 mM e 0,15 % (p/v) de bicarbonato de sódio (meio MEM completo), suplementado com 10 % (v/v) de soro bovino fetal]. A cepa NIBRG-14 recontaminante H5N1 que foi usada no ensaio foi diluída a um título de 4×10^3 de TCID₅₀/ml (dose infecciosa de cultura tecidual a 50 % por mililitro), com o título calculado de acordo com o método de Spearman e Karber. As preparações de IgG (200 µg/ml) foram diluídas 2 vezes em série (1:2 a 1:16) em meio MEM completo em reservatórios em duplicata. 25 µl da respectiva diluição de IgG foram misturados com 25 µl da suspensão viral (100 TCID₅₀/25 µl) e incubados por uma hora em 37 °C. A suspensão foi então transferida em duplicata para placas de 96 reservatórios contendo culturas

confluentes de MDCK em 50 µl de meio MEM completo. Antes do uso, as células MDCK foram semeadas a 3×10^4 células por reservatório em meio de cultura de células MDCK, cultivadas até que as células tivessem alcançado a confluência, lavadas com 300 a 350 µl de PBS, pH 7,4, e finalmente 50 µl de meio MEM foram adicionados a cada reservatório. As células inoculadas foram cultivadas por 3 a 4 dias em 33 °C e observadas diariamente quanto ao desenvolvimento do efeito citopático (CPE). O CPE foi comparado com o controle positivo (células inoculadas com NIBRG-14) e com os controles negativos (células inoculadas com simulação). A ausência completa de CPE em uma cultura celular individual foi definida como proteção. O vírus H5N1 da influenza HA anti-A/Vietnam/1194/04 de carneiro (04/214, NIBSC) foi usado como um controle positivo no ensaio.

Além disso, as culturas foram testadas quanto à presença do vírus usando a imunoistoquímica. Para este fim, o sobrenadante da cultura foi descartado e as células foram fixadas com 40 % (v/v) de acetona e 60 % (v/v) de metanol por 15 minutos. As células fixadas foram bloqueadas por 30 minutos em 37 °C em tampão de bloqueio (NaCl 200 mM, 0,2 % (p/v) de albumina de soro bovino (BSA), 0,01 % de timerosal, 0,2 % (v/v) de Tween-20, Tris 20 mM-HCl, pH 7,45) suplementado com 2 % (p/v) de BSA e 5 % (v/v) de soro de cabra. Subsequentemente, as células foram incubadas por uma hora em 37 °C com 50 µl da mistura de anticorpo monoclonal anti-influenza de camundongo (Chemicon) diluídos a 1:1000 em tampão de lavagem. Após três lavagens com tampão de lavagem, 50 µl de IgG anticamundongo de cabra conjugado à biotina (Jackson) diluídos a 1:1000 em tampão de lavagem, foram adicionados e incubados por uma hora em 37 °C. Após três lavagens com tampão de lavagem, 50 µl de conjugado de estreptavidina-peroxidase (Calbiochem) diluídos a 1:3000 em tampão de lavagem foram adicionados e incubados por 30 minutos em 37 °C. Após outras três lavagens com tampão de lavagem, o manchamento foi visualizado

com o uso de solução de AEC [0,12 % (p/v) de 3-amino-9-etilcarbazol, 30 % (v/v) de N-N-dimetilformamida e 70 % (v/v) de tampão de acetato] contendo 1 µl de H₂O₂/1 ml de solução de AEC. Após três lavagens com tampão de lavagem, o manchamento foi analisado sob um microscópio.

5 Os anticorpos anti-HA humanos denominados CR6255, CR6257, CR6260, CR6261, CR6262, CR6268, CR6307, CR6310, CR6314, CR6323, CR6325, CR6331 e CR6344 foram submetidos aos VNA acima descritos. Todos os anticorpos neutralizaram NIBRG-14 da cepa recontaminante de H5N1. As concentrações (em µg/ml) em que estes
10 anticorpos protegem as culturas de MDCK contra o CPE são fornecidas na Tabela 10. Nos reservatórios em que o CPE foi observado, a presença de vírus foi confirmada por manchamento imunoistoquímico (dados não mostrados).

De modo a determinar a potência de neutralização dos IgGs específicos de H5N1 mais precisamente, os ensaios de neutralização viral in
15 vitro com NIBRG-14 foram repetidos, mas desta vez as preparações de IgG foram mais diluídas. As preparações de IgG (200 µg/ml) foram diluídas duas vezes em série (1:1 a 1:512) em meio MEM completo e testadas em reservatórios quadruplicados nos VNA, como descrito acima. A potência de neutralização dos anticorpos anti-H5N1 humanos denominados CR6255,
20 CR6257, CR6260, CR6261, CR6262, CR6268, CR6272, CR6307, CR6310, CR6314, CR6323, CR6325, CR6327, CR6328, CR6329, CR6331, CR6332, CR6334, CR6336, CR6339, CR6342, CR6343 e CR6344 foi determinada no VNA. Todos os anticorpos, exceto os CR6272 e CR6339, neutralizaram a cepa NIBRG-14 recontaminante de H5N1. As concentrações (em µg/ml, na
25 presença de 100 TCID₅₀ de vírus) em que estes anticorpos protegem as culturas de MDCK contra CPE são indicadas na Tabela 11. Nos reservatórios em que o CPE foi observado, a presença do vírus foi confirmada por manchamento imunoistoquímico (dados não mostrados).

EXEMPLO 7

ANÁLISE DO IMUNOMANCHAMENTO DOS IgGs ESPECÍFICOS DO H5N1

Para anda pesquisar a especificidade dos anticorpos anti-HA, diferentes antígenos da Influenza A de hemaglutinina recombinante foram submetidos a SDS-PAGE sob condições de redução, seguido pela análise de imunomanchamento anti-HA. O polipeptídeo HA0 é composto das subunidades HA1 e HA2. O anticorpo CR5111, um anticorpo de controle específico do H5N1, reconheceu a subunidade HA1 e o polipeptídeo HA0 intacto (não clivado) de sHA de H5N1TV (ver a Figura 1, parte da direita, coluna 1). Além disso, o CR5111 reconheceu a subunidade HA1 do HA recombinante, subtipo H5 [A/Vietnam/1203/2004 (H5N1); ver a SEQ ID NO: 110] produzida com o uso dos vetores baculovírus nas células de insetos (Protein Sciences, CT, USA) (Figura 1, parte da direita, coluna 2). O polipeptídeo HA0 não clivado não foi detectado nesta preparação do HA. A diferença no tamanho entre as subunidades de HA nas colunas 1 e 2 podem ser explanadas por uma glicosilação diferente de HA expressa nas células de insetos e nas células PER.C6. O CR5111 não reconheceu os polipeptídeos HA1 e/ou HA0 do HA recombinante, subtipo H1 [A/Nova Caledônia/20/99 (H1N1)] (ver a Figura 1, parte da direita, coluna 4) ou do HA recombinante, subtipo H3 [A/Wyoming/3/2003(H3N2)] (Figura 1, parte da direita, coluna 3).

Os anticorpos CR6307 e CR6323 reconheceram as subunidades HA2 de sHA de H5N1TV (ver Figura 1, parte da esquerda e central, colunas 1) e HA recombinante, subtipo H5 [A/Vietnam/1203/2004 (H5N1)] (ver a Figura 1, parte da esquerda e central, colunas 2). De modo interessante, a subunidade HA2 quando presente nos polipeptídeos HA0 intactos não clivados, não foi reconhecida. Aparentemente, o epítipo reconhecido por CR6307 e CR6323 se torna acessível após a clivagem de HA0. Além disso, os anticorpos CR6307 e CR6323 reconheceram a

subunidade HA2 do HA recombinante, subtipo H1 [A/Nova Caledônia/20/99 (H1N1)] (ver a Figura 1, parte esquerda e central, colunas 4), mas não a subunidade HA2 do HA recombinante, subtipo H3 [A/Wyoming/3/2003(H3N2)] (ver a Figura 1, parte da esquerda e central, colunas 3], ambos os HAs recombinante produzidos com o uso dos vetores baculovírus nas células de insetos (Protein Sciences, CT, USA). Tendo em vista que o sítio de ligação do anticorpo CR6307 e CR6323 de neutralização são conservados dentro das cepas da influenza A dos subtipos H1 e H5, uma molécula compreendendo o sítio de ligação pode ser considerada como (parte de uma) vacina capaz de induzir uma resposta do anticorpo anti-influenza de reação amplamente cruzada.

Em seguida aos anticorpos CR6307 e CR6323, os anticorpos denominados CR6141, CR6296 e CR6301 foram usados na análise de imunomanchamento. Cada um dos três anticorpos foi capaz de ligar-se à subunidade HA2 de sHA de H5N1TV e HA recombinante, subtipo H5 (A/Vietnam/1203/2004; H5N1) (dados não mostrados).

EXEMPLO 8

ANÁLISE DE FACS PARA DETERMINAR A ESPECIFICIDADE DA SUBUNIDADE DOS IgGs ESPECÍFICOS DE H5N1

De modo a avaliar a contribuição da subunidade HA1 para ligação dos anticorpos anti-H5N1, um ensaio foi estabelecido, em que a subunidade HA1 é liberada das células PER.C6 expressando HA. As células PER.C6 expressando HA foram lavadas por três vezes com PBS, pH 7,4, e incubadas por 10 minutos em PBS acidificado, pH 4,9. Subsequentemente, as células foram lavadas com PBS, pH 7,4, e tratadas por 10 minutos com 10 µg/ml de tripsina em PBS, pH 7,4, para clivar as moléculas HA0 nas subunidades HA1 e HA2 articuladas na ligação dissulfeto. Finalmente, as células foram incubadas por 20 minutos em DDT 20 mM em PBS, pH 7,4, para liberar a subunidade HA1 de subunidade HA2 ancorada na membrana.

As células não tratadas e tratadas com ácido/tripsina/DTT foram lavadas duas vezes com PBS contendo 1 % p/v de BSA. Quanto à análise de citometria de fluxo, $2,5 \times 10^5$ células foram usadas por manchamento. Nenhum manchamento das células tratadas e não tratadas com o anticorpo CR3014 de controle negativo foi observado. O anticorpo CR5111, que se liga à subunidade HA1 na análise de imunomanchamento, manchou a população de células PER.C6 expressando HA não tratado, enquanto as células tratadas não foram reconhecidas (dados não mostrado). Isto fornece outra prova de que o CR5111 reconhece a subunidade HA1. As células tratadas e não tratadas foram manchadas a uma extensão semelhante pelos anticorpos CR6307 e CR6323 (dados não mostrados). A liberação da subunidade HA1 obviamente não influenciou a ligação destes anticorpos evidenciando ainda os resultados da análise de imunomanchamento de que os anticorpos se ligam à subunidade HA2. Os anticorpos CR6325 e CR6331 ligaram-se às células não tratadas, enquanto a ligação às células tratadas foi marcadamente reduzida em comparação com a ligação às células não tratadas (dados não mostrados). Isto sugere que a afinidade dos anticorpos quanto a seu epítipo é significativamente reduzida pela mudança conformacional induzida após o tratamento de ácido ou pela redução da ligação dissulfeto que liga as subunidades HA1 e HA2.

EXEMPLO 9

ELISA DE COMPETIÇÃO DA HEMAGLUTININA COM ANTICORPOS DE FAGO E IgGs

Para identificar anticorpos que se ligam a epítipos não competitivos de não superposição um ELISA de competição da hemaglutinina foi realizado. Placas Nunc-Immuno[®] Maxisorp F96 foram cobertas durante a noite em 4 °C com 0,5 µg/ml de HA recombinante, subtipo H5 (A/Vietnam/1203/2004 (H5N1) (Protein Sciences) em PBS. A proteína não coberta foi removida por lavagem antes que os reservatórios fossem

bloqueados com 300 µl de PBS contendo 2 % p/v de leite em pó desnatado (solução de bloqueio) por 1 hora na temperatura ambiente. A solução de bloqueio foi descartada e 50 µl de 10 µg/ml de IgG anti-H5N1 em solução de bloqueio foram incubados por reservatório por 1 hora na temperatura ambiente. Subsequentemente, 50 µl de anticorpo de fago em solução de bloqueio em uma concentração duas vezes a concentração que resultou na ligação máxima de 50 % (como determinado em um ensaio anterior) foram adicionados por reservatório e incubados por outra hora na temperatura ambiente. Os reservatórios foram lavados por três vezes com PBS contendo 0,1 % v/v de Tween-20. O anticorpo de fago ligado foi detectado com o uso de um anticorpo anti-M13 conjugado com peroxidase. Os reservatórios foram lavados novamente como descrito acima e o ELISA foi novamente desenvolvido pela adição de 100 µl de reagente OPD (Sigma). A reação foi interrompida pela adição de 50 µl de H₂SO₄ 1 M e depois a OD em 492 nm foi medida. A ligação do anticorpo de fago, na presença de IgG, foi expressa como percentual de ligação na ausência de IgG, a qual foi estabelecida em 100%. O anticorpo de fago SC05-111 e o correspondente IgG CR5111, que reconhecem um epítipo na subunidade HA1 da hemaglutinina H5, foram incluídos como controles.

Os resultados indicam que a maioria dos anticorpos de fago e IgGs se ligam a um epítipo de sobreposição sobre HA recombinante, subtipo H5 [A/Vietnam/1203/2004 (H5N1)] (dados não mostrados). A ligação do anticorpo de fago SC05-111 foi bloqueada pelo IgG de CR5111, mas não por qualquer outro IgG, sugerindo que os outros IgGs reconhecem um epítipo diferente da região de ligação de CR5111. Cinco IgGs, CR6262, CR6272, CR6307, CR6339 e CR6343 competiram em uma menor extensão para ligação do que o restante dos IgGs (mais do que 25 % de ligação residual). Quanto aos IgGs CR6262, CR6272, CR6339 e CR6343, isto pode ser explicado por uma afinidade mais baixa para HA. Isto é apoiado pela

observação de que os anticorpos de fago correspondentes a estes anticorpos foram removidos por competição mais eficientemente pelos outros IgGs. A ligação do anticorpo de fago SC06-307 é bloqueada pelo IgG CR6307, mas menos eficientemente pelos outros IgGs. Isto sugere que SC06-307 e CR6307 reconhecem um epítipo único que difere do epítipo reconhecido pelos outros IgGs.

EXEMPLO 10

ELISA DE REATIVIDADE CRUZADA COM O USO DE IgGs ANTI-H5N1

Para testar se o epítipo dos anticorpos anti-H5N1 é conservado entre os HAs outros que não o subtipo H5, um ELISA de reatividade cruzada de hemaglutinina foi realizado. Placas Nunc-Immuno[®] Maxisorp F96 (Nunc) foram cobertas durante a noite em 4 °C com 0,5 µg/ml de HA recombinante, subtipo H1 [A/Nova Caledônia/20/99 (H1N1)], subtipo H3 [A/Wyoming/3/03 (H3N2)], subtipo H5 [A/Vietnam/1203/04 (H5N1)], subtipo H7 [A/Países Baixos/219/03 (H7N7)], e subtipo H9 [A/Hong Kong/1073/99 (H9N2)] (Protein Sciences Corp.) em PBS. Adicionalmente, as preparações do vírus inativado por BPL contendo 0,5 µg/ml de HA de A/Nova Caledônia/20/99 (H1N1), e a cepa NIBRG-14 recontaminante [A/Vietnam/1194/04 (H5N1)] foram colocadas nas placas durante a noite em PBS. Os reservatórios foram lavados por três vezes com PBS contendo 0,1 % v/v de Tween-20 para remover a proteína não aplicada, e subsequentemente bloqueados com 300 µl de PBS contendo 2 % p/v de leite em pó desnatado (solução de bloqueio) por 1 hora na temperatura ambiente. A solução de bloqueio foi descartada e 100 µl por reservatório de 5 µg/ml de anticorpos anti-H5N1 na solução de bloqueio foram incubados por 1 hora na temperatura ambiente. Os reservatórios foram lavados por três vezes com PBS contendo 0,1 % v/v de Tween-20 e os anticorpos ligados foram detectados com o uso de um anticorpo IgG anti-humano de camundongo conjugado à peroxidase

(Jackson). A reação foi desenvolvida e medida como descrito acima. A Tabela 12 mostra que todos os IgGs anti-H5N1 ligados ao HA recombinante, subtipo H5 [A/Vietnam/1203/2004 (H5N1)] e uma preparação viral inativada por BPL de NIBRG-14, que contém o HA da cepa A/Vietnam/1194/2004 (H5N1). Os HAs recombinantes dos subtipos H3 e H7 não foram reconhecidos por qualquer dos IgGs anti-H5N1 testados. De modo interessante, todos os IgGs anti-H5N1, com exceção dos CR5111 e CR6307, ligaram-se ao HA recombinante dos subtipos H1 e H9, e uma preparação viral inativada por BPL da cepa A/Nova Caledônia/20/99 (H1N1). Isto indica que o epítipo da maioria dos IgGs anti-H5N1 é conservado entre as moléculas HA de diferentes subtipos.

EXEMPLO 11

MAPEAMENTO DO EPÍTOPO DOS IgGs ANTI-H5N1

Okuno et al. (1993) E Smirnov et al. (1999) demonstraram a existência de um epítipo comum compartilhado pelos HAs dos subtipos H1, H2 e H5 do vírus da influenza A e a neutralização destes subtipos pelo anticorpo C179 monoclonal de murino direcionado contra este epítipo. Este epítipo conformacional é composto de dois diferentes sítios que se acham localizados na subunidade HA1 e HA2. Ambos os sítios acham-se localizados na vizinhança no centro da região tronco da molécula HA. De modo a avaliar se os anticorpos anti-HA descritos acima reconheceram este epítipo, moléculas de HA contendo substituições de aminoácidos nesta região foram produzidas.

O epítipo reconhecido pelo anticorpo C179 (Takara Bio Inc.) foi atribuído às regiões incluindo os resíduos 318 a 322 da subunidade HA1 e os resíduos 47 a 58 da subunidade HA2 (numeração de aminoácidos como descrito por Okuno et al. 1999). Os vírus de escape contendo HAs que carregam uma substituição de Thr em Lys na posição 318 na subunidade HA1 ou uma substituição de Val em Glu na posição 52 na subunidade HA2 não

foram mais reconhecidos e neutralizados pelo C179. Estas mutações (posições 318 Thr em Lys, mutante I; posição 52 Val em Glu, mutante II), uma substituição de Leu em Met na posição 320 na subunidade HA1 (mutante III, Met320 se acha presente nas regiões 318 a 322 de HA1 dos subtipos H3 e H7), uma substituição de Ser em Arg na posição 54 na subunidade HA2 (mutante IV, Arg54, se acha presente nas regiões 47 a 58 de HA2 dos subtipos H3 e H7) e uma substituição de Asp em Asn na posição 57 na subunidade HA2 [mutante V, Asn57 se acha presente na região 47 a 58 de HA2 da cepa A/Hong Kong/156/97 (H5N1)] foram introduzidas no HA de comprimento completo do isolado A/Vietnam/1194/2004 (H5N1TV) e transfectadas nas células PER.C6. A ligação de C179 e os anticorpos anti-HA humanos às células PER.C6 expressando estes mutantes foi avaliada pela análise de FACS como descrito acima. O anticorpo CR5111, que é direcionado contra um epítipo na subunidade HA1, e um soro de carneiro anti-H5 policlonal, confirmaram a expressão dos mutantes H5N1TV e HA pelas células PER.C6 transfectadas (dados não mostrados). Nenhum manchamento com o anticorpo CR3014 de controle negativo ou na ausência de anticorpo foi observado (dados não mostrados). Como esperado, o anticorpo C179 não reconheceu os mutantes I e II, que carregavam as mesmas substituições de aminoácidos como os HAs nos vírus de escape C179 (ver Okuno et al., 1993). Além disso, C179 não se ligou ao mutante IV, ao passo que a ligação do C179 aos mutantes III e V não foi afetada. Um padrão de reatividade semelhante foi observado quanto ao anticorpo CR6342, o que sugere que os anticorpos C179 e CR6342 reconhecem um epítipo semelhante. Os anticorpos CR6261, CR6325 e CR6329 reconheceram todos os mutantes, com exceção do mutante II. Isto sugere que o epítipo dos anticorpos CR6261, CR6325 e CR6329 seja diferente daquele do C179. Tendo em vista que as substituições na subunidade HA1 não anularam a ligação destes anticorpos, seu epítipo se acha muito provavelmente localizado

na subunidade HA2. Os anticorpos CR6307 e CR6323 reconheceram todos os mutantes, o que sugere que também o epítipo destes anticorpos seja diferente daquele do C179. Um resumo da sequência dos mutantes e da ligação dos anticorpos é dado na Tabela 13. Em conclusão, os resultados indicam que os anticorpos CR6261, CR6325, CR6329, CR6307 e CR6323 são candidatos ideais para ligar e neutralizar os vírus da influenza que têm mutações no epítipo reconhecidas pelo anticorpo C179 monoclonal de murinos e, como uma consequência disto, não mais são neutralizadas por este anticorpo.

EXEMPLO 12

ATIVIDADE PROFILÁTICA DOS ANTICORPOS MONOCLONAIS DE IgG HUMANO CONTRA O DESAFIO LETAL DO H5N1 IN VIVO

Uma dose letal da cepa H5N1 da influenza A/Hong Kong/156/97 foi administrada a camundongos de modo a estudar-se o efeito profilático dos anticorpos CR6261, CR6323 e CR6325 de IgG monoclonal humano. Um dia antes da infecção, 8 grupos de 10 camundongos cada receberam a injeção por via intraperitoneal com diferentes doses do anticorpo. Como um controle negativo, um grupo de camundongos recebeu a injeção com um anticorpo de controle não relevante (CR3014). Sinais clínicos, perda de peso e foram monitorados até 21 dias após a infecção. Este estudo foi conduzido para avaliar o efeito profilático dos anticorpos de IgG anti-H5N1 humanos monoclonais, in vivo.

A cepa H5N1 foi originalmente obtida de uma criança de 3 anos de idade que sofria de doença respiratória. O vírus foi passado duas vezes sobre células MDCK. O lote [Título 8.1 log TCID₅₀/ml] usado para infeccionar os camundongos foi propagado uma vez em ovos embrionados.

80 fêmeas de camundongos Balb/c de 7 semanas de idade foram divididas nos 8 grupos de 10 camundongos cada, com as seguintes injeções antes do desafio com o vírus H5N1:

1. 15 mg/kg CR6261.

2. 5 mg/kg de CR6261.

3. 2 mg/kg de CR6261.

4. 0,7 mg/kg de CR6261.

5. 15 mg/kg de CR6323.

5 6. 15 mg/kg de CR6325.

7. 500 µl de soro imune anti-H5N3 de coelho (diluído 100 vezes).

8. 15 mg/kg de CR3014.

Todos os animais foram aclimatados e mantidos por um período de 6 dias antes do início do estudo. Um dia antes da infecção com o vírus H5N1, 500 µl de anticorpo foram administrados por injeção intraperitoneal. Os animais foram inoculados por via intranasal no dia 0 com 25 LD₅₀ do vírus (aproximadamente 50 µl), e isto foi seguido por 21 dias. A dose real do vírus administrada foi estimada por titulação de umas poucas amostras replicadas do inóculo remanescente, após a inoculação dos animais ter sido completada. Os títulos virais (TCID₅₀/ml) do inóculo foram determinados sobre as células MDCK. Os resultados mostraram que nenhuma inativação dos vírus havia não intencionalmente ocorrido durante a preparação ou a administração do inóculo. O grupo 8 atuou como um controle negativo. Os animais neste grupo receberam a injeção com um anticorpo (CR3014) monoclonal irrelevante no dia 0. O grupo 7 foi suposto atuar como controle positivo. Os camundongos neste grupo receberam a injeção com um anticorpo de soro policlonal de coelho formado contra o vírus H5N1 da influenza.

25 Os sinais clínicos e os pesos foram avaliados diariamente a partir do dia -1 até 21 dias após a inoculação viral. Os sinais clínicos foram classificados com um sistema de classificação (0 = nenhum sinal clínico; 1 = cobertura bruta; 2 = cobertura bruta, menos reativa, passiva durante a manipulação; 3 = cobertura bruta, enrolada, respiração forçada, passiva

durante a manipulação; 4 = cobertura bruta, enrolada, respiração forçada, sem retorno no estômago quando deitado sobre as suas costas) e registrados. Os animais sobreviventes foram submetidos à eutanásia e sangrados no vigésimo primeiro dia. Para a análise dos níveis séricos dos anticorpos de IgG, amostras de sangue foram colhidas de cada camundongo no dia 0. Os soros foram preparados de acordo com procedimento padrão. Para gerar soros de pós-infecção, o sangue foi colhido dos animais sobreviventes no vigésimo primeiro dia. Os soros foram armazenados em $-20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ até que fossem ensaiados quanto à presença de anticorpos específicos dos vírus. Os soros foram testados em duplicata com o uso de 4 HAU do substrato HK/97 do H5N1. Os títulos foram expressos como a recíproca da mais elevada diluição sérica apresentando H1, iniciando-se em uma diluição de 1/10.

Todos os camundongos ficaram ativos e pareciam saudáveis sem sinais da doença durante o período de aclimatização. A classificação clínica média (classificação clínica total dividida pelo número de animais sobreviventes em cada grupo) foi calculada por dia e os resultados são indicados na Figura 2 (classificação clínica média por grupo), na Tabela 14 (classificações clínicas) e na Tabela 15 (angústia respiratória). O começo dos sinais clínicos negativos foi observado no dia 3 após a infecção no grupo que recebeu a inoculação com o controle negativo Ab CR3014 (grupo 8). A angústia respiratória foi primeiro registrada no sexto dia, e durou 1 a 4 dias. Nenhum sinal clínico foi observado nos camundongos que haviam sido tratados com 15 mg/kg de CR6325 (grupo 6). No grupo 5 (CR6323), um camundongo apresentou sinais clínicos brandos (classificação 1) do quinto dia ao oitavo dia, e morreu no dia seguinte. No grupo 1, um camundongo morreu no décimo terceiro dia sem ter apresentado anteriormente qualquer sinal clínico. As doses de Ab mais elevadas do CR6261 correlacionaram-se com o começo tardio e com as classificações clínicas inferiores em média. A angústia respiratória foi observada no grupo de dose mais baixa (0,7 mg/kg),

mas não nos grupos de doses mais elevadas (2, 5 e 15 mg/kg). Todos os camundongos apresentaram melhora em sua condição clínica entre o novo e o décimo terceiro dias (grupos 2, 3 e 5) ou do décimo sétimo dia em diante (grupo 4). Os camundongos que haviam recebido a injeção com o anticorpo policlonal de coelho (grupo 7) desenvolveram doença grave dentro de 3 dias e depois morreram, demonstrando que o anticorpo de coelho não protegeu contra a infecção in vivo. Dois animais (um no grupo 4 e um no grupo 8) foram submetidos à eutanásia no décimo dia e retirados do estudo, tendo em vista que os animais foram considerados como estando gravemente doentes (classificação 4).

Os animais infeccionados com H5N1 apresentaram graduações variáveis de perda de peso (Figura 3). A perda de peso proporcional e o momento do começo foram relacionados à dose do anticorpo. Nos grupos tratados com a dose mais elevada de anticorpos, o peso aumentou com regularidade no decorrer do tempo de forma compatível com o ganho de peso relacionado à idade. O grupo de animais inoculados com a dose mais baixa de CR6261 perdeu peso mais rapidamente do que os grupos de animais que receberam as doses mais elevadas do anticorpo. A quantidade total de perda de peso foi mais elevada nos grupos de dose inferior, com a perda de peso média de cerca de 15 a 40 % do peso de início nos grupos inoculados com 2 e 0,7 mg/kg de CR6261, respectivamente. Nos grupos de dose inferior, o peso corporal médio pareceu aumentar novamente ao mesmo tempo quando os animais apresentaram alguma melhora clínica.

A Figura 4 apresenta o número de camundongos sobreviventes por grupo em cada dia. Um relacionamento claro da resposta de dose entre a quantidade de anticorpo administrado e o tempo médio de sobrevivência estava presente. A Figura 5 mostra a mortalidade em uma maneira responsiva à dose. O primeiro camundongo morreu 7 dias após a inoculação no grupo de dose inferior (0,7 mg/kg) e no grupo de camundongos que haviam recebido o

controle negativo: CR3014. Menos do que 50 % dos animais foram protegidos contra a morte quando 0,7 mg/kg do anticorpo CR6261 foi administrado. No entanto, 9 a 10 camundongos sobreviveram quando a dose mais elevada do anticorpo foi administrada. Nenhum camundongo do grupo de controle negativo (CR3014) sobreviveu, mostrando que, de fato, uma dose de desafio letal de 100 % foi usada neste estudo.

Para avaliar se os anticorpos de IgG são capazes de tornar a proteção completa contra a infecção, um ensaio de HI foi realizada com soros colhidos no vigésimo primeiro dia dos camundongos que haviam recebido 15 mg/kg de CR6261 (grupo 1). Estes dados devem indicar que os camundongos experimentaram uma infecção de H5N1 embora sem manifestação clínica.

Estes resultados mostram que pelo menos três anticorpos anti-H5N1 humanos, identificados e desenvolvidos como apresentado neste relatório descritivo (CR6261, CR6323 e CR6325) são, cada um separadamente, capazes de prover proteção contra uma dose letal do H5N1 da influenza in vivo. Um caso relacionamento de resposta de dose entre a quantidade do anticorpo de CR6261 administrada e o tempo médio de sobrevivência, foi observado. Os resultados mostram que cada anticorpo de IgG anti-H5N1 monoclonal testado foi capaz de impedir a manifestação clínica da infecção do H5N1 nos camundongos, quando administrado um dia antes da infecção em uma dose de 15 mg/kg.

EXEMPLO 13

EFEITOS PROTETORES E TERAPÊUTICOS DOS ANTICORPOS ANTI-H5N1 MONOCLONAIS HUMANOS ADMINISTRADOS APÓS UMA INFECÇÃO COM UMA DOSE LETAL DO VÍRUS H5N1 DA INFLUENZA IN VIVO

Um estudo foi realizado para testar o efeito terapêutico dos anticorpos monoclonais como aqui apresentado, exemplificado pelo CR6261, em um modelo pós-infecção, contra um desafio letal do vírus H5N1 da

influenza A/HK/97 in vivo. O grupo e o tipo dos vírus, e a idade dos camundongos, foram os mesmos usados no Exemplo 12. Como um controle negativo, um grupo de camundongos recebeu a injeção com um anticorpo de controle não pertinente (CR2006). Os sinais clínicos, a perda de peso e a mortalidade foram monitorados até o vigésimo primeiro dia após a infecção.

58 camundongos Balb/c fêmeas de 7 semanas de idade foram divididos em 5 grupos, que receberam o anticorpo em diferentes estágios após a infecção, como segue:

1. 10 camundongos; 15 mg/kg de CR6261 em 4 horas após a infecção
- 10 2. 14 camundongos; 15 mg/kg de CR6261 em um dia após a infecção
3. 10 camundongos; 15 mg/kg de CR6261 em 2 dias após a infecção
4. 10 camundongos; 15 mg/kg de CR6261 em 3 dias após a infecção
5. 14 camundongos; 15 mg/kg de CR2006 em 1 dia após a infecção.

Todos os animais foram aclimatizados e mantidos por um período de 6 dias antes do início do estudo. Os animais foram inoculados por via intranasal no dia 0 com 25 LD₅₀ do vírus H5N1 da influenza (aproximadamente 50 µl), e monitorados por 21 dias. A dose real do vírus administrada foi estimada por titulação de umas poucas amostras replicadas do inóculo remanescente após a inoculação dos animais ter-se completado. Os títulos virais (TCID₅₀/ml) do inóculo foram determinados sobre células MDCK. Os resultados mostraram que nenhuma inativação do vírus havia não intencionalmente ocorrido durante a preparação ou administração do inóculo. Nos pontos do tempo especificados após a inoculação, 500 µl de anticorpo foram administrados por injeção intraperitoneal. O grupo 5 atuou como controle negativo. Os animais neste grupo receberam a injeção com um anticorpo monoclonal irrelevante (CR2006) no primeiro dia após a infecção.

Os sinais clínicos e os pesos foram avaliados a cada dia a partir do dia -1 até o vigésimo primeiro dia. Os sinais clínicos foram classificados como descrito no Exemplo 12, com uma faixa de classificação

de 0 a 4. Os animais sobreviventes foram submetidos à eutanásia e sangrados no vigésimo primeiro dia. Para a avaliação das mudanças patológicas, 4 animais dos grupos 2 e 5 foram mortos no sexto dia após o desafio. Estes animais já haviam sido pré-selecionados no dia 0, e colocados separadamente dos outros. Por essa razão, os grupos 2 e 5 iniciaram com 14 animais, com 10 camundongos permanecendo após a seleção. Os sinais clínicos e os pesos foram avaliados diariamente do dia -1 até o vigésimo primeiro dia após a inoculação viral.

Todos os camundongos ficaram ativos e pareceram saudáveis sem mostrar sinais de doença durante o período de aclimatização. A classificação clínica média (classificação clínica total dividida pelo número de animais sobreviventes em cada grupo) foi calculada por dia, e os resultados são indicados na Figura 6 (classificação clínica média por grupo), na Tabela 16 (classificações clínicas) e na Tabela 17 (angústia respiratória). Claramente, todos os grupos continham camundongos que apresentavam sinais clínicos já no primeiro dia após a infecção. Dependendo do tempo em que o anticorpo era administrado, os sinais clínicos diminuíram e, em todos os grupos, os sinais clínicos estiveram ausentes novamente no décimo quinto dia. No grupo de controle 5, todos os animais sofreram de sinais clínicos graves e todos os animais haviam morrido, ou foram submetidos à eutanásia, porque eles haviam alcançado o nível 4 nas classificações clínicas, no nono dia. Isto mostra que, novamente, uma dose letal do vírus da influenza havia sido administrada aos animais. No Grupo 1, em que os animais já haviam recebido o anticorpo 4 horas após a infecção, alguns animais não desenvolveram sinais clínicos, enquanto outros haviam desenvolvido. O número de animais que apresentaram sinais clínicos que pudessem ser classificados, é fornecido na Tabela 16. Tendo em vista que o vírus da influenza pode ter um efeito dramático sobre os órgãos respiratórios, também a angústia respiratória foi medida e aqui fornecida na Tabela 17. A Figura 7 e a Tabela 18 apresentam o

número de animais sobreviventes e o índice de mortalidade respectivamente para todos os grupos. Por razões desconhecidas, um animal no grupo 1, que havia recebido o anticorpo 4 horas após a infecção, morreu no décimo dia. Todos os animais remanescentes nos grupos que haviam recebido o anticorpo após a infecção da influenza, sobreviveram e ficaram saudáveis no vigésimo primeiro dia. Isto é claramente mostrado nos dados de peso corporal que foram obtidos de todos os camundongos. A Figura 8 apresenta o peso corporal médio em cada grupo de camundongos durante os 21 dias do estudo. Não obstante o peso corporal de todos os camundongos houvesse decrescido após a infecção, o peso corporal retornou aos níveis normal após a administração do anticorpo. Claramente, o retorno aos níveis normais do peso corporal dependeu do tempo de tratamento do anticorpo, em que os animais que haviam sido tratados 4 horas após a exposição, recuperaram rapidamente e alcançaram os níveis normais no sétimo dia, os animais que haviam sido tratados 3 dias após a infecção, alcançaram seu peso corporal normal no décimo sétimo dia. Todos os animais alcançaram um peso corporal semelhante e saudável no final do estudo, no vigésimo primeiro dia. Claramente, todos os animais que haviam recebido o anticorpo de controle negativo não recuperaram o peso corporal e as medições foram interrompidas com a morte no nono dia.

Estes resultados mostram que um tratamento após a infecção com um anticorpo monoclonal dirigido contra o vírus H5N1 da influenza, como aqui apresentado e exemplificado pelo anticorpo CR6261, pode livrar pacientes mamíferos, como aqui mostrado nos camundongos, após o desafio com uma dose letal do vírus H5N1 da influenza. Mesmo em um estágio tardio, 3 dias após a infecção, o anticorpo é capaz de reverter os sintomas clínicos a um nível em que nenhum sinal clínico pode mais ser monitorado. Surpreendentemente, no vigésimo primeiro dia após a infecção, todos os animais tratados com o anticorpo alcançaram os níveis de peso corporal

normais e não apresentavam quaisquer sinais clínicos remanescentes.

EXEMPLO 14

PROTEÇÃO CRUZADA IN VIVO CONTRA O DESAFIO LETAL PELOS SUBTIPOS HETERÓLOGOS DA INFLUENZA USANDO ANTICORPOS 5 MONOCLONAIS DIRECIONADOS CONTRA HA DO H5N1.

Como apresentado acima (Exemplo 11), alguns dos anticorpos da presente invenção aparentemente reconhecem um epítopo único no domínio de HA2 da proteína de hemaglutinina H5. No Exemplo 7, foi mostrado que certas moléculas de ligação da presente invenção podem
10 interagir com o epítopo HA2 de uma maneira não conformacional, em outras palavras, na forma em que a proteína de hemaglutinina é duplicada não parece impedir a atividade de neutralização e os efeitos protetores destes anticorpos, como aqui apresentado.

As sequências das partes da proteína da hemaglutinina da
15 influenza que não são propensas a deriva antigênica (= a mudança das regiões imunodominantes na região HA1 da proteína, resultando na necessidade de vacinas da influenza anualmente atualizadas) são conhecidas na técnica. O epítopo em HA2 que é reconhecido por CR6261, CR6325 e CR6329 acha-se
contido na sequência de aminoácidos GVTNKVNSIIDK (SEQ ID NO: 368,
20 ver a Tabela 13) e se acha também presente nas proteínas de hemaglutinina dos subtipos H1 e H9, ver a Tabela 22. Foi mostrado no Exemplo 10 que a interação das moléculas de ligação da presente invenção ao epítopo não ficou limitada a HA de H5, mas que também o HA de H1 e H9 foram reconhecidos
(ver a Tabela 12). Daí, as moléculas de ligação da presente invenção
25 reconhecerem um epítopo que se ache presente nas proteínas HA múltiplas de diferentes serotipos da influenza.

Para estudar a aplicabilidade cruzada destes anticorpos para a terapia in vivo, uma experiência foi realizada em camundongos que se achavam em linha com o programa de dosagem da experiência descrita no

Exemplo 13. Na presente experiência, uma dose letal muito elevada de outro vírus da influenza relacionado à eclosão pandêmica de 1918 e ora circulando sazonalmente nos seres humanos, a saber, o H1N1, foi administrada em camundongos. Subsequentemente, os camundongos foram tratados com um anticorpo da presente invenção, exemplificado por CR6261, e os sinais clínicos, a angústia respiratória e o peso corporal foram monitorados por 3 semanas após a infecção. Isto confirmou que estas moléculas de ligação que poderiam salvar os camundongos quando infectados com H5N1, eram também capazes de salvar pacientes mamíferos quando infectados com H1N1, como delineado abaixo.

Um estudo foi realizado para testar o efeito terapêutico dos anticorpos monoclonais, exemplificados por CR6261, em um modelo pós-infecção contra um desafio do vírus da influenza letal H1N1 A/WSN/33 in vivo. O grupo de vírus foi obtido da ATCC (VR-219) e foi uma vez propagado em ovos embrionados. O título foi de 8,5 log TCID₅₀/ml. Como um controle negativo, um grupo de camundongos recebeu a injeção com um anticorpo monoclonal irrelevante (IgG1, λ denominado 'CR57', anticorpo de controle negativo combinado com isótipo). Os sinais clínicos, a perda de peso e a mortalidade foram monitorados até 21 dias após a infecção.

50 camundongos Balb/c fêmeas de 6 a 8 semanas de idade foram divididos em 5 grupos, que receberam o anticorpo em diferentes estágios relacionados à infecção, como segue:

1. 10 camundongos; 15 mg/kg de CR6261 um dia antes da infecção
2. 10 camundongos; 15 mg/kg de CR6261 um dia após a infecção
3. 10 camundongos; 15 mg/kg de CR6261 dois dias após a infecção
4. 10 camundongos; 15 mg/kg de CR6261 três dias após a infecção
5. 10 camundongos; 15 mg/kg de CR57 de construção negativa, 1 dia após a infecção

Todos os animais foram aclimatizados e mantidos por um

período de pelo menos 4 dias antes do início do estudo. Os animais foram inoculados por via intranasal no dia 0 com uma dose letal do vírus H1N1 (6,6 log TCID₅₀; equivalente de 25x a LD₅₀) em aproximadamente 50 µl, e monitorados. Nos pontos do tempo especificados antes/após a inoculação, 500 µl de anticorpo foram administrados por injeção intraperitoneal. A saúde geral dos camundongos foi monitorada na totalidade do estudo. Os sinais clínicos e os pesos foram avaliados a cada dia a partir do dia -1 até o vigésimo primeiro dia. Os sinais clínicos foram classificados com os índices de classificação apresentados nos Exemplos 12 e 13, variando de 0 a 4. Os animais sobreviventes foram submetidos à eutanásia e sangrados no vigésimo primeiro dia.

O índice de mortalidade para cada grupo é fornecido na Tabela 19, mostrando o número de camundongos vivos em cada grupo de estudo na totalidade do estudo. Dois camundongos morreram logo após o evento de inoculação (no primeiro dia, um no grupo 2 e um no grupo 3) e foram excluídos da análise, como pré-definido no plano de estudo. Todos os camundongos no grupo de controle 5 foram mortos no nono dia, como no estudo anterior com H5N1 (ver Tabela 18). O percentual de animais que sobreviveram a esta dose letal de desafio de H1N1 é também representado graficamente na Figura 9. O número de camundongos apresentando sinais clínicos relevantes em cada grupo é fornecido na Tabela 20. Nenhum sinal clínico foi observado no Grupo 1, enquanto nos Grupos 2, 3 e 4, alguns camundongos apresentaram sinais clínicos que desapareceram completamente após o décimo quarto dia depois da inoculação. Todos os animais do Grupo 5 começaram a apresentar sinais clínicos no segundo dia. Nenhum camundongo neste grupo foi recuperado. O número de camundongos apresentando angústia respiratória nas categorias 2 ou 3 é fornecido na Tabela 21. Nenhuma angústia clínica mais foi observada após o décimo terceiro dia nos Grupos 1 a 4, enquanto todos os camundongos remanescentes no Grupo 5 de controle

sofreram de angústia respiratória grave.

A Figura 10 apresenta o peso corporal médio dos camundongos em cada grupo de estudo. Claramente, nenhuma medição é fornecida para os camundongos do Grupo 5 após o oitavo dia. Como se pode observar desta figura, todos os camundongos que receberam o anticorpo anti-H5N1 e que se recuperaram dos sinais clínicos recuperaram o nível esperado do seu peso corporal no vigésimo primeiro dia.

Os anticorpos puderam proteger estes camundongos quando administrados antes da infecção ou após a infecção. Notavelmente, a dose da infecção foi mais alta: 25x a dose de LD₅₀, indicando que os anticorpos fornecem uma proteção muito intensa contra o vírus, mesmo quando presente em altos títulos nos pulmões. Isto é clinicamente relevante, já que os vírus altamente patogênicos como o H5N1 se replicam até titulação elevada após a infecção, e estas cargas virais elevadas têm sido ligadas ao resultado frequentemente grave nos seres humanos infectados. Além disso, todos os camundongos protegidos recuperaram-se completamente desta infecção letal no decorrer do tempo. Conclui-se que os anticorpos anti-H5N1 da presente invenção (tais como os CR6261, CR6325 e CR6329) que se ligam a epítomos (únicos) na região HA2, uma região que não é propensa a deriva antigênica, fornecem proteção cruzada in vivo contra os sorotipos múltiplos da influenza, contornando a necessidade de anticorpos contra a região HA1 altamente sensível à mutação. Deve ficar entendido que as moléculas de ligação da presente invenção, que não são limitadas pelos epítomos que se acham apenas presentes em HA de um sorotipo da influenza H5, podem também ser usadas no tratamento profilático ou terapêutico de todos os sorotipos da influenza que contenham o mesmo epítomo na região estável do HA2, tal como H1N1 e os vírus da influenza compreendendo as proteínas da hemaglutinina H2, H6 e H9.

EXEMPLOO 15

ESTUDOS DAS AFINIDADES

Os estudos das afinidades foram realizados com o uso da análise de ressonância de plasmon superficial com um sistema analítico BIAcore3000 em 25 °C e 37 °C, com o uso de HBS-EP (Biacore AB, Suécia) como tampão de desenvolvimento em uma velocidade de fluxo de 75 µl/minuto. Os IgGs foram imobilizados em uma graduação de pesquisa de chip sensor de 4 canais de fluxo (Fc) CM5 (Biacore AB, Suécia) com o uso de acoplamento de amina. Uma quantidade variável de HA de um vírus H5N1 (A/Vietnam/1203/2004) foi injetada para análise da interação de ligação entre a proteína HA e os IgGs imobilizados. A regeneração com o uso de NaOH 20 mM foi realizada no final de cada medição para remover o HA ligado, enquanto de deixava o IgG imobilizado sobre o chip.

As constantes de afinidade foram determinadas para os anticorpos CR6261, CR6323 e CR6325. Cinco concentrações nas diluições quádruplas de HA foram injetadas (100 µl por injeção), seguidas por uma fase de dissociação de 3600 segundos, e regeneração usando-se 10 µl de NaOH 20 mM. Os dados resultantes foram ajustados com o uso de um modelo a 1:1 (Langmuir). Entretanto, uma constante de dissociação precisa (KD) não pôde ser calculada. Isto foi devido aos índices de dissociação extremamente baixos em 25 °C (mesmo com uma medição prolongada) levando a um erro inaceitável no cálculo. Quando as experiências foram repetidas em 37 °C, dissociação discernível ocorreu, porém ainda não bastante suficientemente para medir precisamente a KD. As experiências são realizadas para estabelecer uma KD definitiva para os anticorpos. Estas experiências mostram que as moléculas de ligação da presente invenção têm uma afinidade muito elevada quanto ao seu epítipo presente na proteína HA do vírus da influenza.

Abaixo, os detalhes das sequências de ácidos nucleicos e de aminoácidos aqui referidas como SEQ ID NOS: 58 a 143, SEQ ID NOS: 212 a 237 e SEQ ID NOS: 316 a 367 são fornecidos.

SEQ ID NO:58

gaggtgcagc	tggtggagtc	tggggctgag	gtgaagaagc	ctgggtcctc	ggtgaaagtc	60
tcttgcaagg	cttctggagg	ccccttccgc	agctatgcta	tcagctgggt	gcgacaggcc	120
cctggacaag	ggcctgagtg	gatgggaggg	atcatcccta	tttttggtac	aacaaaatac	180
gcaccgaagt	tccagggcag	agtcacgatt	accgcggacg	atttcgcggg	cacagtttac	240
atggagctga	gcagcctgcg	atctgaggac	acggccatgt	actactgtgc	gaaacatatg	300
gggtaccagg	tgcgcgaaac	tatggacgtc	tggggcaaag	ggaccacggt	caccgtctcg	360
agtgctagca	ccaagggccc	cagcgtgttc	cccctggccc	ccagcagcaa	gagcaccagc	420
ggcggcacag	ccgccctggg	ctgcctgggt	aaggactact	tccccgagcc	cgtgaccgtg	480
agctggaaca	gcggcgcctt	gaccagcggc	gtgcacacct	tccccgccgt	gctgcagagc	540
agcggcctgt	acagcctgag	cagcgtgggt	accgtgccca	gcagcagcct	gggcacccag	600
acctacatct	gcaacgtgaa	ccacaagccc	agcaacacca	aggtggacaa	acgcgtggag	660
cccaagagct	gcgacaagac	ccacacctgc	ccccctgcc	ctgccccga	gctgctgggc	720
ggaccctccg	tgttctctgtt	cccccccaag	cccaaggaca	ccctcatgat	cagccggacc	780
cccagagtgga	cctgcgtgggt	ggtggacgtg	agccacgagg	accccagagt	gaagttcaac	840
tggtacgtgg	acggcgtgga	ggtgcacaac	gccaagacca	agccccggga	ggagcagtac	900
aacagcacct	accgggtgggt	gagcgtgctc	accgtgctgc	accaggactg	gctgaacggc	960
aaggagtaca	agtgaaggt	gagcaacaag	gccctgcctg	cccccatcga	gaagaccatc	1020
agcaaggcca	agggccagcc	ccgggagccc	cagggtgtaca	ccctgcccc	cagccgggag	1080
gagatgacca	agaaccaggt	gtccctcacc	tgtctgggtga	agggcttcta	ccccagcgac	1140
atcgccgtgg	agtgggagag	caacggccag	cccgagaaca	actacaagac	cacccccct	1200
gtgctggaca	gcgacggcag	cttcttctg	tacagcaagc	tcaccgtgga	caagagccgg	1260
tggcagcagg	gcaacgtgtt	cagctgcagc	gtgatgcacg	aggccctgca	caaccactac	1320
accagaaga	gcctgagcct	gagccccggc	aag			1353

SEQ ID NO:59

E V Q L V E S G A E V K K P G S S V K V S C K A S G G P F R S Y A I S W V
 R Q A P G Q G P E W M G G I I P I F G T T K Y A P K F Q G R V T I T A D D
 F A G T V Y M E L S S L R S E D T A M Y Y C A K H M G Y Q V R E T M D V W
 G K G T T V T V S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C
 L V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S
 L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K R V E P K
 S C D K T H T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R
 T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R
 E E Q Y N S T Y
 R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S
 K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P
 S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T
 V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K

SEQ ID NO:60

caggtccagc	tggtgcagtc	tggggctgag	gtgaagaagc	ctgggtcctc	ggtgaaagtc	60
tcttgcaagg	cttctggagg	ccccttccgc	agctatgcta	tcagctgggt	gcgacaggcc	120
cctggacaag	ggcctgagtg	gatgggaggg	atcatcccta	tttttggtac	aacaaaatac	180
gcaccgaagt	tccagggcag	agtcacgatt	accgcggacg	atttcgcggg	cacagtttac	240
atggagctga	gcagcctgcg	atctgaggac	acggccatgt	actactgtgc	gaaacatatg	300
gggtaccagg	tgcgcgaaac	tatggacgtc	tggggcaaag	ggaccacggt	caccgtctcg	360
agtgctagca	ccaagggccc	cagcgtgttc	cccctggccc	ccagcagcaa	gagcaccagc	420
ggcggcacag	ccgccctggg	ctgcctgggt	aaggactact	tccccgagcc	cgtgaccgtg	480
agctggaaca	gcggcgcctt	gaccagcggc	gtgcacacct	tccccgccgt	gctgcagagc	540
agcggcctgt	acagcctgag	cagcgtgggt	accgtgccca	gcagcagcct	gggcacccag	600
acctacatct	gcaacgtgaa	ccacaagccc	agcaacacca	aggtggacaa	acgcgtggag	660
cccaagagct	gcgacaagac	ccacacctgc	ccccctgcc	ctgccccga	gctgctgggc	720
ggaccctccg	tgttctctgtt	cccccccaag	cccaaggaca	ccctcatgat	cagccggacc	780
cccagagtgga	cctgcgtgggt	ggtggacgtg	agccacgagg	accccagagt	gaagttcaac	840
tggtacgtgg	acggcgtgga	ggtgcacaac	gccaagacca	agccccggga	ggagcagtac	900
aacagcacct	accgggtgggt	gagcgtgctc	accgtgctgc	accaggactg	gctgaacggc	960
aaggagtaca	agtgaaggt	gagcaacaag	gccctgcctg	cccccatcga	gaagaccatc	1020
agcaaggcca	agggccagcc	ccgggagccc	cagggtgtaca	ccctgcccc	cagccgggag	1080
gagatgacca	agaaccaggt	gtccctcacc	tgtctgggtga	agggcttcta	ccccagcgac	1140
atcgccgtgg	agtgggagag	caacggccag	cccgagaaca	actacaagac	cacccccct	1200

gtgctggaca	gcgacggcag	cttcttcctg	tacagcaagc	tcaccgtgga	caagagccgg	1260
tggcagcagg	gcaacgtgtt	cagctgcagc	gtgatgcacg	aggccctgca	caaccactac	1320
accagaaga	gcctgagcct	gagccccggc	aag			1353

SEQ ID NO:61

Q V Q L V Q S G A E V K K P G S S V K V S C K A S G G P F R S Y A I S W V
R Q A P G Q G P E W M G G I I P I F G T T K Y A P K F Q G R V T I T A D D
F A G T V Y M E L S S L R S E D T A M Y Y C A K H M G Y Q V R E T M D V W
G K G T T V T V S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C
L V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S
L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K R V E P K
S C D K T H T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R
T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R
E E Q Y N S T Y
R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S
K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P
S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T
V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K

SEQ ID NO:62

gaggtgcagc	tgggtggagtc	tggggctgag	gtgaagaagc	ctgggtcctc	ggtgaaagtc	60
tcttgcaagg	cttctggagg	ccccttccgc	agctatgcta	tcagctgggt	gcgacaggcc	120
cctggacaag	ggcctgagtg	gatgggaggg	atcatcccta	tttttggtac	aacaaaatac	180
gcaccgaagt	tccagggcag	agtcacgatt	accgcggacg	atttcgcggg	cacagtttac	240
atggagctga	gcagcctgcg	atctgaggac	acggccatgt	actactgtgc	gaaacatatg	300
gggtaccagg	tgcgcgaaac	tatggacgtc	tggggcaaaag	ggaccacggt	caccgtctcg	360
agtgctagca	ccaagggccc	cagcgtgttc	cccctggccc	ccagcagcaa	gagcaccagc	420
ggcggcacag	ccgcctcctg	ctgcctgggtg	aaggactact	tccccgagcc	cgtgaccgtg	480
agctggaaca	gcggcgcctt	gaccagcggc	gtgcacacct	tccccgccgt	gctgcagagc	540
agcggcctgt	acagcctgag	cagcgtgggtg	accgtgcccc	gcagcagcct	gggcacccag	600
acctacatct	gcaacgtgaa	ccacaagccc	agcaacacca	aggtggacaa	acgcgtggag	660
cccaagagct	gcgacaagac	ccacacctgc	ccccctgcc	ctgcccccca	gctgctgggc	720
ggaccctccg	tgttcctgtt	cccccccaag	cccaaggaca	ccctcatgat	cagccggacc	780
cccagagtg	cctgcgtggg	ggtggacgtg	agccacgagg	accccagagg	gaagttcaac	840
tggtagctgg	acggcgtgga	ggtgcacaa	gccaagacca	agccccggga	ggagcagtac	900
aacagcacct	accgggtggg	gagcgtgctc	accgtgctgc	accaggactg	gctgaacggc	960
aaggagtaca	agtgcgaagg	gagcaacaag	gcccctgcctg	cccccatcga	gaagaccatc	1020
agcaaggcca	agggccagcc	ccgggagccc	cagggtgtaca	ccctgcccc	cagccgggag	1080
gagatgacca	agaaccaggt	gtccctcacc	tgtctgggtga	agggtctcta	ccccagcgac	1140
atcgccgtgg	agtgggagag	caacggccag	cccgagaaca	actacaagac	cacccccctt	1200
gtgctggaca	gcgacggcag	cttcttcctg	tacagcaagc	tcaccgtgga	caagagccgg	1260
tggcagcagg	gcaacgtgtt	cagctgcagc	gtgatgcacg	aggccctgca	caaccactac	1320
accagaaga	gcctgagcct	gagccccggc	aag			1353

SEQ ID NO:63

E V Q L V E S G A E V K K P G S S V K V S C K A S G G P F R S Y A I S W V
R Q A P G Q G P E W M G G I I P I F G T T K Y A P K F Q G R V T I T A D D
F A G T V Y M E L S S L R S E D T A M Y Y C A K H M G Y Q V R E T M D V W
G K G T T V T V S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C
L V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S
L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K R V E P K
S C D K T H T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R
T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R
E E Q Y N S T Y
R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S
K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P
S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T
V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K

SEQ ID NO:64

gaggtgcagc	tgggtggagtc	tggggctgag	gtgaagaagc	ctgggtcctc	ggtgaaagtc	60
tcttgcaagg	cttctggagg	ccccttccgc	agctatgcta	tcagctgggt	gcgacaggcc	120
cctggacaag	ggcctgagtg	gatgggaggg	atcatcccta	tttttggtac	aacaaaatac	180

gcaccgaagt	tccagggcag	agtcacgatt	accgcggacg	atttcgcggg	cacagttttac	240
atggagctga	gcagcctgcg	atctgaggac	acggccatgt	actactgtgc	gaaacatatg	300
gggtaccagg	tgcgcgaaac	tatggacgtc	tggggcaaag	ggaccacggt	caccgtctcg	360
agtgctagca	ccaagggccc	cagcgtgttc	ccctggccc	ccagcagcaa	gagcaccagc	420
ggcggcacag	ccgccctggg	ctgcctgggtg	aaggactact	tccccgagcc	cgtgaccgtg	480
agctggaaca	gcggcgcctt	gaccagcggc	gtgcacacct	tccccgccgt	gctgcagagc	540
agcggcctgt	acagcctgag	cagcgtgggtg	accgtgcccc	gcagcagcct	gggcacccag	600
acctacatct	gcaacgtgaa	ccacaagccc	agcaacacca	aggtggacaa	acgcgtggag	660
cccaagagct	gcgacaagac	ccacacctgc	ccccctgcc	ctgccccga	gctgctgggc	720
ggaccctccg	tgttcctggt	ccccccaag	cccaaggaca	ccctcatgat	cagccggacc	780
cccgaggtga	cctgcgtggt	ggtggacgtg	agccacgagg	accccaggt	gaagtccaac	840
tggtagctgg	acggcgtgga	ggtgcacaac	gccaagacca	agccccggga	ggagcagtac	900
aacagcacct	accgggtggt	gagcgtgctc	accgtgctgc	accaggactg	gctgaacggc	960
aaggagtaca	agtgaagggt	gagcaacaag	gcctgcctg	ccccatcga	gaagaccatc	1020
agcaaggcca	agggccagcc	ccgggagccc	caggtgtaca	ccctgcccc	cagccgggag	1080
gagatgacca	agaaccaggt	gtccctcacc	tgtctggtga	agggcttcta	ccccagcgac	1140
atcgccgtgg	agtgggagag	caacggccag	cccagagaac	actacaagac	cacccccct	1200
gtgctggaca	gcgacggcag	cttcttcctg	tacagcaagc	tcaccgtgga	caagagccgg	1260
tggcagcagg	gcaacgtggt	cagctgcagc	gtgatgcacg	aggccctgca	caaccactac	1320
accagaaga	gcctgagcct	gagccccggc	aag			1353

SEQ ID NO:65

E V Q L V E S G A E V K K P G S S V K V S C K A S G G P F R S Y A I S W V
 R Q A P G Q G P E W M G G I I P I F G T T K Y A P K F Q G R V T I T A D D
 F A G T V Y M E L S S L R S E D T A M Y Y C A K H M G Y Q V R E T M D V W
 G K G T T V T V S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C
 L V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S
 L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K R V E P K
 S C D K T H T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R
 T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R
 E E Q Y N S T Y
 R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S
 K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P
 S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T
 V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K

SEQ ID NO:66

caggtacagc	tgcagcagtc	aggggctgag	gtgaagaagc	ctgggtcctc	ggtgaaggtc	60
tcttgcaagg	tttccggagt	cattttcagc	ggcagtgcca	tcagctgggt	gcgacaggcc	120
cctggacaag	gccttgagtg	gatgggaggg	atcagccctc	tctttggcac	aacaaattac	180
gcacaaaagt	tccagggcag	agtcacgatt	accgcggacc	aatccacgaa	cacaacctac	240
atggaggtga	acagcctgag	atatgaggac	acggccgtgt	atttctgtgc	gcgaggtcca	300
aaatattaca	gtgagtacat	ggacgtctgg	ggcaaaggga	ccacggtcac	cgtctcgagt	360
gctagcacca	agggccccag	cgtgttcccc	ctggccccca	gcagcaagag	caccagcggc	420
ggcacagccg	ccctgggctg	cctggtgaag	gactacttcc	ccgagcccgt	gaccgtgagc	480
tggaaacagcg	gcgccttgac	cagcggcgtg	cacaccttcc	ccgccgtgct	gcagagcagc	540
ggcctgtaca	gcctgagcag	cgtggtgacc	gtgccagca	gcagcctggg	caccagacc	600
tacatctgca	acgtgaacca	caagcccagc	aacaccaagg	tggacaaaacg	cgtggagccc	660
aagagctgcg	acaagaccca	cacctgcccc	ccctgccctg	cccccgagct	gctgggcgga	720
ccctccgtgt	tctgttcccc	ccccaaagccc	aaggacaccc	tcattgatcag	ccggaccccc	780
gaggtgacct	gcgtggtggt	ggacgtgagc	cacgaggacc	ccgaggtgaa	gttcaactgg	840
tacgtggacg	gcgtggaggt	gcacaacgcc	aagaccaagc	cccgaggagga	gcagtacaac	900
agcacctacc	gggtggtgag	cgtgtctacc	gtgctgcacc	aggactggct	gaacggcaag	960
gagtacaagt	gcaaggtgag	caacaaggcc	ctgcctgccc	ccatcgagaa	gaccatcagc	1020
aaggccaagg	gccagccccg	ggagccccag	gtgtacaccc	tgccccccag	ccgggaggag	1080
atgaccaaga	accaggtgtc	cctcacctgt	ctggtgaagg	gcttctaccc	cagcgacatc	1140
gccgtggagt	gggagagcaa	cggccagccc	gagaacaact	acaagaccac	ccccctgtg	1200
ctggacagcg	acggcagctt	cttcctgtac	agcaagctca	ccgtggacaa	gagccgggtg	1260
cagcagggca	acgtgttcag	ctgcagcgtg	atgcacgagg	ccctgcacaa	ccactacacc	1320
cagaagagcc	tgagcctgag	ccccggcaag				1350

SEQ ID NO:67

Q V Q L Q Q S G A E V K K P G S S V K V S C K V S G V I F S G S A I S W V

R Q A P G Q G L E W M G G I S P L F G T T N Y A Q K F Q G R V T I T A D Q
 S T N T T Y M E V N S L R Y E D T A V Y F C A R G P K Y Y S E Y M D V W G
 K G T T V T V S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L
 V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L
 S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K R V E P K S
 C D K T H T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T
 P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E
 E Q Y N S T Y R
 V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K
 A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S
 D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V
 D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K

SEQ ID NO:68

caggtccagc	tggtacagtc	tggggctgag	gtgaagaagc	ctgggtcctc	ggtgaaggtc	60
tcctgcaagg	cttctggagg	caccttcagt	agttatgcta	tcagctgggt	gcgacaggcc	120
cctggacaag	ggcttgagtg	gatgggagga	atcatgggta	tgtttggcac	aactaactac	180
gcacagaagt	tccagggcag	agtcacgatt	accgcggacg	aattcacgag	cgcagcctac	240
atggagctga	ggagcctgag	atctgaggac	acggcctgtc	actactgtgc	gaggtctagt	300
ggttattacc	ccgaataactt	ccaggactgg	ggccagggca	ccctggtcac	cgtctcgagt	360
gctagcacca	agggcccccag	cgtgttcccc	ctggccccc	gcagcaagag	caccagcggc	420
ggcacagccg	ccctgggctg	cctgggtgaag	gactacttcc	ccgagcccgt	gaccgtgagc	480
tggaacagcg	gcgccttgac	cagcggcgtg	cacaccttcc	ccgcctgtgt	gcagagcagc	540
ggcctgtaca	gcctgagcag	cgtggtgacc	gtgccccagca	gcagcctggg	caccagacc	600
tacatctgca	acgtgaacca	caagcccagc	aacaccaagg	tggacaaacg	cgtggagccc	660
aagagctgcg	acaagaccca	cacctgcccc	ccctgccttg	cccccgagct	gctgggcgga	720
ccctccgtgt	tcctgttccc	ccccaaagccc	aaggacaccc	tcattgatcag	ccggaccccc	780
gaggtgacct	gcgtgggtgg	ggacgtgagc	cacgaggacc	ccgaggtgaa	gttcaactgg	840
tacgtggacg	gcgtggaggt	gcacaacgcc	aagaccaagc	cccgggagga	gcagtacaac	900
agcacctacc	gggtgggtgag	cgtgctcacc	gtgctgcacc	aggactggct	gaacggcaag	960
gagtacaagt	gcaaggtgag	caacaaggcc	ctgcctgccc	ccatcgagaa	gacctcagc	1020
aaggccaagg	gccagccccg	ggagccccag	gtgtacaccc	tgccccccag	ccgggaggag	1080
atgaccaaga	accaggtgtc	cctcacctgt	ctggtgaagg	gcttctaccc	cagcgacatc	1140
gccgtggagt	gggagagcaa	cggccagccc	gagaacaact	acaagaccac	ccccctgtg	1200
ctggacagcg	acggcagctt	cttcctgtac	agcaagctca	ccgtggacaa	gagccgggtg	1260
cagcagggca	acgtgttcag	ctgcagcgtg	atgcacgagg	ccctgcacaa	ccactacacc	1320
cagaagagcc	tgagcctgag	ccccggcaag				1350

SEQ ID NO:69

Q V Q L V Q S G A E V K K P G S S V K V S C K A S G G T F S S Y A I S W V
 R Q A P G Q G L E W M G G I M G M F G T T N Y A Q K F Q G R V T I T A D E
 F T S A A Y M E L R S L R S E D T A V Y Y C A R S S G Y Y P E Y F Q D W G
 Q G T L V T V S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L
 V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L
 S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K R V E P K S
 C D K T H T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T
 P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E
 E Q Y N S T Y R
 V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K
 A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S
 D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V
 D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K

SEQ ID NO:70

caggtccagc	tggtgcagtc	tgggggaggc	ctggtcaagc	ctgggggggtc	cctgagactc	60
tcctgtgcag	cctctggatt	caccttcagt	agctatagca	tgaactgggt	ccgccaggct	120
ccagggaagg	ggctggagtg	ggtctcatcc	attagtagta	gtagtagtta	catatactac	180
gtagactcag	tgaagggccg	attcaccatc	tccagagaca	acgccaagaa	ctcactgtat	240
ctgcaaataga	acagcctgag	agccgaggac	acggctgtgt	attactgtgc	gagaggtggg	300
gggagctacg	gggcctacga	aggctttgac	tactggggcc	agggcaccct	ggtcaccgtc	360
tcgagtgcta	gcaccaaggg	ccccagcgtg	ttccccctgg	ccccagcag	caagagcacc	420
agcggcggca	cagccgccct	gggctgctg	gtgaaggact	acttccccga	gcccgtgacc	480
gtgagctgga	acagcggcgc	cttgaccagc	ggcgtgcaca	ccttccccgc	cgtgctgcag	540

agcagcggcc	tgtacagcct	gagcagcgtg	gtgaccgtgc	ccagcagcag	cctggggcacc	600
cagacctaca	tctgcaacgt	gaaccacaag	cccagcaaca	ccaaggtgga	caaacgcgtg	660
gagcccaaga	gctgcgacaa	gacccacacc	tgccccccct	gccctgcccc	cgagctgctg	720
ggcggaccct	ccgtgttcct	gttccccccc	aagcccaagg	acaccctcat	gatcagccgg	780
acccccgagg	tgacctgcgt	ggtggtggac	gtgagccacg	aggaccccga	ggtgaagttc	840
aactggtacg	tggacggcgt	ggaggtgcac	aacgccaaga	ccaagccccg	ggaggagcag	900
tacaacagca	cctaccgggt	ggtgagcgtg	ctcaccgtgc	tgcaccagga	ctggctgaac	960
ggcaaggagt	acaagtgcaa	ggtgagcaac	aaggccctgc	ctgcccccat	cgagaagacc	1020
atcagcaagg	ccaagggcca	gccccgggag	ccccaggtgt	acaccctgcc	ccccagccgg	1080
gaggagatga	ccaagaacca	ggtgtccctc	acctgtcttg	tgaagggtt	ctacccccagc	1140
gacatcgccg	tggagtggga	gagcaacggc	cagcccgaga	acaactacaa	gaccaccccc	1200
cctgtgctgg	acagcgacgg	cagctttctt	ctgtacagca	agctcaccgt	ggacaagagc	1260
cgggtggcagc	agggcaacgt	gttcagctgc	agcgtgatgc	acgaggccct	gcacaaccac	1320
tacaccaga	agagcctgag	cctgagcccc	ggcaag			1356

SEQ ID NO:71

Q V Q L V Q S G G G L V K P G G S L R L S C A A S G F T F S S Y S M N W V
R Q A P G K G L E W V S S I S S S S S Y I Y Y V D S V K G R F T I S R D N
A K N S L Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A R G G G S Y G A Y E G F D Y
W G Q G T L V T V S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G
C L V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y
S L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K R V E P
K S C D K T H T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S
R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P
R E E Q Y N S T
Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I
S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y
P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L
T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K

SEQ ID NO:72

gaggtgcagc	tggtggagtc	tggggctgag	gtgaagaagc	ctgggtcctc	ggtgaaagtc	60
tcttgcaagg	cttctggagg	ccccttccgc	agctatgcta	tcagctgggt	gcgacaggcc	120
cctggacaag	ggcctgagtg	gatgggaggg	atcatcccta	tttttggtac	aacaaaatac	180
gcaccgaagt	tccagggcag	agtcacgatt	accgcggacg	atttcgcggg	cacagttttac	240
atggagctga	gcagcctgcg	atctgaggac	acggccatgt	actactgtgc	gaaacatatg	300
gggtaccagg	tgcgcgaaac	tatggacgtc	tggggcaaag	ggaccacggt	caccgtctcg	360
agtgctagca	ccaagggccc	cagcgtgttc	cccctggccc	ccagcagcaa	gagcaccagc	420
ggcggcacag	ccgcccctggg	ctgcctggtg	aaggactact	tccccgagcc	cgtgaccgtg	480
agctggaaaca	cgggcgcctt	gaccagcggc	gtgcacacct	tccccgcctg	gctgcagagc	540
agcggcctgt	acagcctgag	cagcgtggtg	accgtgccca	gcagcagcct	gggcaccacg	600
acctacatct	gcaacgtgaa	ccacaagccc	agcaacacca	aggtggacaa	acgcgtggag	660
cccaagagct	gcgacaagac	ccacacctgc	ccccctgcc	ctgcccccgga	gctgctgggc	720
ggaccctccg	tgttctctgtt	cccccccaag	cccaaggaca	ccctcatgat	cagccggacc	780
cccagagtgga	cctgcgtggt	ggtggacgtg	agccacgagg	accccagagt	gaagttcaac	840
tggtacgtgg	acggcgtgga	ggtgcacaac	gccaagacca	agccccggga	ggagcagtac	900
aacagcacct	accgggtggt	gagcgtgctc	accgtgctgc	accaggactg	gctgaacggc	960
aaggagtaca	agtgcgaagt	gagcaacaag	gccctgcctg	cccccatcga	gaagaccatc	1020
agcaaggcca	agggccagcc	ccgggagccc	caggtgtaca	ccctgcccc	cagccgggag	1080
gagatgacca	agaaccaggt	gtccctcacc	tgtctggtga	agggtttcta	ccccagcgac	1140
atcgccgtgg	agtgggagag	caacggccag	cccagagaaca	actacaagac	cacccccctt	1200
gtgctggaca	gcgacggcag	cttcttctctg	tacagcaagc	tcacogtgga	caagagccgg	1260
tggcagcagg	gcaacgtgtt	cagctgcagc	gtgatgcacg	aggccctgca	caaccactac	1320
accagaaga	gcctgagcct	gagccccggc	aag			1353

SEQ ID NO:73

E V Q L V E S G A E V K K P G S S V K V S C K A S G G P F R S Y A I S W V
R Q A P G Q G P E W M G G I I P I F G T T K Y A P K F Q G R V T I T A D D
F A G T V Y M E L S S L R S E D T A M Y Y C A K H M G Y Q V R E T M D V W
G K G T T V T V S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C

L V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S
 L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K R V E P K
 S C D K T H T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R
 T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R
 E E Q Y N S T Y
 R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S
 K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P
 S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T
 V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K

SEQ ID NO:74

gaggtgcagc tgggtggagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaagtc 60
 tcttgcaagg cttctggagg ccccttcgc agctatgcta tcagctgggt gcgacaggcc 120
 cctggacaag ggcttgagtg gatgggaggg atcatcccta tttttggtac aacaaaatac 180
 gcaccgaagt tccagggcag agtcacgatt accgcggacg atttcgcggg cacagtttac 240
 atggagctga gcagcctgcg atctgaggac acggccatgt actactgtgc gaaacatatg 300
 gggtagcagg tgcgcgaaac tatggacgtc tggggcaaag ggaccacggt caccgtctcg 360
 agtgctagca ccaagggcc cagcgtgttc cccctggccc ccagcagcaa gagcaccagc 420
 ggcggcacag ccgccttggg ctgcctgggtg aaggactact tccccgagcc cgtgaccgtg 480
 agctggaaca ggggcgcctt gaccagcggc gtgcacacct tccccgcctg gctgcagagc 540
 agcggcctgt acagcctgag cagcgtgggt accgtgcccga gcagcagcct gggcaccacg 600
 acctacatct gcaacgtgaa ccacaagccc agcaacacca aggtggacaa acgcgtggag 660
 cccaagagct gcgacaagac ccacacctgc cccccctgcc ctgccccga gctgctgggc 720
 ggaccctccg tgttctctgt ccccccaag cccaaggaca cctcatgat cagccggacc 780
 cccgaggtga cctgcgtggt ggtggacgtg agccacgagg accccgaggt gaagttcaac 840
 tggtagctgg acggcgtgga ggtgcacaac gccaaagcca agccccgga ggagcagtag 900
 aacagcacct accgggtggt gagcgtgctc accgtgctgc accaggactg gctgaacggc 960
 aaggagtaca agtgcaaggt gagcaacaag gccctgcctg cccccatcga gaagaccatc 1020
 agcaaggcca agggccagcc ccgggagccc caggtgtaca cctgcccc cagccgggag 1080
 gagatgacca agaaccaggt gtccctcacc tgtctggtga agggcttcta cccagcgac 1140
 atcgccgtgg agtgggagag caacggccag cccgagaaca actacaagac cccccccct 1200
 gtgctggaca gcgacggcag cttcttctg tacagcaagc tcaccgtgga caagagccgg 1260
 tggcagcagg gcaacgtgtt cagctgcagc gtgatgcagc aggccttga caaccactac 1320
 acccagaaga gcctgagcct gagccccggc aag 1353

SEQ ID NO:75

E V Q L V E S G A E V K K P G S S V K V S C K A S G G P F R S Y A I S W V
 R Q A P G Q G P E W M G G I I P I F G T T K Y A P K F Q G R V T I T A D V
 F A G T V Y M E L S S L R S E D T A M Y Y C A K H M G Y Q V R E T M D V W
 G K G T T V T V S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C
 L V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S
 L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K R V E P K
 S C D K T H T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R
 T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R
 E E Q Y N S T Y
 R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S
 K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P
 S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T
 V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K

SEQ ID NO:76

gaggtgcagc tgggtggagtc tggggctgag gtgaagaagc cagggtcctc ggtgaaggtc 60
 tcttgtaagg cctctggagg cacccttctc agctatggta tcagctgggt gcgacaggcc 120
 cctggacaag ggcttgagtg gatgggagac atcatcggtg tgtttggttc aacaaactac 180
 gcacagaact tccagggcag actcacgatt accgcggacg aatccacgag cacagcctac 240
 atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgcctgtg attactgtgc gagaagtagt 300
 gggtattacc ctgcatacct cccccactgg ggccaggcca ccttggtcac cgtctcgagt 360
 gctagcacca agggccccag cgtgttcccc ctggccccca gcagcaagag caccagcggc 420
 ggcacagccg ccttgggctg cctggtgaag gactacttcc ccgagccctg gaccgtgagc 480
 tggaaacagcg gcgccttgac cagcggcgtg cacaccttcc ccgccgtgct gcagagcagc 540
 ggctgtaca gcctgagcag cgtggtgacc gtgcccagca gcagcctggg caccagacc 600
 tacatctgca acgtgaacca caagcccagc aacaccaagg tggacaaacg cgtggagccc 660
 aagagctgcg acaagacca cactgcccc cctgcccctg cccccgagct gctgggcgga 720

ccctccgtgt	tcctgttccc	ccccaagccc	aaggacaccc	tcattgatcag	ccggaccccc	780
gaggtgacct	gcgtgggtgt	ggacgtgagc	cacgaggacc	ccgaggtgaa	gttcaactgg	840
tacgtggacg	gcgtggaggt	gcacaacgcc	aagaccaagc	cccgggagga	gcagtacaac	900
agcacctacc	gggtgggtgag	cgtgctcacc	gtgctgcacc	aggactggct	gaacggcaag	960
gagtacaagt	gcaaggtgag	caacaaggcc	ctgcctgccc	ccatcgagaa	gaccatcagc	1020
aaggccaagg	gccagccccg	ggagccccag	gtgtacaccc	tgccccccag	ccgggaggag	1080
atgaccaaga	accaggtgtc	cctcacctgt	ctggtgaagg	gcttctaccc	cagcgacatc	1140
gccgtggagt	gggagagcaa	cggccagccc	gagaacaact	acaagaccac	ccccctgtg	1200
ctggacagcg	acggcagctt	cttcctgtac	agcaagctca	ccgtggacaa	gagccggtgg	1260
cagcagggca	acgtgttcag	ctgcagcgtg	atgcacgagg	ccctgcacaa	ccactacacc	1320
cagaagagcc	tgagcctgag	ccccggcaag				1350

SEQ ID NO:77

E V Q L V E S G A E V K K P G S S V K V S C K A S G G T F S S Y G I S W V
 R Q A P G Q G L E W M G D I I G M F G S T N Y A Q N F Q G R L T I T A D E
 S T S T A Y M E L S S L R S E D T A V Y Y C A R S S G Y Y P A Y L P H W G
 Q G T L V T V S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L
 V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L
 S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K R V E P K S
 C D K T H T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T
 P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E
 E Q Y N S T Y R
 V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K
 A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S
 D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V
 D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K

SEQ ID NO:78

gaggtgcagc	tggtggagtc	tggggctgag	gtgaagaagc	cggggtcctc	ggtgaaggtc	60
tcctgcaagg	cttctggagg	caccttcagc	ttctattcta	tgagctgggt	gcgacaggcc	120
cctggacaag	gacttgagtg	gatgggaggg	atcatcccta	tgtttggtac	aacaaactac	180
gcacagaagt	tccagggcag	agtcacgatt	accgcggctg	aatccacgag	cacagcctac	240
atggaggtga	gcagcctgag	atctgaggac	acggccggtt	attactgtgc	gagaggtgat	300
aagggtatct	actactacta	catggacgtc	tggggcaaag	ggaccacggt	cacogtctcg	360
agtgttagca	ccaagggccc	cagcgtgttc	cccctggccc	ccagcagcaa	gagcaccagc	420
ggcggcacag	ccgcctggg	ctgcctgggt	aaggactact	tccccgagcc	cgtgaccgtg	480
agctggaaca	gcggcgccct	gaccagcggc	gtgcacacot	tccccgcctg	gctgcagagc	540
agcggcctgt	acagcctgag	cagcgtgggt	accgtgccc	gcagcagcct	gggcacccag	600
acctacatct	gcaacgtgaa	ccacaagccc	agcaacacca	aggtggacaa	acgcgtggag	660
cccaagagct	gcgacaagac	ccacacctgc	ccccctgccc	ctgcccccca	gctgctgggc	720
ggacctccg	tgttctgtt	ccccccaag	cccaaggaca	ccctcatgat	cagccggacc	780
cccagagtg	cttcgctgggt	ggtggacgtg	agccacgagg	accccgaggt	gaagttcaac	840
tggtacgtgg	acggcggtga	ggtgcacaac	gccaagacca	agccccggga	ggagcagtac	900
aacagcacct	accgggtgggt	gagcgtgctc	accgtgctgc	accaggactg	gctgaacggc	960
aaggagtaca	agtgaagggt	gagcaacaag	gcccctgctg	cccccatoga	gaagaccatc	1020
agcaaggcca	agggccagcc	ccgggagccc	caggtgtaca	ccctgcccc	cagccgggag	1080
gagatgacca	agaaccaggt	gtccctcacc	tgtctgggtga	agggtttcta	ccccagcgac	1140
atcgccgtgg	agtgggagag	caacggccag	cccgagaaca	actacaagac	ccccccccct	1200
gtgctggaca	gcgacggcag	cttccttcctg	tacagcaagc	tcaccgtgga	caagagccgg	1260
tggcagcagg	gcaacgtgtt	cagctgcagc	gtgatgcacg	aggccctgca	caaccactac	1320
accagaaga	gcctgagcct	gagccccggc	aag			1353

SEQ ID NO:79

E V Q L V E S G A E V K K P G S S V K V S C K A S G G T F S F Y S M S W V
 R Q A P G Q G L E W M G G I I P M F G T T N Y A Q K F Q G R V T I T A V E
 S T S T A Y M E V S S L R S E D T A V Y Y C A R G D K G I Y Y Y Y M D V W
 G K G T T V T V S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C
 L V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S
 L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K R V E P K
 S C D K T H T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R
 T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R
 E E Q Y N S T Y
 R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S

K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P
 S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T
 V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K

SEQ ID NO:80

gaggtgcagc	tggtggagtc	tggggctgag	gtgaagaagc	ctgggtcctc	ggtgaaggtc	60
tcctgcaagg	cttctggagg	caccttcagc	agctatgcta	tcagctgggt	gcgacaggcc	120
cctggacaag	ggcttgagt	gatgggaggg	atcatcgcta	tggtcggtac	agcaaactac	180
gcacagaagt	tccagggcag	agtcacgatt	accgcggacg	aatttacgag	cacagcctac	240
atggagctga	gcagcctgag	atctgaggac	acggccgtgt	attactgtgc	gagaggaaat	300
tattactatg	agagtagtct	cgactactgg	ggccagggaa	ccctggtcac	cgtctcgagt	360
gctagcacca	agggccccag	cgtgttcccc	ctggccccca	gcagcaagag	caccagcggc	420
ggcacagccg	ccctgggctg	cctggtgaag	gactacttcc	ccgagcccgt	gaccgtgagc	480
tggaacagcg	gcgccttgac	cagcggcgtg	cacaccttcc	ccgcctgtgt	gcagagcagc	540
ggcctgtaca	gcctgagcag	cgtggtgacc	gtgcccagca	gcagcctggg	caccagacc	600
tacatctgca	acgtgaacca	caagcccagc	aacaccaagg	tggaacaaacg	cgtggagccc	660
aagagctgcg	acaagaccca	cacctgcccc	ccctgccctg	cccccgagct	gctgggcgga	720
ccctccgtgt	tcctgttccc	ccccaaagccc	aaggacaccc	tcctgatcag	ccggaccccc	780
gaggtgacct	gcgtgggtgt	ggacgtgagc	cacgaggacc	ccgaggtgaa	gttcaactgg	840
tacgtggacg	gcgtggaggt	gcacaacgcc	aagaccaagc	cccgaggagg	gcagtacaac	900
agcacctacc	gggtgggtgag	cgtgctcacc	gtgctgcacc	aggactggct	gaacggcaag	960
gagtacaagt	gcaaggtgag	caacaaggcc	ctgcctgccc	ccatcgagaa	gaccatcagc	1020
aaggccaagg	gccagccccg	ggagccccag	gtgtacaccc	tgccccccag	ccgggaggag	1080
atgaccaaga	accaggtgtc	cctcacctgt	ctggtgaagg	gcttctaccc	cagcgacatc	1140
gccgtggagt	gggagagcaa	cggccagccc	gagaacaact	acaagaccac	ccccctgtg	1200
ctggacagcg	acggcagctt	cttctgttac	agcaagctca	ccgtggacaa	gagccggtgg	1260
cagcagggca	acgtgttcag	ctgcagcgtg	atgcacgagg	ccctgcacaa	ccactacacc	1320
cagaagagcc	tgagcctgag	ccccggcaag				1350

SEQ ID NO:81

E V Q L V E S G A E V K K P G S S V K V S C K A S G G T F S S Y A I S W V
 R Q A P G Q G L E W M G G I I G M F G T A N Y A Q K F Q G R V T I T A D E
 F T S T A Y M E L S S L R S E D T A V Y Y C A R G N Y Y E S S L D Y W G
 Q G T L V T V S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L
 V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L
 S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K R V E P K S
 C D K T H T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T
 P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E
 E Q Y N S T Y R
 V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K
 A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S
 D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V
 D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K

SEQ ID NO:82

caggtgcagc	tggtgcagtc	tggggctgag	gtgaagaagc	ctgggtcctc	ggtgagagtc	60
tcctgcaagg	cttctggaag	catcttcaga	aactatgcta	tgagctgggt	gcgacaggcc	120
cctggacaag	ggcttgagt	gatgggaggg	atcatcgcta	tttttgggac	accaaagtac	180
gcacagaagt	tccagggcag	agtcacgatt	accgcggacg	aatcgacgag	cactgtctac	240
atggaactga	gcggactgag	atctgaggac	acggccatgt	attactgtgc	gaggattccc	300
cactataatt	ttggttcggg	gagttatttc	gactactggg	gccagggaaac	cctggtcacc	360
gtctcgagt	ctagcaccaa	gggccccagc	gtgttcccc	tgccccccag	cagcaagagc	420
accagcggcg	gcacagccgc	cctgggctgc	ctggtgaagg	actacttccc	cgagcccgtg	480
accgtgagct	ggaacagcgg	cgcccttgacc	agcggcgtgc	acaccttccc	cgccgtgctg	540
cagagcagcg	gcctgtacag	cctgagcagc	gtggtgaccg	tgcccagcag	cagcctgggc	600
acccagacct	acatctgcaa	cgtgaaccac	aagcccagca	acaccaagg	ggacaaacgc	660
gtggagccca	agagctgcga	caagacccac	acctgcccc	cctgcccctg	ccccgagctg	720
ctgggcccga	cctccgtgtt	cctgttcccc	cccaagccca	aggacacct	catgatcagc	780
cggacccccg	aggtgacctg	cgtggtgggtg	gcagctgacc	acgaggaccc	cgaggtgaag	840
ttcaactggt	acgtggacgg	cgtggaggtg	cacaacgcc	agaccaagcc	ccgggaggag	900
cagtacaaca	gcacctaccg	ggtggtgagc	gtgctcaccg	tgctgcacca	ggactggctg	960
aacggcaagg	agtacaagt	caaggtgagc	aacaaggccc	tgccctgccc	catcgagaag	1020

accatcagca	aggccaaggg	ccagccccgg	gagccccagg	tgtacaccct	gccccccagc	1080
cgggaggaga	tgaccaagaa	ccaggtgtcc	ctcacctgtc	tggtgaaggg	cttctacccc	1140
agcgacatcg	ccgtggagtg	ggagagcaac	ggccagcccc	agaacaacta	caagaccacc	1200
ccccctgtgc	tggacagcga	cggcagcttc	ttcctgtaca	gcaagctcac	cgtggacaag	1260
agccggtggc	agcagggcaa	cgtgttcagc	tgacagcgtg	tgacagaggg	cctgcacaac	1320
cactacaccc	agaagagcct	gagcctgagc	cccggcaag			1359

SEQ ID NO:83

Q V Q L V Q S G A E V K K P G S S V R V S C K A S G S I F R N Y A M S W V
R Q A P G Q G L E W M G G I I A I F G T P K Y A Q K F Q G R V T I T A D E
S T S T V Y M E L S G L R S E D T A M Y Y C A R I P H Y N F G S G S Y F D
Y W G Q G T L V T V S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L
G C L V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L
Y S L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K R V E
P K S C D K T H T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I
S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K
P R E E Q Y N S
T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T
I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F
Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K
L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G
K

SEQ ID NO:84

tcctatgtgc	tgactcagcc	accctcagcg	tctgggaccc	ccgggcagag	ggtcaccatc	60
tcttgttctg	gaagcacgtt	caacatcgga	agtaatgctg	tagactggta	ccggcagctc	120
ccaggaacgg	cccccaact	cctcatctat	agtaataatc	agcgccctc	aggggtccct	180
gaccgattct	ctggctccag	gtctggcacc	tcagcctccc	tggccatcag	tgggctccag	240
tctgaggatg	aggctgatta	ttactgtgca	gcatgggatg	acatcctgaa	tgttccggta	300
ttcggcggag	ggaccaagct	gaccgtccta	ggtgcggccg	caggccagcc	caaggccgct	360
cccagcgtga	ccctgttccc	cccctcctcc	gaggagctgc	aggccaacaa	ggccaccctg	420
gtgtgcctca	tcagcgactt	ctaccctggc	gccgtgaccg	tggcctggaa	ggccgacagc	480
agccccgtga	aggccggcgt	ggagaccacc	acccccagca	agcagagcaa	caacaagtac	540
gccgccagca	gctacctgag	cctcaccccc	gagcagtggg	agagccaccg	gagctacagc	600
tgccaggtga	cccacgaggg	cagcaccgtg	gagaagaccg	tggccccccac	cgagtgcagc	660

SEQ ID NO:85

S Y V L T Q P P S A S G T P G Q R V T I S C S G S T F N I G S N A V D W Y
R Q L P G T A P K L L I Y S N N Q R P S G V P D R F S G S R S G T S A S L
A I S G L Q S E D E A D Y Y C A A W D D I L N V P V F G G G T K L T V L G
A A A G Q P K A A P S V T L F P P S S E E L Q A N K A T L V C L I S D F Y
P G A V T V A W K A D S S P V K A G V E T T T P S K Q S N N K Y A A S S Y
L S L T P E Q W K S H R S Y S C Q V T H E G S T V E K T V A P T E C S

SEQ ID NO:86

cagtctgccc	tgactcagcc	tgcgcgcgtg	tctgggtctc	ctggacagtc	gatecaccatc	60
tcttgcactg	gaaccagcag	tgacgttggg	ggttataact	atgtctcctg	gtaccaacag	120
caccagggca	aagcccccaa	actcatgatt	tatgaggtca	gtaatcggcc	ctcaggggtt	180
tctaatecgt	tctctggctc	caagtctggc	aacacggcct	ccctgaccat	ctctgggctc	240
caggctgagg	acgaggctga	ttattactgc	agctcatata	caagcagcag	cacttatgtc	300
ttcggaactg	ggaccaaggt	caccgtccta	ggtgcggccg	caggccagcc	caaggccgct	360
cccagcgtga	ccctgttccc	cccctcctcc	gaggagctgc	aggccaacaa	ggccaccctg	420
gtgtgcctca	tcagcgactt	ctaccctggc	gccgtgaccg	tggcctggaa	ggccgacagc	480
agccccgtga	aggccggcgt	ggagaccacc	acccccagca	agcagagcaa	caacaagtac	540
gccgccagca	gctacctgag	cctcaccccc	gagcagtggg	agagccaccg	gagctacagc	600
tgccaggtga	cccacgaggg	cagcaccgtg	gagaagaccg	tggccccccac	cgagtgcagc	660

SEQ ID NO:87

Q S A L T Q P A A V S G S P G Q S I T I S C T G T S S D V G G Y N Y V S W
Y Q Q H P G K A P K L M I Y E V S N R P S G V S N R F S G S K S G N T A S
L T I S G L Q A E D E A D Y Y C S S Y T S S S T Y V F G T G T K V T V L G
A A A G Q P K A A P S V T L F P P S S E E L Q A N K A T L V C L I S D F Y
P G A V T V A W K A D S S P V K A G V E T T T P S K Q S N N K Y A A S S Y

L S L T P E Q W K S H R S Y S C Q V T H E G S T V E K T V A P T E C S

SEQ ID NO:88

tcttatgtgc	tgactcagcc	accctcagtc	tctgggaccc	ccgggcagag	ggtcaccatc	60
tcttgctctg	gaagccgctc	caacgtcgga	gataattctg	tatatggta	tcaacacgtc	120
ccagaaatgg	cccccaact	cctcgtctat	aagaatactc	aacggccctc	aggagtcctt	180
gcccggtttt	ccggctccaa	gtctggcact	tcagcctccc	tggccatcat	tggcctccag	240
tccggcgatg	aggctgatta	ttattgtgtg	gcatgggatg	acagcgtaga	tggctatgtc	300
ttcggatctg	ggaccaaggt	caccgtccta	ggtgcggccg	caggccagcc	caaggccgct	360
cccagcgtga	ccctgttccc	cccctcctcc	gaggagctgc	aggccaacaa	ggccaccctg	420
gtgtgcctca	tcagcgactt	ctaccctggc	gccgtgaccg	tggcctggaa	ggccgacagc	480
agccccgtga	aggccggcgt	ggagaccacc	acccccagca	agcagagcaa	caacaagtac	540
gccgccagca	gctacctgag	cctcaccccc	gagcagtggg	agagccaccg	gagctacagc	600
tgccaggtga	cccacgaggg	cagcaccgtg	gagaagaccg	tggcccccac	cgagtgcagc	660

SEQ ID NO:89

S Y V L T Q P P S V S G T P G Q R V T I S C S G S R S N V G D N S V Y W Y
 Q H V P E M A P K L L V Y K N T Q R P S G V P A R F S G S K S G T S A S L
 A I I G L Q S G D E A D Y Y C V A W D D S V D G Y V F G S G T K V T V L G
 A A A G Q P K A A P S V T L F P P S S E E L Q A N K A T L V C L I S D F Y
 P G A V T V A W K A D S S P V K A G V E T T T P S K Q S N N K Y A A S S Y
 L S L T P E Q W K S H R S Y S C Q V T H E G S T V E K T V A P T E C S

SEQ ID NO:90

cagtctgtgt	tgacgcagcc	gccctcagtg	tctgcggccc	caggacagaa	ggtcaccatc	60
tcttgctctg	gaagcagctc	caacattggg	aatgattatg	tatcctggta	ccagcagctc	120
ccaggaacag	cccccaact	cctcatttat	gacaataata	agcgaccctc	agggattcct	180
gaccgattct	ctggctccaa	gtctggcagc	tcagccaccc	tgggcatcac	cggactccag	240
actggggacg	aggccaacta	ttactgcgca	acatgggatc	gccgcccagc	tgcttatggt	300
gtcttcggcg	gagggaccaaa	gctgaccgtc	ctaggtgcgg	ccgcaggcca	gccaaggcc	360
gtctccagcg	tgacctgtgt	ccccccctcc	tccgaggagc	tgcaggccaa	caaggccacc	420
ctgggtgtgcc	tcacacagca	cttctaccct	ggcgccgtga	ccgtggcctg	gaaggccgac	480
agcagcccg	tgaaggccgg	cgtggagacc	accaccccca	gcaagcagag	caacaacaag	540
tacgccgcca	gcagctacct	gagcctcacc	cccagcagct	ggaagagcca	ccggagctac	600
agctgccagg	tgaccacaga	gggcagcacc	gtggagaaga	ccgtggcccc	caccgagtgc	660
agc						663

SEQ ID NO:91

Q S V L T Q P P S V S A A P G Q K V T I S C S G S S S N I G N D Y V S W Y
 Q Q L P G T A P K L L I Y D N N K R P S G I P D R F S G S K S G T S A T L
 G I T G L Q T G D E A N Y Y C A T W D R R P T A Y V V F G G G T K L T V L
 G A A A G Q P K A A P S V T L F P P S S E E L Q A N K A T L V C L I S D F
 Y P G A V T V A W K A D S S P V K A G V E T T T P S K Q S N N K Y A A S S
 Y L S L T P E Q W K S H R S Y S C Q V T H E G S T V E K T V A P T E C S

SEQ ID NO:92

gacatccaga	tgaccagtc	tccatcctcc	ctgtctgcat	ctgtaggaga	cagagtcacc	60
atcacttgcc	gggcgagtc	gggcattagc	agttatttag	cctggtatca	gcagaagcca	120
gggaaagtcc	ctacactcct	gatctatgat	gcatccactt	tgcgatcagg	gggtcccatct	180
cgcttcagtg	gcagtggatc	tgcgacagat	ttcactctca	ccatcagcag	cctgcagcct	240
gaagatgttg	caacttatta	ctgtcaaagg	tataacagtg	cccccccgat	caccctcggc	300
caagggacac	gactggagat	taaacgtgcg	gccgcaccca	gcgtgttcat	cttccccccc	360
tccgacgagc	agctgaagag	cggcaccgcc	agcgtgggtg	gcctgctgaa	caacttctac	420
ccccgggagg	ccaaggtgca	gtggaagggt	gacaacgccc	tgacagcgcg	caacagccag	480
gagagcgtga	ccgagcagga	cagcaaggac	tccacctaca	gcctgagcag	caccctcacc	540
ctgagcaagg	ccgactacga	gaagcacaag	gtgtacgcct	gcgaggtgac	ccaccagggc	600
ctgagcagcc	ccgtgaccaa	gagcttcaac	cggggcgagt	gt		642

SEQ ID NO:93

D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C R A S Q G I S S Y L A W Y Q
 Q K P G K V P T L L I Y D A S T L R S G V P S R F S G S G S A T D F T L T
 I S S L Q P E D V A T Y Y C Q R Y N S A P P I T F G Q G T R L E I K R A A
 A P S V F I F P P S D E Q L K S G T A S V V C L L N N F Y P R E A K V Q W

K V D N A L Q S G N S Q E S V T E Q D S K D S T Y S L S S T L T L S K A D
Y E K H K V Y A C E V T H Q G L S S P V T K S F N R G E C

SEQ ID NO:94

cagtctgtgc	tgactcagcc	accctcagag	tccgtgtccc	caggacagac	agccagcgtc	60
acctgctctg	gacataaatt	gggggataaa	tatgtttcgt	ggtatcagca	gaagccaggc	120
cagtcctctg	tattactcat	ctatcaagat	aacaggcggc	cctcagggat	ccctgagcga	180
ttcataggct	ccaactctgg	gaacacagcc	actctgacca	tcagcgggac	ccaggctctg	240
gatgaggctg	actattactg	tcaggcgtgg	gacagcagca	ctgcgggttt	cggcggaggg	300
accaagctga	ccgtcctagg	tgccggccgca	ggccagccca	aggccgctcc	cagcgtgacc	360
ctgttccccc	cctcctccga	ggagctgcag	gcccaacaagg	ccaccctggg	gtgcctcatc	420
agcgacttct	accctggcgc	cgtgaccgtg	gcctggaagg	ccgacagcag	ccccgtgaag	480
gccggcgtgg	agaccaccac	ccccagcaag	cagagcaaca	acaagtacgc	cgccagcagc	540
tacctgagcc	tcacccccga	gcagtgggaag	agccaccgga	gctacagctg	ccaggtgacc	600
cacgagggca	gcaccgtgga	gaagaccgtg	gccccaccg	agtgcagc		648

SEQ ID NO:95

Q S V L T Q P P S E S V S P G Q T A S V T C S G H K L G D K Y V S W Y Q Q
K P G Q S P V L L I Y Q D N R R P S G I P E R F I G S N S G N T A T L T I
S G T Q A L D E A D Y Y C Q A W D S S T A V F G G G T K L I T V L G A A A G
Q P K A A P S V T L F P P S S E E L Q T A N K A T L V C L I S D F Y P G A V
T V A W K A D S S P V K A G V E T T T P S K Q S N N K Y A A S S Y L S L T
P E Q W K S H R S Y S C Q V T H E G S T V E K T V A P T E C S

SEQ ID NO:96

gaaattgtgc	tgactcagtc	tccaggcacc	ctgtctttgt	ctccagggga	aagagccacc	60
ctctcctgca	gggccagtc	gcgtgttagc	agctacttag	cctggtacca	acagaaacct	120
ggccaggctc	ccaggctcct	catctatgg	gcacccacca	gggcccgtgg	catcccagac	180
aggttcagtg	gcagtgggtc	tgggacagac	ttcactctca	ccatcagcag	actggagcct	240
gaagattctg	cagtgtatta	ctgtcagcag	tatggtagga	caccgctcac	tttcggcgga	300
gggaccaagg	tggagatcaa	acgtgcggcc	gcacccagcg	tggtcatctt	ccccccctcc	360
gacgagcagc	tgaagagcgg	caccgccagc	gtggtgtgcc	tgctgaacaa	cttctacccc	420
cgggaggcca	aggtgcagtg	gaaggtggag	aacgccttgc	agagcggcaa	cagccaggag	480
agcgtgaccg	agcaggacag	caaggactcc	acctacagcc	tgagcagcac	cctcaccctg	540
agcaaggccg	actacgagaa	gcacaagggtg	tacgcctgcg	aggtgacca	ccagggcctg	600
agcagccccg	tgaccaagag	cttcaaccgg	ggcgagtgt			639

SEQ ID NO:97

E I V L T Q S P G T L S L S P G E R A T L S C R A S Q R V S S Y L A W Y Q
Q K P G Q A P R L L I Y G A S T R A A G I P D R F S G S G S G T D F T L T
I S R L E P E D S A V Y Y C Q Q Y G R T P L T F G G G T K V E I K R A A A
P S V F I F P P S D E Q L K S G T A S V V C L L N N F Y P R E A K V Q W K
V D N A L Q S G N S Q E S V T E Q D S K D S T Y S L S S T L T L S K A D Y
E K H K V Y A C E V T H Q G L S S P V T K S F N R G E C

SEQ ID NO:98

tcctatgtgc	tgactcagcc	accctcgggtg	tcagtggccc	caggacagac	ggccaggatt	60
acctgtgggg	gaaacaacat	tggaagtaaa	agtgtgcact	ggtaccagca	gaagccaggc	120
caggccccctg	tgctggctgt	ctatgatgat	agcgaccggc	cctcagggat	ccctgagcga	180
ttctctggct	ccaactctgg	gaacacggcc	accctgacca	tcagcagggt	cgaagccggg	240
gatgaggccg	actattactg	tcagggtgtg	gatagtagta	gtgatcatgc	tgtgttcgga	300
ggaggcacc	agctgaccgt	cctcgggtgc	gccgcaggcc	agcccaaggc	cgtcccagc	360
gtgaccctgt	tccccccctc	ctccgaggag	ctgcaggcca	acaaggccac	cctggtgtgc	420
ctcatcagcg	acttctaccc	tggcgccgtg	accgtggcct	ggaaggccga	cagcagcccc	480
gtgaaggccg	gcgtggagac	caccaccccc	agcaagcaga	gcaacaacaa	gtacgccgcc	540
agcagctacc	tgagcctcac	ccccgagcag	tgggaagagcc	accggagcta	cagctgccag	600
gtgaccacag	agggcagcac	cgtggagaag	accgtggccc	ccaccgagtg	cagc	654

SEQ ID NO:99

S Y V L T Q P P S V S V A P G Q T A R I T C G G N N I G S K S V H W Y Q Q
K P G Q A P V L V V Y D D S D R P S G I P E R F S G S N S G N T A T L T I
S R V E A G D E A D Y Y C Q V W D S S S D H A V F G G G T Q L T V L G A A

A G Q P K A A P S V T L F P P S S E E L Q A N K A T L V C L I S D F Y P G
 A V T V A W K A D S S P V K A G V E T T T P S K Q S N N K Y A A S S Y L S
 L T P E Q W K S H R S Y S C Q V T H E G S T V E K T V A P T E C S

SEQ ID NO:100

tcctatgtgc	tgactcagcc	accctcagcg	tctgggaccc	ccgggcagag	ggtcaccatc	60
tcttggtctg	gaagcagctc	caacatcgga	agtaattatg	tatactggta	ccagcagctc	120
ccaggcacgg	ccccaaact	cctcatctat	agggatggtc	agcggccctc	aggggtccct	180
gaccgattct	ctggctccaa	gtctggcacc	tcagcctccc	tggccatcag	tggactccgg	240
tccgatgatg	aggctgatta	ttactgtgca	acatgggatg	acaacctgag	tggctccagta	300
ttcggcgagg	ggaccaagct	gaccgtccta	gggtgcggccg	caggccagcc	caaggccgct	360
cccagcgtga	ccctgttccc	ccccctctcc	gaggagctgc	aggccaacaa	ggccaccctg	420
gtgtgcctca	tcagcgactt	ctaccctggc	gccgtgaccg	tggcctggaa	ggccgacagc	480
agccccgtga	aggccggcgt	ggagaccacc	acccccagca	agcagagcaa	caacaagtac	540
gccgccagca	gctacctgag	cctcaccccc	gagcagtgga	agagccaccg	gagctacagc	600
tgccaggtga	cccacgaggg	cagcaccgtg	gagaagaccg	tggccccac	cgagtgcagc	660

SEQ ID NO:101

S Y V L T Q P P S A S G T P G Q R V T I S C S G S S S N I G S N Y V Y W Y
 Q Q L P G T A P K L L I Y R D G Q R P S G V P D R F S G S K S G T S A S L
 A I S G L R S D D E A D Y Y C A T W D D N L S G P V F G G G T K L T V L G
 A A A G Q P K A A P S V T L F P P S S E E L Q A N K A T L V C L I S D F Y
 P G A V T V A W K A D S S P V K A G V E T T T P S K Q S N N K Y A A S S Y
 L S L T P E Q W K S H R S Y S C Q V T H E G S T V E K T V A P T E C S

SEQ ID NO:102

gaaattgtgt	tgaccagtc	tccaggcacc	ctgtctttgt	ctccagggga	aagagccacc	60
ctctcctgca	gggccagtc	gagtgttagc	agcagctact	tagcctggta	ccagcagaaa	120
cctggccagg	ctcccaggct	cctcatctat	gggtgcattca	gcagggccac	tggcatccca	180
gacaggttca	gtggcagtg	gtctgggaca	gacttcactc	tcaccatcag	cagactggag	240
cctgaagatt	ttgcagtgt	ttactgtcag	cagtatggta	gctcaccag	aactttcggc	300
ggagggacca	aggtggagat	caaacgtgcg	gccgcaccca	gcgtgttcat	cttccccccc	360
tccgacgagc	agctgaagag	cggcaccgcc	agcgtgggtg	gcctgctgaa	caacttctac	420
ccccgggagg	ccaaggtgca	gtggaaggtg	gacaacgccc	tgcagagcgg	caacagccag	480
gagagcgtga	ccgagcagga	cagcaaggac	tccacctaca	gcctgagcag	caccctcacc	540
ctgagcaagg	ccgactacga	gaagcacaag	gtgtacgcct	gcgaggtgac	ccaccagggc	600
ctgagcagcc	ccgtgaccaa	gagcttcaac	cggggcgagt	gt		642

SEQ ID NO:103

E I V L T Q S P G T L S L S P G E R A T L S C R A S Q S V S S S Y L A W Y
 Q Q K P G Q A P R L L I Y G A S S R A T G I P D R F S G S G S G T D F T L
 T I S R L E P E D F A V Y Y C Q Q Y G S S P R T F G G G T K V E I K R A A
 A P S V F I F P P S D E Q L K S G T A S V V C L L N N F Y P R E A K V Q W
 K V D N A L Q S G N S Q E S V T E Q D S K D S T Y S L S S T L T L S K A D
 Y E K H K V Y A C E V T H Q G L S S P V T K S F N R G E C

SEQ ID NO:104

cagtctgccc	tgactcagcc	tgccctcgtg	tctgggtctc	ctggacagtc	gatcaccatc	60
tcttgcaactg	gaaccagcag	tgacgttggg	gggtataact	atgtctcctg	gtaccaacag	120
caccacaggca	aagcccccaa	actcatgatt	tatgaggtca	gtaatcggcc	ctcagggggt	180
tctaactcgt	tctctggctc	caagtctggc	aacacggcct	ccctgaccat	ctctgggctc	240
caggctgagg	acgaggctga	ttattactgc	agctcatata	caagcagcag	caactcttgc	300
ttcgggaactg	ggaccaaggt	caccgtccta	gggtgcggccg	caggccagcc	caaggccgct	360
cccagcgtga	ccctgttccc	ccccctctcc	gaggagctgc	aggccaacaa	ggccaccctg	420
gtgtgcctca	tcagcgactt	ctaccctggc	gccgtgaccg	tggcctggaa	ggccgacagc	480
agccccgtga	aggccggcgt	ggagaccacc	acccccagca	agcagagcaa	caacaagtac	540
gccgccagca	gotacctgag	cctcaccccc	gagcagtgga	agagccaccg	gagctacagc	600
tgccaggtga	cccacgaggg	cagcaccgtg	gagaagaccg	tggccccac	cgagtgcagc	660

SEQ ID NO:105

Q S A L T Q P A S V S G S P G Q S I T I S C T G T S S D V G G Y N Y V S W
 Y Q Q H P G K A P K L M I Y E V S N R P S G V S N R F S G S K S G N T A S
 L T I S G L Q A E D E A D Y Y C S S Y T S S S T L V F G T G T K V T V L G

A A A G Q P K A A P S V T L F P P S S E E L Q A N K A T L V C L I S D F Y
P G A V T V A W K A D S S P V K A G V E T T T P S K Q S N N K Y A A S S Y
L S L T P E Q W K S H R S Y S C Q V T H E G S T V E K T V A P T E C S

SEQ ID NO:106

cagtctgtcg	tgacgcagcc	gccctcgggtg	tcagtggccc	caggacagac	ggccaggatt	60
acctgtgggg	gaaacaacat	tggaagtaaa	agtgtgcact	ggtaccagca	gaagccaggc	120
caggccccctg	tgctgggtcgt	ctatgatgat	agcgaccggc	cctcagggat	ccctgagcga	180
ttctctggct	ccaactctgg	gaacacggcc	accctgacca	tcagcagggt	cgaagccggg	240
gatgaggccg	actattactg	tcaggtgtgg	gatagtagta	gtgatcatta	tgtcttcgga	300
actgggacca	aggtcaccgt	cctaggtgcg	gccgcaggcc	agcccaaggc	cgctcccagc	360
gtgaccctgt	tccccccctc	ctccgaggag	ctgcaggcca	acaaggccac	cctggtgtgc	420
ctcatcagcg	acttctaccc	tggcgccgtg	accgtggcct	ggaaggccga	cagcagcccc	480
gtgaaggccg	gcgtggagac	caccaccccc	agcaagcaga	gcaacaacaa	gtacgccgcc	540
agcagctacc	tgagcctcac	ccccgagcag	tggaagagcc	accggagcta	cagctgccag	600
gtgaccacag	agggcagcac	cgtggagaag	accgtggccc	ccaccgagtg	cagc	654

SEQ ID NO:107

Q S V V T Q P P S V S V A P G Q T A R I T C G G N N I G S K S V H W Y Q Q
K P G Q A P V L V V Y D D S D R P S G I P E R F S G S N S G N T A T L T I
S R V E A G D E A D Y Y C Q V W D S S S D H Y V F G T G T K V T V L G A A
A G Q P K A A P S V T L F P P S S E E L Q A N K A T L V C L I S D F Y P G
A V T V A W K A D S S P V K A G V E T T T P S K Q S N N K Y A A S S Y L S
L T P E Q W K S H R S Y S C Q V T H E G S T V E K T V A P T E C S

SEQ ID NO:108

actgtgttga	cacagccgcc	ctcagtgtct	ggggccccag	ggcagagggt	caccatctcc	60
tgacttgga	gcagctccaa	catcggggca	ggttatgatg	tacactggta	ccagcagctt	120
ccaggaacag	ccccaaact	cctcatctat	ggtaacagca	atcggccctc	aggggtccct	180
gaccgattct	ctggctccaa	gtctggcagc	tcagccaccc	tgggcatcac	cggactccag	240
actggggacg	aggccgatta	ttactgcgga	acatgggata	gcagcctgag	tgcttatgtc	300
ttcggaactg	ggaccaaggt	caccgtccta	ggtgcggccg	caggccagcc	caaggccgct	360
cccagcgtga	ccctgttccc	ccccctctcc	gaggagctgc	aggccaacaa	ggccaccctg	420
gtgtgcctca	tcagcgactt	ctaccctggc	gccgtgaccg	tggcctggaa	ggccgacagc	480
agccccgtga	aggccggcgt	ggagaccacc	acccccagca	agcagagcaa	caacaagtac	540
gccgccagca	gctacctgag	cctcaccccc	gagcagtggg	agagccaccg	gagctacagc	600
tgccaggtga	cccacgaggg	cagcaccgtg	gagaagaccg	tggccccccac	cgagtgcagc	660

SEQ ID NO:109

T V L T Q P P S V S G A P G Q R V T I S C T G S S S N I G A G Y D V H W Y
Q Q L P G T A P K L L I Y G N S N R P S G V P D R F S G S K S G T S A T L
G I T G L Q T G D E A D Y Y C G T W D S S L S A Y V F G T G T K V T V L G
A A A G Q P K A A P S V T L F P P S S E E L Q A N K A T L V C L I S D F Y
P G A V T V A W K A D S S P V K A G V E T T T P S K Q S N N K Y A A S S Y
L S L T P E Q W K S H R S Y S C Q V T H E G S T V E K T V A P T E C S

SEQ ID NO:110

M E K I V L L F A I V S L V K S D Q I C I G Y H A N N S T E Q V D T I M E
K N V T V T H A Q D I L E K K H N G K L C D L D G V K P L I L R D C S V A
G W L L G N P M C D E F I N V P E W S Y I V E K A N P V N D L C Y P G D F
N D Y E E L K H L L S R I N H F E K I Q I I P K S S W S S H E A S L G V S
S A C P Y Q G K S S F F R N V V W L I K K N S T Y P T I K R S Y N N T N Q
E D L L V L W G I H H P N D A A E Q T K L Y Q N P T T Y I S V G T S T L N
Q R L V P R I A T R S K V N G Q S G R M E F F W T I L K P N D A I N F E S
N G N F I A P E Y A Y K I V K K G D S T I M K S E L E Y G N C N T K C Q T
P M G A I N S S M P F H N I H P L T I G E C P K Y V K S N R L V L A T G L
R N S P Q R E R R R K K R G L F G A I A G F I E G G W Q G M V D G W Y G Y
H H S N E Q G S G Y A A D K E S T Q K A I D G V T N K V N S I I D K M N T
Q F E A V G R E F N N L E R R I E N L N K K M E D G F L D V W T Y N A E L
L V L M E N E R T L D F H D S N V K N L Y D K V R L Q L R D N A K E L G N
G C F E F Y H K C D N E C M E S V R N G T Y D Y P Q Y S E E A R L K R E E
I S G V K L E S I G I Y Q I L S I Y S T V A S S L A L A I M V A G L S L W
M C S N G S L Q C R

SEQ ID NO:111

MEKIVLLFAIVSLVKSDQICIGYHANNNSTEQVDTIM E
 KNVTVTHAQDILEKTHNGKLCDL DGVKPLILRDCSVA
 GWLLGNP MCD EFINVPEWSYIVEKANP VNDLCYPGDF
 NDYEEELKHL LSRINHFEKIQIIPKSSWSSSHEASLGVS
 SACPYQ GKSSFFRN VVWLIKKNSTYPTTIKRSYNNNTNQ
 EDLLVLWGIHHPNDAAEQTKLYQNPTTTYISVGTSTLN
 QRLVPR IATRSKVNGQSGRMEFFFWTILKPNDAINFES
 NGNFIAPEYAYKIVKKGDSTIMKSELEYGNCNTK CQT
 PMGAINSSSMPFHNIHPLTIGEC PKYVKSNRLVLATGL
 RNSPQRE RRRKKRGLFGA IAGFIEGGWQGMVDGWYGY
 HHSNEQGS GYAADKESTQKAIDGVTNKVNSIIDKMNT
 QFEAVGREFNNLERRIENLNKKMEDGFLDVWTYNAEL
 LVL MENERTLDFHDSNVKNLYDKVRLQLRDNAKE LGN
 GCFEFYHKCDNECMESVRNGTYDYPQYSEEARLKREE
 ISGVKLESIGIYQILSIYSTVASSLALAIMVAGLSLW
 MCSNGS LQCR

SEQ ID NO:112

MEKIVLLLAIVSLVKSDQICIGYHANNNSTEQVDTIM E
 KNVTVTHAQDILEKTHNGKLCDL DGVKPLILRDCSVA
 GWLLGNP MCD EFINVPEWSYIVEKANP ANDLCYPGNF
 NDYEEELKHL LSRINHFEKIQIIPKSSWSDHEASSGVVS
 SACPYQ GKSSFFRN VVWLIKKNSTYPTTIKRSYNNNTNQ
 EDLLVLWGIHHPNDAAEQTRL YQNPTTTYISVGTSTLN
 QRLV PKIATRSKVNGQSGRMEFFFWTILKPNDAINFES
 NGNFIAPEYAYKIVKKGD SAIMKSELEYGNCNTK CQT
 PMGAINSSSMPFHNIHPLTIGEC PKYVKSNRLVLATGL
 RNSPQRE RRRKKRGLFGA IAGFIEGGWQGMVDGWYGY
 HHSNEQGS GYAADKESTQKAIDGVTNKVNSIIDKMNT
 QFEAVGREFNNLERRIENLNKKMEDGFLDVWTYNAEL
 LVL MENERTLDFHDSNVKNLYDKVRLQLRDNAKE LGN
 GCFEFYHKCDNECMESVRNGTYDYPQYSEEARLKREE
 ISGVKLESIGIYQILSIYSTVASSLALAIMVAGLSLW
 MCSNGS LQCR

SEQ ID NO:113

MEKIVLLFAIVSLVKSDQICIGYHANNNSTEQVDTIM E
 KNVTVTHAQDILEKTHNGKLCDL DGVKPLILRDCSVA
 GWLLGNP MCD EFINVPEWSYIVEKANP VNDLCYPGDF
 NDYEEELKHL LSRINHFEKIQIIPKSSWSSSHEASLGVS
 SACPYQ GKSSFFRN VVWLIKKNSTYPTTIKRSYNNNTNQ
 EDLLVLWGIHHPNDAAEQTKLYQNPTTTYISVGTSTLN
 QRLVPR IATRSKVNGQSGRMEFFFWTILKPNDAINFES
 NGNFIAPEYAYKIVKKGDSTIMKSELEYGNCNTK CQT
 PMGAINSSSMPFHNIHPLTIGEC PKYVKSNRLVLATGL
 RNSPQRE RRRKKRGLFGA IAGFIEGGWQGMVDGWYGY
 HHSNEQGS GYAADKESTQKAIDGVTNKVNSIIDKMNT
 QFEAVGREFNNLERRIENLNKKMEDGFLDVWTYNAEL
 LVL MENERTLDFHDSNVKNLYDKVRLQLRDNAKE LGN
 GCFEFYHKCDNECMESVRNGTYDYPQYSEEARLKREE
 ISGVKLESIGIYQIQHSGGRSSLEGP RFEQKLISEED
 LNMHTGHHHHHH

SEQ ID NO:114

MEKIVLLLAIVSLVKSDQICIGYHANNNSTEQVDTIM E
 KNVTVTHAQDILEKTHNGKLCDL DGVKPLILRDCSVA
 GWLLGNP MCD EFINVPEWSYIVEKANP ANDLCYPGNF
 NDYEEELKHL LSRINHFEKIQIIPKSSWSDHEASSGVVS
 SACPYQ GKSSFFRN VVWLIKKNSTYPTTIKRSYNNNTNQ
 EDLLVLWGIHHPNDAAEQTRL YQNPTTTYISVGTSTLN
 QRLV PKIATRSKVNGQSGRMEFFFWTILKPNDAINFES

N G N F I A P E Y A Y K I V K K G D S A I M K S E L E Y G N C N T K C Q T
 P M G A I N S S M P F H N I H P L T I G E C P K Y V K S N R L V L A T G L
 R N S P Q R E R R R K K R G L F G A I A G F I E G G W Q G M V D G W Y G Y
 H H S N E Q G S G Y A A D K E S T Q K A I D G V T N K V N S I I D K M N T
 Q F E A V G R E F N N L E R R I E N L N K K M E D G F L D V W T Y N A E L
 L V L M E N E R T L D F H D S N V K N L Y D K V R L Q L R D N A K E L G N
 G C F E F Y H K C D N E C M E S V R N G T Y D Y P Q Y S E E A R L K R E E
 I S G V K L E S I G I Y Q I Q H S G G R S S L E G P R F E Q K L I S E E D
 L N M H T G H H H H H H

SEQ ID NO:115

gaggtgcagc	tggtggagtc	tggggctgag	gtgaagaagc	ctgggtcctc	ggtgaaagtc	60
tcttgcaagg	cttctggagg	ccccttccgc	agctatgcta	tcagctgggt	gcgacaggcc	120
cctggacaag	ggcctgagtg	gatgggaggg	atcatcccta	tttttggtag	aacaaaatac	180
gcaccgaagt	tccagggcag	agtcacgatt	accgcggacg	atttcgcggg	cacagttttac	240
atggagctga	gcagcctgcg	atctgaggac	acggccatgt	actactgtgc	gaaacatatg	300
gggtaccagg	tgcgcgaaac	tatggacgtc	tggggcaaag	ggaccacggt	caccgtctcg	360
agcggtagcg	gcggttcagg	cggaaccggc	agcggcactg	gcgggtcgac	gtcctatgtg	420
ctgactcagc	caccctcagc	gtctggggacc	cccgggcaga	gggtcaccat	ctcttgttct	480
ggaagcacgt	tcaacatcgg	aagtaatgct	gtagactggg	accggcagct	cccaggaacg	540
gcccccaaac	tcctcatcta	tagtaataat	cagcggccct	caggggtccc	tgaccgattc	600
tctggctcca	ggtctggcac	ctcagcctcc	ctggccatca	gtgggtcca	gtctgaggat	660
gaggctgatt	attactgtgc	agcatgggat	gacatcctga	atgttcgggt	attcggcgga	720
gggaccaagc	tgaccgtcct	aggt				744

SEQ ID NO:116

E V Q L V E S G A E V K K P G S S V K V S C K A S G G P F R S Y A I S W V
 R Q A P G Q G P E W M G G I I P I F G T T K Y A P K F Q G R V T I T A D D
 F A G T V Y M E L S S L R S E D T A M Y Y C A K H M G Y Q V R E T M D V W
 G K G T T V T V S S G T G G S G G T G S G T G G S T S Y V L T Q P P S A S
 G T P G Q R V T I S C S G S T F N I G S N A V D W Y R Q L P G T A P K L L
 I Y S N N Q R P S G V P D R F S G S R S G T S A S L A I S G L Q S E D E A
 D Y Y C A A W D D I L N V P V F G G G T K L T V L G

SEQ ID NO:117

caggtccagc	tggtgcagtc	tggggctgag	gtgaagaagc	ctgggtcctc	ggtgaaagtc	60
tcttgcaagg	cttctggagg	ccccttccgc	agctatgcta	tcagctgggt	gcgacaggcc	120
cctggacaag	ggcctgagtg	gatgggaggg	atcatcccta	tttttggtag	aacaaaatac	180
gcaccgaagt	tccagggcag	agtcacgatt	accgcggacg	atttcgcggg	cacagttttac	240
atggagctga	gcagcctgcg	atctgaggac	acggccatgt	actactgtgc	gaaacatatg	300
gggtaccagg	tgcgcgaaac	tatggacgtc	tggggcaaag	ggaccacggt	caccgtctcg	360
agcggtagcg	gcggttcagg	cggaaccggc	agcggcactg	gcgggtcgac	gcagttctgc	420
ctgactcagc	ctgcgcgcgt	gtctgggtct	cctggacagt	cgatcaccat	ctcctgcact	480
ggaaccagca	gtgacgttgg	tggttataac	tatgtctcct	ggtaccaaca	gcacccaggc	540
aaagccccc	aactcatgat	ttatgaggtc	agtaatcggc	cctcaggggt	ttctaatcgc	600
ttctctggct	ccaagtctgg	caacacggcc	tccctgacca	tctctgggct	ccaggctgag	660
gacgaggctg	attattactg	cagctcatat	acaagcagca	gcacttatgt	cttcggaact	720
gggaccaagc	tcaccgtcct	aggt				744

SEQ ID NO:118

Q V Q L V Q S G A E V K K P G S S V K V S C K A S G G P F R S Y A I S W V
 R Q A P G Q G P E W M G G I I P I F G T T K Y A P K F Q G R V T I T A D D
 F A G T V Y M E L S S L R S E D T A M Y Y C A K H M G Y Q V R E T M D V W
 G K G T T V T V S S G T G G S G G T G S G T G G S T Q S A L T Q P A A V S
 G S P G Q S I T I S C T G T S S D V G G Y N Y V S W Y Q Q H P G K A P K L
 M I Y E V S N R P S G V S N R F S G S K S G N T A S L T I S G L Q A E D E
 A D Y Y C S S Y T S S S T Y V F G T G T K V T V L G

SEQ ID NO:119

gaggtgcagc	tggtggagtc	tggggctgag	gtgaagaagc	ctgggtcctc	ggtgaaagtc	60
tcttgcaagg	cttctggagg	ccccttccgc	agctatgcta	tcagctgggt	gcgacaggcc	120
cctggacaag	ggcctgagtg	gatgggaggg	atcatcccta	tttttggtag	aacaaaatac	180
gcaccgaagt	tccagggcag	agtcacgatt	accgcggacg	atttcgcggg	cacagttttac	240

atggagctga	gcagcctgcg	atctgaggac	acggccatgt	actactgtgc	gaaacatatg	300
gggtaccagg	tgcgcgaaac	tatggacgtc	tggggcaaag	ggaccacggt	caccgtctcg	360
agcggtagcg	gcggttcagg	cggaaccggc	agcggcactg	gcggttcgac	gtcctatgtg	420
ctgactcagc	caccctcagt	ctctgggacc	cccgggcaga	gggtcaccat	ctcttgctct	480
ggaagccgct	ccaacgtcgg	agataattct	gtatatgtgt	atcaacacgt	cccagaaatg	540
gcccccaaac	tcctcgtcta	taagaatact	caacggccct	caggagtcct	tgcccggttt	600
tccggctcca	agtctggcac	ttcagcctcc	ctggccatca	ttggcctcca	gtccggcgat	660
gaggctgatt	attattgtgt	ggcatgggat	gacagcgtag	atggctatgt	cttcggatct	720
gggaccaagg	tcaccgtcct	aggt				744

SEQ ID NO:120

E V Q L V E S G A E V K K P G S S V K V S C K A S G G P F R S Y A I S W V
R Q A P G Q G P E W M G G I I P I F G T T K Y A P K F Q G R V T I T A D D
F A G T V Y M E L S S L R S E D T A M Y Y C A K H M G Y Q V R E T M D V W
G K G T T V T V S S G T G G S G G T G S G T G G S T S Y V L T Q P P S V S
G T P G Q R V T I S C S G S R S N V G D N S V Y W Y Q H V P E M A P K L L
V Y K N T Q R P S G V P A R F S G S K S G T S A S L A I I G L Q S G D E A
D Y Y C V A W D D S V D G Y V F G S G T K V T V L G

SEQ ID NO:121

gaggtgcagc	tggtggagtc	tggggctgag	gtgaagaagc	ctgggtcctc	ggtgaaagtc	60
tcttgcaagg	cttctggagg	ccccttcgcg	agctatgcta	tcagctgggt	gcgacaggcc	120
cctggacaag	ggcctgagtg	gatgggaggg	atcatcccta	tttttggtac	aacaaaatac	180
gcaccgaagt	tccagggcag	agtcacgatt	accgcggacg	atttcgcggg	cacagtttac	240
atggagctga	gcagcctgcg	atctgaggac	acggccatgt	actactgtgc	gaaacatatg	300
gggtaccagg	tgcgcgaaac	tatggacgtc	tggggcaaag	ggaccacggt	caccgtctcg	360
agcggtagcg	gcggttcagg	cggaaccggc	agcggcactg	gcggttcgac	gcagtctgtg	420
ttgacgcagc	cgccctcagt	gtctgcggcc	ccaggacaga	aggtcaccat	ctcctgctct	480
ggaagcagct	ccaacattgg	gaatgattat	gtatcctggt	accagcagct	cccaggaaca	540
gcccccaaac	tcctcattta	tgacaataat	aagcgaccct	cagggattcc	tgaccgattc	600
tctggctcca	agtctggcac	gtcagccacc	ctgggcatca	ccggactcca	gactggggac	660
gaggccaact	attactgcgc	aacatgggat	cgccgcccca	ctgcttatgt	tgtcttcggc	720
ggagggacca	agctgaccgt	cctaggt				747

SEQ ID NO:122

E V Q L V E S G A E V K K P G S S V K V S C K A S G G P F R S Y A I S W V
R Q A P G Q G P E W M G G I I P I F G T T K Y A P K F Q G R V T I T A D D
F A G T V Y M E L S S L R S E D T A M Y Y C A K H M G Y Q V R E T M D V W
G K G T T V T V S S G T G G S G G T G S G T G G S T Q S V L T Q P P S V S
A A P G Q K V T I S C S G S S S N I G N D Y V S W Y Q Q L P G T A P K L L
I Y D N N K R P S G I P D R F S G S K S G T S A T L G I T G L Q T G D E A
N Y Y C A T W D R R P T A Y V V F G G G T K L T V L G

SEQ ID NO:123

caggtacagc	tgcagcagtc	aggggctgag	gtgaagaagc	ctgggtcctc	ggtgaaggtc	60
tcctgcaagg	tttcggaggt	cattttcagc	ggcagtgcca	tcagctgggt	gcgacaggcc	120
cctggacaag	gccttgagtg	gatgggaggg	atcagccctc	tctttggcac	aacaaattac	180
gcacaaaagt	tccagggcag	agtcacgatt	accgcggacc	aatccacgaa	cacaacctac	240
atggaggtga	acagcctgag	atatgaggac	acggccgtgt	atttctgtgc	gcgaggtcca	300
aaatattaca	gtgagtacat	ggacgtctgg	ggcaaaggga	ccacggtcac	cgtctcgagc	360
ggtacgggcg	gttcaggcgg	aaccggcagc	ggcactggcg	ggtcgacgga	catccagatg	420
accagtcctc	catcctccct	gtctgcatct	gtaggagaca	gagtcaccat	cacttgccgg	480
gcgagtcagg	gcattagcag	ttatttagcc	tggtatcagc	agaagccagg	gaaagttcct	540
acactcctga	tctatgatgc	atccactttg	cgatcagggg	tcccatctcg	cttcagtggc	600
agtggatctg	cgacagattt	cactctcacc	atcagcagcc	tgcagcctga	agatgttgca	660
acttattact	gtcaaaggta	taacagtgcc	cccccgatca	ccttcggcca	agggacacga	720
ctggagatta	aacgt					735

SEQ ID NO:124

Q V Q L Q Q S G A E V K K P G S S V K V S C K V S G V I F S G S A I S W V
R Q A P G Q G L E W M G G I S P L F G T T N Y A Q K F Q G R V T I T A D Q
S T N T T Y M E V N S L R Y E D T A V Y F C A R G P K Y Y S E Y M D V W G
K G T T V T V S S G T G G S G G T G S G T G G S T D I Q M T Q S P S S L S

A S V G D R V T I T C R A S Q G I S S Y L A W Y Q Q K P G K V P T L L I Y
 D A S T L R S G V P S R F S G S G S A T D F T L T I S S L Q P E D V A T Y
 Y C Q R Y N S A P P I T F G Q G T R L E I K R

SEQ ID NO:125

caggtccagc	tggtacagtc	tggggctgag	gtgaagaagc	ctgggtcctc	ggtgaaggtc	60
tcctgcaagg	cttctggagg	caccttcagt	agttatgcta	tcagctgggt	gcgacaggcc	120
cctggacaag	ggcttgagtg	gatgggagga	atcatgggta	tgtttggcac	aactaactac	180
gcacagaagt	tccagggcag	agtcacgatt	accgcggacg	aattcacgag	cgcagcctac	240
atggagctga	ggagcctgag	atctgaggac	acggcctgtc	actactgtgc	gaggtctagt	300
ggttattacc	ccgaataactt	ccaggactgg	ggccagggca	ccctggtcac	cgtctcgagc	360
ggtacgggcg	gttcaggcgg	aaccggcagc	ggcactggcg	ggtcgacgca	gtctgtgctg	420
actcagccac	cctcagagtc	cgtgtcccca	ggacagacag	ccagcgtcac	gtctgtgga	480
cataaattgg	gggataaata	tgtttcgtgg	tatcagcaga	agccaggcca	gtcccctgta	540
ttactcatct	atcaagataa	caggcggccc	tcagggatcc	ctgagcgatt	cataggctcc	600
aactctggga	acacagccac	tctgaccatc	agcgggaccc	aggctctgga	tgaggctgac	660
tattactgtc	aggcgtggga	cagcagcact	gcggttttcg	gcggaggggac	caagctgacc	720
gtcctaggt						729

SEQ ID NO:126

Q V Q L V Q S G A E V K K P G S S V K V S C K A S G G T F S S Y A I S W V
 R Q A P G Q G L E W M G G I M G M F G T T N Y A Q K F Q G R V T I T A D E
 F T S A A Y M E L R S L R S E D T A V Y Y C A R S S G Y Y P E Y F Q D W G
 Q G T L V T V S S G T G G S G G T G S G T G G S T Q S V L T Q P P S E S V
 S P G Q T A S V T C S G H K L G D K Y V S W Y Q Q K P G Q S P V L L I Y Q
 D N R R P S G I P E R F I G S N S G N T A T L T I S G T Q A L D E A D Y Y
 C Q A W D S S T A V F G G G T K L T V L G

SEQ ID NO:127

caggtccagc	tggtgcagtc	tgggggaggc	ctggtcaagc	ctgggggggtc	cctgagactc	60
tcctgtgcag	cctctggatt	caccttcagt	agctatagca	tgaactgggt	ccgccaggct	120
ccagggaagg	ggctggagtg	ggtctcatcc	attagtagta	gtagtagtta	catatactac	180
gtagactcag	tgaagggccg	attcaccatc	tccagagaca	acgccaagaa	ctcactgtat	240
ctgcaaataga	acagcctgag	agccgaggac	acggctgtgt	attactgtgc	gagaggtggt	300
gggagctacg	gggcctacga	aggetttgac	tactggggcc	agggcaccct	ggtcaccgtc	360
tcgagcggta	cgggcgggttc	aggcggaaac	ggcagcggca	ctggcgggtc	gacggaaatt	420
gtgctgactc	agtctccagg	caccctgtct	ttgtctccag	gggaaagagc	caccctctcc	480
tgcaggggcca	gtcagcgtgt	tagcagctac	ttagcctggt	accaacagaa	acctggccag	540
gctcccaggc	tcctcatcta	tggtgcattc	accagggccg	ctggcatccc	agacagggtc	600
agtggcagtg	ggctctgggac	agacttcact	ctcaccatca	gcagactgga	gcctgaagat	660
tctgcagtg	attactgtca	gcagtatggt	aggacaccgc	tcactttcgg	cggaggggacc	720
aaggtggaga	tcaaactg					738

SEQ ID NO:128

Q V Q L V Q S G G G L V K P G G S L R L S C A A S G F T F S S Y S M N W V
 R Q A P G K G L E W V S S I S S S S S Y I Y Y V D S V K G R F T I S R D N
 A K N S L Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A R G G G S Y G A Y E G F D Y
 W G Q G T L V T V S S G T G G S G G T G S G T G G S T E I V L T Q S P G T
 L S L S P G E R A T L S C R A S Q R V S S Y L A W Y Q Q K P G Q A P R L L
 I Y G A S T R A A G I P D R F S G S G S G T D F T L T I S R L E P E D S A
 V Y Y C Q Q Y G R T P L T F G G G T K V E I K R

SEQ ID NO:129

gaggtgcagc	tggtggagtc	tggggctgag	gtgaagaagc	ctgggtcctc	ggtgaaagtc	60
tcttgcaagg	cttctggagg	ccccttcgcg	agctatgcta	tcagctgggt	gcgacaggcc	120
cctggacaag	ggcctgagtg	gatgggaggg	atcatcccta	tttttggtag	aacaaaatac	180
gcaccgaagt	tccagggcag	agtcacgatt	accgcggacg	atttcgcggg	cacagtttac	240
atggagctga	gcagcctgcg	atctgaggac	acggccatgt	actactgtgc	gaaacatatg	300
gggtaccagg	tgcgcgaaac	tatggacgtc	tggggcaaag	ggaccacggt	caccgtctcg	360
agcggtagcg	gcgggttcagg	cggaaccggc	agcggcactg	gcgggtcgac	gtcctatgtg	420
ctgactcagc	caccctcggt	gtcagtggcc	ccaggacaga	cggccaggat	tacctgtggg	480
ggaaacaaca	ttggaagtaa	aagtgtgcac	tggtaccagc	agaagccagg	ccaggcccct	540
gtgctggtcg	tctatgatga	tagcgaccgg	ccctcaggga	tccttgagcg	attctctggc	600

tccaactctg ggaacacggc caccctgacc atcagcaggg tcgaagccgg ggatgaggcc 660
 gactattact gtcaggtgtg ggatagtagt agtgatcatg ctgtgttcgg aggaggcacc 720
 cagctgaccg tcctcggt 738

SEQ ID NO:130

E V Q L V E S G A E V K K P G S S V K V S C K A S G G P F R S Y A I S W V
 R Q A P G Q G P E W M G G I I P I F G T T K Y A P K F Q G R V T I T A D D
 F A G T V Y M E L S S L R S E D T A M Y Y C A K H M G Y Q V R E T M D V W
 G K G T T V T V S S G T G G S G G T G S G T G G S T S Y V L T Q P P S V S
 V A P G Q T A R I T C G G N N I G S K S V H W Y Q Q K P G Q A P V L V V Y
 D D S D R P S G I P E R F S G S N S G N T A T L T I S R V E A G D E A D Y
 Y C Q V W D S S S D H A V F G G G T Q L T V L G

SEQ ID NO:131

gaggtgcagc tgggtggagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaagtc 60
 tcttgcaagg cttctggagg ccccttcgc agctatgcta tcagctgggt gcgacaggcc 120
 cctggacaag ggcttgagtg gatgggagg atcatcccta tttttggtac aacaaaatac 180
 gcaccgaagt tccagggcag agtcacgatt accgcgagc atttcgcggg cacagtttac 240
 atggagctga gcagcctgcg atctgaggac acggccatgt actactgtgc gaaacatatg 300
 gggtagcagg tgcgcgaaac tatggacgtc tggggcaaag ggaccacggt caccgtctcg 360
 agcggtagcg gcggttcagg cggaaccggc agcggcactg gcgggtcgac gtcctatgtg 420
 ctgactcagc caccctcagc gtctgggacc cccgggcaga gggtcacat ctcttgttct 480
 ggaagcagct ccaacatcgg aagtaattat gtatactgggt accagcagct cccaggcacg 540
 gccccaaac tcctcatcta tagggatgggt cagcggccct caggggtccc tgaccgattc 600
 tctggctcca agtctggcac ctcagcctcc ctggccatca gtggactccg gtccgatgat 660
 gaggtgatt attactgtgc aacatgggat gacaacctga gtggtccagt attcggcgga 720
 gggaccaagc tgaccgtcct aggt 744

SEQ ID NO:132

E V Q L V E S G A E V K K P G S S V K V S C K A S G G P F R S Y A I S W V
 R Q A P G Q G P E W M G G I I P I F G T T K Y A P K F Q G R V T I T A D D
 F A G T V Y M E L S S L R S E D T A M Y Y C A K H M G Y Q V R E T M D V W
 G K G T T V T V S S G T G G S G G T G S G T G G S T S Y V L T Q P P S A S
 G T P G Q R V T I S C S G S S S N I G S N Y V Y W Y Q Q L P G T A P K L L
 I Y R D G Q R P S G V P D R F S G S K S G T S A S L A I S G L R S D D E A
 D Y Y C A T W D D N L S G P V F G G G T K L T V L G

SEQ ID NO:133

gaggtgcagc tgggtggagtc tggggctgag gtgaagaagc cagggtcctc ggtgaaggtc 60
 tcttgtaagg cctctggagg caccttctcc agctatggta tcagctgggt gcgacaggcc 120
 cctggacaag ggcttgagtg gatgggagac atcatcggta tgtttggttc aacaaactac 180
 gcacagaact tccagggcag actcacgatt accgcgagc aatccacgag cacagcctac 240
 atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggcctgtg attactgtgc gagaagtagt 300
 ggttattacc ctgcatacct cccccactgg ggccaggga ccttggtcac cgtctcgagc 360
 ggtacgggcg gttcaggcg aaccggcagc ggcactggcg ggtcgacgga aattgtgttg 420
 acccagtcct caggcacccct gtctttgtct ccaggggaaa gagccaccct ctctgcagg 480
 gccagtcaga gtgttagcag cagctactta gcctggtagc agcagaaaacc tggccaggct 540
 cccaggctcc tcactatagg tgcattcagc agggccactg gcatcccaga caggttcagt 600
 ggcagtggt ctgggacaga cttcactctc accatcagca gactggagcc tgaagatttt 660
 gcagtgtatt actgtcagca gtatggtagc tcaccagaa ctttcggcgg agggaccaag 720
 gtggagatca aacgt 735

SEQ ID NO:134

E V Q L V E S G A E V K K P G S S V K V S C K A S G G T F S S Y G I S W V
 R Q A P G Q G L E W M G D I I G M F G S T N Y A Q N F Q G R L T I T A D E
 S T S T A Y M E L S S L R S E D T A V Y Y C A R S S G Y Y P A Y L P H W G
 Q G T L V T V S S G T G G S G G T G S G T G G S T E I V L T Q S P G T L S
 L S P G E R A T L S C R A S Q S V S S S Y L A W Y Q Q K P G Q A P R L L I
 Y G A S S R A T G I P D R F S G S G S G T D F T L T I S R L E P E D F A V
 Y Y C Q Q Y G S S P R T F G G G T K V E I K R

SEQ ID NO:135

gaggtgcagc tgggtggagtc tggggctgag gtgaagaagc cggggtcctc ggtgaaggtc 60

tccctgcaagg	cttctggagg	caccttcagc	ttctattcta	tgagctgggt	gcgacaggcc	120
cctggacaag	gacttgagt	gatgggagg	atcatcccta	tgtttggtac	aacaaactac	180
gcacagaagt	tccagggcag	agtcacgatt	accgcggtcg	aatccacgag	cacagcctac	240
atggagggtga	gcagcctgag	atctgaggac	acggccgttt	attactgtgc	gagagggtgat	300
aagggtatct	actactacta	catggacgtc	tggggcaaag	ggaccacggt	caccgtctcg	360
agcggtacgg	gcggttcagg	cggaaccggc	agcggcactg	gcggttcgac	gcagtctgcc	420
ctgactcagc	ctgcctccgt	gtctgggtct	cctggacagt	cgatcaccat	ctcctgcact	480
ggaaccagca	gtgacgttgg	tggttataac	tatgtctcct	ggtaccaaca	gcaccaggcc	540
aaagccccc	aactcatgat	ttatgaggtc	agtaatcggc	cctcaggggt	ttctaatacgc	600
ttctctggct	ccaagtctgg	caacacggcc	tccctgacca	tctctgggct	ccagggtgag	660
gacgaggctg	attattactg	cagctcatat	acaagcagca	gcactcttgt	cttcggaact	720
gggaccaagg	tcaccgtcct	aggt				744

SEQ ID NO:136

E V Q L V E S G A E V K K P G S S V K V S C K A S G G T F S F Y S M S W V
R Q A P G Q G L E W M G G I I P M F G T T N Y A Q K F Q G R V T I T A V E
S T S T A Y M E V S S L R S E D T A V Y Y C A R G D K G I Y Y Y Y M D V W
G K G T T V T V S S G T G G S G G T G S G T G G S T Q S A L T Q P A S V S
G S P G Q S I T I S C T G T S S D V G G Y N Y V S W Y Q Q H P G K A P K L
M I Y E V S N R P S G V S N R F S G S K S G N T A S L T I S G L Q A E D E
A D Y Y C S S Y T S S S T L V F G T G T K V T V L G

SEQ ID NO:137

gaggtgcagc	tggtggagtc	tggggctgag	gtgaagaagc	ctgggtcctc	ggtgaaggtc	60
tccctgcaagg	cttctggagg	caccttcagc	agctatgcta	tcagctgggt	gcgacaggcc	120
cctggacaag	ggcttgagt	gatgggagg	atcatcgcta	tgttcggtac	agcaaaactac	180
gcacagaagt	tccagggcag	agtcacgatt	accgcggtcg	aatttacgag	cacagcctac	240
atggagctga	gcagcctgag	atctgaggac	acggccgtgt	attactgtgc	gagaggaaat	300
tattactatg	agagtagtct	cgactactgg	ggccaggga	ccctgggtcac	cgtctcgagc	360
ggtacgggcg	gttcaggcg	aaccggcagc	ggcactggcg	ggtcgacgca	gtctgtcgtg	420
acgcagccgc	cctcggtgtc	agtggcccca	ggacagacgg	ccaggattac	ctgtggggga	480
aacaacattg	gaagtaaaag	tgtgcactgg	taccagcaga	agccaggcca	ggccctctgtg	540
ctggctcgtct	atgatgatag	cgaccggccc	tcagggatcc	ctgagcgatt	ctctggctcc	600
aactctggga	acacggccac	cctgaccatc	agcagggtcg	aagccgggga	tgaggccgac	660
tattactgtc	aggtgtggga	tagtagtagt	gatcattatg	tcttcggaac	tgggaccaag	720
gtcaccgtcc	taggt					735

SEQ ID NO:138

E V Q L V E S G A E V K K P G S S V K V S C K A S G G T F S S Y A I S W V
R Q A P G Q G L E W M G G I I G M F G T A N Y A Q K F Q G R V T I T A D E
F T S T A Y M E L S S L R S E D T A V Y Y C A R G N Y Y Y E S S L D Y W G
Q G T L V T V S S G T G G S G G T G S G T G G S T Q S V V T Q P P S V S V
A P G Q T A R I T C G G N N I G S K S V H W Y Q Q K P G Q A P V L V V Y D
D S D R P S G I P E R F S G S N S G N T A T L T I S R V E A G D E A D Y Y
C Q V W D S S S D H Y V F G T G T K V T V L G

SEQ ID NO:139

caggtgcagc	tggtgcagtc	tggggctgag	gtgaagaagc	ctgggtcctc	ggtgagagtc	60
tccctgcaagg	cttctggaag	catcttcaga	aactatgcta	tgagctgggt	gcgacaggcc	120
cctggacaag	ggcttgagt	gatgggagg	atcatcgcta	tttttgggac	accaaagtac	180
gcacagaagt	tccagggcag	agtcacgatt	accgcggtcg	aatcgacgag	cactgtctac	240
atggaactga	gcggactgag	atctgaggac	acggccatgt	attactgtgc	gaggattccc	300
cactataatt	ttggttcggg	gagttatttc	gactactggg	gccagggaac	cctgggtcac	360
gtctcgagcg	gtacgggcg	ttcaggcgga	accggcagcg	gcactggcg	gtcgacgact	420
gtgttgacac	agccgcctc	agtgtctggg	gccccaggcg	agagggtcac	catctcctgc	480
actgggagca	gctccaacat	cggggcaggt	tatgatgtac	actggtacca	gcagcttcca	540
ggaacagccc	ccaaactcct	catctatggt	aacagcaatc	ggccctcagg	ggtccctgac	600
cgattctctg	gctccaagtc	tggcacgtca	gccaccctgg	gcacaccgg	actccagact	660
ggggacgagg	ccgattatta	ctgcggaaca	tgggatagca	gcctgagtgc	ttatgtcttc	720
ggaactggga	ccaaggtcac	cgtcctaggt				750

SEQ ID NO:140

Q V Q L V Q S G A E V K K P G S S V R V S C K A S G S I F R N Y A M S W V

R Q A P G Q G L E W M G G I I A I F G T P K Y A Q K F Q G R V T I T A D E
 S T S T V Y M E L S G L R S E D T A M Y Y C A R I P H Y N F G S G S Y F D
 Y W G Q G T L V T V S S G T G G S G G T G S G T G G S T T V L T Q P P S V
 S G A P G Q R V T I S C T G S S S N I G A G Y D V H W Y Q Q L P G T A P K
 L L I Y G N S N R P S G V P D R F S G S K S G T S A T L G I T G L Q T G D
 E A D Y Y C G T W D S S L S A Y V F G T G T K V T V L G

SEQ ID NO:141

tcgacggatc	gggagatctc	ccgatcccc	atgggtgcact	ctcagtagaa	tctgctctga	60
tgccgcatag	ttaaagccagt	atctgctccc	tgcttggtgtg	ttggagggtcg	ctgagtagtg	120
cgcgagcaaa	atttaagcta	caacaaggca	aggcttgacc	gacaattgca	tgaagaatct	180
gcttaggggt	aggcggtttg	cgctgcttcg	ctagggtggtc	aatattggcc	attagccata	240
ttattcattg	gttatatagc	ataaatcaat	attggctatt	ggccattgca	tacgttgat	300
ccatatcata	atatgtacat	ttatatggc	tcatgtccaa	cattaccgcc	atgttgacat	360
tgattattga	ctagttatta	atagtaata	attacggggt	cattagttca	tagcccatat	420
atggagttcc	gcgttacata	acttacggta	aatggccgcg	ctggctgacc	gccaacgac	480
ccccgccc	tgacgtcaat	aatgacgtat	gttcccatag	taacgccaat	aggactttc	540
cattgacgtc	aatgggtgga	gtatttacgg	taaactggcc	acttggcagt	acatcaagt	600
tatcatatgc	caagtacgcc	ccctattgac	gtcaatgacg	gtaaatggcc	cgctggcat	660
tatgcccagt	acatgacctt	atgggacttt	cctacttggc	agtacatcta	cgtattagtc	720
atcgctatta	ccatggtgat	gcggttttgg	cagtacatca	atgggctgtg	atagcgtttt	780
gactcacggg	gattttccaag	tctccacccc	attgacgtca	atgggagttt	gttttggcac	840
caaaatcaac	gggactttcc	aaaatgtcgt	aacaactccg	ccccattgac	gcaaattgggc	900
ggtaggcgtg	tacgggtgga	ggtctatata	agcagagctc	gtttagtga	ccgtcagatc	960
gcctggagac	gccatccacg	ctgttttgac	ctccatagaa	gacaccggga	ccgatccagc	1020
ctccgcggcc	gggaacggtg	cattggaagc	tggcctggat	atcctgactc	tcttaggtag	1080
ccttgagaaa	gttggtcgtg	aggcactggg	caggtaagta	tcaagggttac	aagacaggtt	1140
taaggagatc	aatagaaact	gggcttgtcg	agacagagaa	gactcctgcg	tttctgatag	1200
gcacctattg	gtcttactga	catccacttt	gcctttctct	ccacaggtgt	ccactcccag	1260
ttcaattaca	gctcgccacc	atgggatgga	gctgtatcat	cctcttcttg	gtactgctgc	1320
tgccccagcc	ggccagtgc	cttgaccggt	gcaccacttt	tgatgatgtt	caagctccta	1380
attacactca	acatacttca	tctatgaggg	gggtttacta	tctgtatgaa	attttttagat	1440
cggacactct	ttattttaact	caggatttat	ttcttccatt	ttatttcta	gttacagggt	1500
ttcatactat	taatcatacg	tttggcaacc	ctgtcatacc	ttttaaggat	ggtattttatt	1560
ttgctgccac	agagaaatca	aatgttgtcc	gtggttgggt	ttttggttct	accatgaaca	1620
acaagtcaca	gtcgggtgatt	attattaaca	atttactact	tggtgttata	cgagcatgta	1680
actttgaatt	gtgtgacaac	cctttctttg	ctgtttctaa	acccatgggt	acacagacac	1740
atactatgat	attcgataat	gcatttaatt	gcactttcga	gtacatatct	gatgcctttt	1800
cgcttgatgt	ttcagaaaag	tcaggtaatt	ttaaacactt	acgagagttt	gtgtttaaaa	1860
ataaagatgg	gtttctctat	gtttataagg	gctatcaacc	tatagatgta	gttcgtgatc	1920
taccttctgg	ttttaaacact	ttgaaacct	tttttaagtt	gcctccttgg	attaacatta	1980
caaatttttag	agccattctt	acagcctttt	cacctgctca	agacatttgg	ggcacgtcag	2040
ctgcagccta	ttttgttggc	tatttaaagc	caactacatt	tatgctcaag	tatgatgaaa	2100
atggtacaat	cacagatgct	gttgattgtt	ctcaaaatcc	acttgctgaa	ctcaaatgct	2160
ctgttaagag	ctttgagatt	gacaaaggaa	tttaccagac	ctctaatttc	aggggtgttc	2220
cctcaggaga	tggtgtgaga	ttccctaata	ttacaaactt	gtgtcctttt	ggagaggttt	2280
ttaatgctac	tcaattccct	tctgtctatg	catgggagag	aaaaaaaaatt	tctaattgtg	2340
ttgctgatta	ctctgtgctc	tacaactcaa	catttttttc	aacctttaag	tgctatggcg	2400
tttctgccac	taagttgaat	gatccttgc	tctccaatgt	ctatgcagat	tctttttag	2460
tcaaggggaga	tgatgtaaga	caaatagcgc	caggacaaac	tggtgttatt	gctgattata	2520
attataaatt	gccagatgat	ttcatgggtt	gtgtccttgc	ttggaatact	aggaacattg	2580
atgctacttc	aactggtaat	tataattata	aatataggta	tcttagacat	ggcaagctta	2640
ggccctttga	gagagacata	tctaattgtc	ctttctcccc	tgatggcaaa	ccttgcaccc	2700
cacctgctct	taattgttat	tggccattaa	atgattatgg	tttttacacc	actactggca	2760
ttggctacca	accttacaga	gttgtagtac	tttcttttga	acttttaaat	gcaccggcca	2820
cggtttgtgg	acaaaaatta	tccactgacc	ttattaagaa	ccagtgtgtc	aatttttaatt	2880
ttaatggact	cactggtact	ggtgtgttaa	ctccttcttc	aaagagattt	caaccatttc	2940
aacaattttg	ccgtgatgtt	tctgatttca	ctgattccgt	tcgagatcct	aaaacatctg	3000
aaatattaga	catttcacct	tgctcttttg	ggggtgtaag	tgtaattaca	cctggaacaa	3060
atgcttcac	tgaagtgtct	gttctatata	aagatgttaa	ctgcaactgat	gtttctacag	3120
caattcatgc	agatcaactc	acaccagctt	ggcgcatata	ttctactgga	aacaatgtat	3180
tccagactca	ggcaggctgt	cttataggag	ctgagcatgt	cgacacttct	tatgagtgcg	3240
acattcctat	tggagctggc	atttgtgcta	gttaccatac	agtttcttta	ttacgtagta	3300

ctagccaaaa	atctattgtg	gcttatacta	tgtcttttagg	tgctgatagt	tcaattgctt	3360
actctaataa	caccattgct	atacctacta	acttttcaat	tagcattact	acagaagtaa	3420
tgccctgtttc	tatggctaaa	acctccgtag	attgtaatat	gtacatctgc	ggagattcta	3480
ctgaatgtgc	taattttgctt	ctccaatatg	gtagcttttg	cacacaacta	aatcgtgcac	3540
tctcaggtat	tgctgctgaa	caggatcgca	acacacgtga	agtgttcgct	caagtcaaac	3600
aatgtacaa	aaccccaact	ttgaaatatt	ttggtggttt	taatttttca	caaataattac	3660
ctgaccctct	aaagccaact	aagaggtctt	ttattgagga	cttgctcttt	aataaggtga	3720
cactcgctga	tgctggcttc	atgaagcaat	atggcgcaatg	cctaggtgat	attaatgcta	3780
gagatctcat	ttgtgcgcag	aagttcaatg	gacttacagt	gttgccacct	ctgctcactg	3840
atgatatgat	tgctgcctac	actgctgctc	tagttagtgg	tactgccact	gctggatgga	3900
catttggtgc	tggcgctgct	cttcaaatac	cttttgctat	gcaaattggca	tataggttca	3960
atggcattgg	agttacccaa	aatgttctct	atgagaacca	aaaacaaatc	gccaaccaat	4020
ttaacaaggc	gattagtcaa	attcaagaat	cacttacaac	aacatcaact	gcattgggca	4080
agctgcaaga	cgttgttaac	cagaatgctc	aagcattaaa	cacacttggt	aaacaactta	4140
gctctaattt	tggtgcaatt	tcaagtgtgc	taaatgatat	cctttcgcga	cttgataaag	4200
tcgaggcgga	ggtacaaatt	gacaggttaa	ttacaggcag	acttcaaagc	cttcaaacct	4260
atgtaacaca	acaactaatc	agggctgctg	aaatcagggc	ttctgctaata	cttgctgcta	4320
ctaaaatgtc	tgagtgtgtt	cttggaacaat	caaaaagagt	tgacttttgt	ggaaagggct	4380
accaccttat	gtccttccca	caagcagccc	cgcatgggtg	tgtcttcccta	catgtcacgt	4440
atgtgccatc	ccaggagagg	aacttcacca	cagcgccagc	aatttgtcat	gaaggcaaag	4500
catacttccc	tcgtgaaggt	gtttttgtgt	ttaatggcac	ttcttggttt	attacacaga	4560
ggaacttctt	ttctccacaa	ataattacta	cagacaatac	atttgtctca	ggaaattgtg	4620
atgtcgttat	tggtcatcatt	aacaacacag	tttatgatcc	tctgcaacct	gagcttgact	4680
cattcaaaga	agagctggac	aagtacttca	aaaatcatac	atcaccagat	gttgattttg	4740
gcgacatttc	aggcattaac	gcttctgtcg	tcaacattca	aaaagaaatt	gaccgcctca	4800
atgaggctgc	taaaaattta	aatgaatcac	tcattgacct	tcaagaactg	ggaaaatatg	4860
agcaatatat	taaatggcct	ctcgacgaac	aaaaactcat	ctcagaagag	gatctgaatg	4920
ctgtgggcca	ggacacgcag	gaggtcatcg	tggtgccaca	ctccttgccc	tttaaggtgg	4980
tggtgatctc	agccatcctg	gccttggtgg	tgctcaccat	catctccctt	atcatcctca	5040
tcatgctttg	gcagaagaag	ccacgttagg	cggccgctcg	agtgctagca	ccaagggccc	5100
cagcgtgttc	cccctggccc	ccagcagcaa	gagcaccagc	ggcggcacag	ccgccctggg	5160
ctgcctgggtg	aaggactact	tccccgagcc	cgtgaccgtg	agctggaaca	gcggcgccct	5220
gaccagcggc	gtgcacacct	tccccgccgt	gctgcagagc	agcggcctgt	acagcctgag	5280
cagcgtgggtg	accgtgccca	gcagcagcct	gggcacccag	acctacatct	gcaacgtgaa	5340
ccacaagccc	agcaacacca	aggtggacaa	acgcgtggag	cccaagagct	gcgacaagac	5400
ccacacctgc	ccccctgcc	ctgccccga	gctgctgggc	ggacctccg	tgttcctggt	5460
cccccccaag	cccaaggaca	cctcatgat	cagccggacc	cccgaggtga	cctgcgtggt	5520
ggtggacgtg	agccacgagg	accccaggt	gaagttcaac	tggtacgtgg	acggcgtgga	5580
ggtgcacaac	gccaagacca	agccccggga	ggagcagtac	aacagcacct	accgggtggt	5640
gagcgtgctc	accgtgctgc	accaggactg	gctgaacggc	aaggagtaca	agtgcgaagt	5700
gagcaaacac	gcccgtcctg	cccccatcga	gaagaccatc	agcaaggcca	agggccagcc	5760
ccgggagccc	caggtgtaca	ccctgcccc	cagccgggag	gagatgacca	agaaccaggt	5820
gtccctcacc	tgtctggtga	agggcttcta	ccccagcgac	atcgccgtgg	agtgggagag	5880
caacggccag	cccgagaaca	actacaagac	cacccccct	gtgctggaca	gcgacggcag	5940
cttcttctctg	tacagcaagc	tcaccgtgga	caagagccgg	tggcagcagg	gcaacgtggt	6000
cagctgcagc	gtgatgcacg	aggccctgca	caaccactac	accagaaga	gcctgagcct	6060
gagccccggc	aagtataaat	ctagagggcc	cgttttaaac	cgctgatcag	cctcgactgt	6120
gccttctagt	tgccagccat	ctgttggttg	ccccctcccc	gtgccttctt	tgaccctgga	6180
aggtgccact	cccactgtcc	tttctaata	aaatgaggaa	attgcatcgc	attgtctgag	6240
taggtgtcat	tctattctgg	ggggtgggtg	ggggcaggac	agcaaggggg	aggattggga	6300
agacaatagc	aggcatgctg	gggatgcggt	gggtctatg	gcttctgagg	cgaaagaac	6360
cagctggggc	tctagggggt	atccccacgc	gccctgtagc	ggcgcattaa	gcgcggcggg	6420
tgtggtggtt	acgcgcagcg	tgaccgctac	acttgccagc	gccctagcgc	ccgctccttt	6480
cgctttcttc	ccttcctttc	tcgccacgtt	cgccggcttt	ccccgtcaag	ctctaaatcg	6540
ggggctccct	ttagggttcc	gatttagtgc	tttacggcac	ctcgacccca	aaaaacttga	6600
ttagggtgat	ggttcacgta	gtgggccatc	gcctgatag	acggtttttc	gccctttgac	6660
gttgaggtcc	acgttcttta	atagtggact	cttggttccaa	actggaacaa	cactcaaccc	6720
tatctcggtc	tattcttttg	atttataagg	gaattttccg	atttcggcct	attgggttaa	6780
aatgagctg	atttaacaaa	aatttaacgc	gaattaattc	tgtggaatgt	gtgtcagtta	6840
gggtgtggaa	agtccccagg	ctccccagca	ggcagaagta	tgcaaagcat	gcctctcaat	6900
tagtcagcaa	ccaggtgtgg	aaagtcccca	ggctccccag	caggcagaag	tatgcaaagc	6960
atgcatctca	attagtccgc	aaccatagtc	ccgcccctaa	ctccgcccct	cccgccccta	7020
actccgcccc	gttccgcccc	ttctccgccc	catggctgac	taattttttt	tatttatgca	7080

gaggccgagg	ccgcctctgc	ctctgagcta	ttccagaagt	agtgaggagg	cttttttggg	7140
ggcctaggct	tttgcaaaaa	gctcccggga	gcttgatat	ccattttcgg	atctgatcaa	7200
gagacaggat	gaggatcggt	tcgcatgatt	gaacaagatg	gattgcacgc	aggttctccg	7260
gccgcttggg	tggagaggct	attcggtat	gactgggcac	aacagacaat	cggctgctct	7320
gatgccgccc	tgttccggct	gtcagcgag	gggcgcccgg	ttctttttgt	caagaccgac	7380
ctgtccgggtg	ccctgaatga	actgcaggac	gaggcagcgc	ggctatcgtg	gctggccacg	7440
acgggcggtc	cttgccgagc	tgtgctcgac	ggtgtcactg	aagcgggaag	ggactggctg	7500
ctattggggcg	aagtgccggg	gcaggatctc	ctgtcatctc	accttgctcc	tgccgagaaa	7560
gtatccatca	tggctgatgc	aatgcccggg	ctgcatacgc	ttgatccggc	tacctgccc	7620
ttcgaccacc	aagcgaaaca	tcgcatcgag	cgagcacgta	ctcgatgga	agccggtctt	7680
gtcgatcagg	atgatctgga	cgaagagcat	caggggctcg	cgccagccga	actgttcgcc	7740
aggctcaagg	cgcgcagtc	cgacggcgag	gatctcgctg	tgacccatgg	cgatgcctgc	7800
ttgccgaata	tcattgggga	aaatggccgc	ttttctggat	tcacgactg	tggccggctg	7860
ggtgtggcg	accgctatca	ggacatagcg	tttgctaccc	gtgatattgc	tgaagagctt	7920
ggcggcgaa	gggctgaccg	cttctcgtg	ctttacggta	tcgcccgtcc	cgattcgag	7980
cgcctcgct	tctatcgct	tcttgacgag	ttcttctgag	cgggactctg	gggttcgaaa	8040
tgaccgacca	agcgacgccc	aacctgcat	cacgagattt	cgattccacc	gccgccttct	8100
atgaaagggt	gggcttcgga	atcggtttcc	gggacgccc	ctggatgatc	ctccagcgcg	8160
gggatctcat	gctggagttc	ttcgcccacc	ccaacttggt	tattgcagct	tataatggtt	8220
acaaataaag	caatagcatc	acaaatttca	caaataaagc	atttttttca	ctgcattcta	8280
gttgtgtgtt	gtccaaactc	atcaatgtat	cttatcatgt	ctgtataaccg	tcgacctcta	8340
gctagagctt	ggcgtaata	tggatcatagc	tgtttcctgt	gtgaaattgt	tatccgctca	8400
caattccaca	caacatacga	gccggaagca	taaagtgtaa	agcctggggg	gcctaatag	8460
tgagctaact	cacattaatt	gcgttgcgct	cactgcccgc	tttccagtcg	ggaaacctgt	8520
cgtgccagct	gcattaatga	atcggccaac	gcgcggggag	aggcggtttg	cgtattgggc	8580
gctcttccgc	ttctcgcctc	actgactcgc	tgcgctcggt	cgttcggctg	cggcgagcgg	8640
tatcagctca	ctcaaaggcg	gtaatacggg	tatccacaga	atcaggggat	aacgcaggaa	8700
agaacatgtg	agcaaaaggc	cagcaaaagg	ccagggaaccg	taaaaaggcc	tcggtgctgg	8760
cgtttttcca	taggctccgc	ccccctgacg	agcatcaca	aaatcgacgc	tcaagtcaga	8820
ggtggcgaaa	cccagacagga	ctataaagat	accaggcggt	tccccctgga	agctccctcg	8880
tgcgctctcc	tgttccgacc	ctgcgcgtta	ccggatacct	gtccgccttt	ctcccttcgg	8940
gaagcgtggc	gctttctcat	agctcacgct	gtaggtatct	cagttcggtg	taggtcgttc	9000
gctccaagct	gggctgtgtg	cacgaacccc	ccgttcagcc	cgaccgctgc	gccttatccg	9060
gtaactatcg	tcttgagtc	aaccgggtaa	gacacgactt	atcgccactg	gcagcagcca	9120
ctggtaacag	gattagcaga	gcgagggtatg	taggcgggtg	tacagagttc	ttgaagtgtt	9180
ggcctaacta	cggctacact	agaagaacag	tatttggtat	ctgcgctctg	ctgaagccag	9240
ttaccttcgg	aaaaagaggt	ggtagctctt	gatccggcaa	acaaaccacc	gctggtagcg	9300
gtttttttgt	ttgcaagcag	cagattacgc	gcagaaaaaa	aggatctcaa	gaagatcctt	9360
tgatcttttc	tacgggggtc	gacgctcagt	ggaacgaaaa	ctcacgttaa	gggatttttg	9420
tcatgagatt	atcaaaaagg	atcttcacct	agatcctttt	aaattaaaaa	tgaagtttta	9480
aatcaatcta	aagtatatat	gagtaaaact	ggtctgacag	ttaccaatgc	ttaactcagt	9540
aggcacctat	ctcagcgatc	tgtctatttc	gttcatccat	agttgcctga	ctccccgtcg	9600
tgtagataac	tacgatacgg	gagggtttac	catctggccc	cagtgcctga	atgataccgc	9660
gagacccaag	ctcacgggct	ccagatttat	cagcaataaa	ccagccagcc	ggaaggcccg	9720
agcgcagaag	tggctctgca	actttatccg	cctccatcca	gtctattaat	tgttgccggg	9780
aagctagagt	aagtagttcg	ccagtttaata	gtttgcgcaa	cgttggtgcc	attgctacag	9840
gcacgctggg	gtcacgctcg	tcgtttggta	tggcttcatt	cagctccggt	tcccaacgat	9900
caaggcgagt	tacatgatcc	cccatgttgt	gcaaaaaagc	ggttagctcc	ttcggtcctc	9960
cgatcgttgt	cagaagtaag	ttggccgcag	tgttatcact	catggttatg	gcagcactgc	10020
ataattctct	tactgtcatg	ccatccgtaa	gatgcttttc	tgtgactggg	gagtactcaa	10080
ccaagtcatt	ctgagaatag	tgtatgcggc	gaccgagttg	ctcttgcccg	gcgtcaatac	10140
gggataatac	cgcgccacat	agcagaactt	taaaagtgtc	catcattgga	aaacgttctt	10200
cggggcgaaa	actctcaagg	atcttaccgc	tgttgagatc	cagttcgatg	taaccacatc	10260
gtgcacccaa	ctgatcttca	gcacctttta	ctttcaccag	cgtttctggg	tgagcaaaaa	10320
caggaaggca	aaatgcgcga	aaaaagggaa	taagggcgag	acggaaatgt	tgaatactca	10380
tactcttcct	ttttcaatat	tattgaagca	tttatcaggg	ttattgtctc	atgagcggat	10440
acatattttga	atgtattttag	aaaaataaac	aaataggggg	tccgcgcaca	tttccccgaa	10500
aagtgccacc	tgacg					10515

SEQ ID NO:142

tcgacggatc	gggagatctc	ccgatccctt	atggtgcact	ctcagtacaa	tctgctctga	60
tgccgcatag	ttaaagccag	atctgctccc	tgcttggtg	ttggaggctc	ctgagtagtg	120
cgcgagcaaa	atttaagcta	caacaaggca	aggcttgacc	gacaattggt	aattaacatg	180

aagaatctgc	ttaggggttag	gcgttttgcg	ctgcttcgct	aggtgggtcaa	tattggccat	240
tagccatatt	attcattggt	tatatagcat	aaatcaatat	tggctatttg	ccattgcata	300
cgttgatcc	atatcataat	atgtacattt	atattggctc	atgtccaaca	ttaccgccat	360
gttgacattg	attattgaact	agttattaat	agtaatcaat	tacgggggtca	ttagttcata	420
gcccataatat	ggagttccgc	gttacataac	ttacggtaaa	tggcccgcct	ggctgaccgc	480
ccaacgaccc	ccgcccattg	acgtcaataa	tgacgtatgt	tcccatagta	acgccaatag	540
ggactttcca	ttgacgtcaa	tgggtggagt	atttacggta	aactgcccac	ttggcagtac	600
atcaagtgt	tcatatgcc	agtacgccc	ctattgacgt	caatgacggt	aaatggccc	660
cctggcatta	tgccagtag	atgaoccttat	gggactttcc	tacttggcag	tacatctacg	720
tattagtc	cgtattacc	atgggtgatgc	ggttttggca	gtacatcaat	gggcgtggat	780
agcggtttga	ctcacgggga	tttccaagtc	tccaccccat	tgacgtcaat	gggagtttgt	840
tttggcacca	aatcaacgg	gactttccaa	aatgtcgtaa	caactccgcc	ccattgacgc	900
aaatgggcgg	taggcgtgta	cgggtgggagg	tctatataag	cagagctcgt	ttagtgaacc	960
gtcagatcgc	ctggagacgc	catccacgct	gttttgacct	ccatagaaga	caccgggacc	1020
gatccagcct	ccgcggccgg	gaacgggtgca	ttggaatcga	tgactctctt	aggtagcctt	1080
gcagaagttg	gtcgtgaggc	actgggcagg	taagtatcaa	ggttacaaga	cagggtttaag	1140
gagatcaata	gaaactgggc	ttgtcgagac	agagaagact	cttgcgtttc	tgataggcac	1200
ctattggtct	tactgacatc	cactttgect	ttctctccac	aggtgtccac	tcccagttca	1260
attacagctc	gccaccatgc	ggctgcccgc	ccagctgctg	ggccttctca	tgctgtgggt	1320
gcccgcctcg	agatctatcg	atgcatgcc	tggtagcaag	cttgccacca	tgagcagcag	1380
ctcttggtcg	ctgctgagcc	tgggtggccgt	gacagccgcc	cagagcacca	tcgaggagca	1440
ggccaagacc	ttcctggaca	agttcaacca	cgaggccgag	gacctgttct	accagagcag	1500
cctggccagc	tggaaactaca	acaccaacat	caccgaggag	aacgtgcaga	acatgaacaa	1560
cgccggcgac	aagtggagcg	ccttcctgaa	ggagcagagc	acactggccc	agatgtaccc	1620
cctgcaggag	atccagaacc	tgaccgtgaa	gctgcagctg	caggccctgc	agcagaacgg	1680
cagcagcgtg	ctgagcgagg	acaagagcaa	gcggctgaac	accatcctga	acaccatgtc	1740
caccatctac	agcaccggca	aagtgtgcaa	ccccgacaac	ccccaggagt	gcctgtgctg	1800
ggagccccggc	ctgaacgaga	tcatggccaa	cagcctggac	tacaacgagc	ggctgtgggc	1860
ctgggagagc	tggcgagcg	aagtgggcaa	gcagctgcgg	cccctgtacg	aggatgacgt	1920
ggtgctgaag	aacgagatgg	ccagggccaa	ccactacgag	gactacggcg	actactggag	1980
aggcgactac	gaagtgaacg	gcgtggacgg	ctacgactac	agcagaggcc	agctgatcga	2040
ggacgtggag	cacaccttcg	aggagatcaa	gcctctgtac	gagcacctgc	acgcctacgt	2100
gcggggccaag	ctgatgaacg	cctaccccag	ctacatcagc	cccacggct	gcctgcccgc	2160
ccacctgctg	ggcgacatgt	ggggccgggt	ctggaccaac	ctgtacagcc	tgaccgtgcc	2220
cttcggccag	aagcccaaca	tcgacgtgac	cgacgccatg	gtggaccagg	cctgggacgc	2280
ccagcggatc	ttcaaggagg	ccgagaagtt	cttcgtgagc	gtgggcctgc	ccaacatgac	2340
ccagggtctt	tgggagaaca	gcatgctgac	cgaccccggc	aatgtgcaga	aggccgtgtg	2400
ccaccccacc	gcctgggacc	tgggcaaggg	cgacttccgg	atcctgatgt	gcaccaaagt	2460
gaccatggac	gacttcctga	ccgcccacca	cgagatgggc	cacatccagt	acgacatggc	2520
ctacgcgcgc	cagcccttcc	tgtgcggaa	cggcgccaac	gagggcttcc	acgaggccgt	2580
gggcgagatc	atgagcctga	gcgcgcgcac	ccccaaagc	ctgaagagca	tcggcctgct	2640
gagccccgac	ttccaggagg	acaacgagac	cgagatcaac	ttcctgtcta	agcaggccct	2700
gaccatcgtg	ggcacccctg	ccttcaccta	catgctggag	aagtggcggt	ggatgggtgt	2760
taagggcgag	atccccaaag	accagtggat	gaagaagtgg	tgggagatga	agcgggagat	2820
cgtgggcgtg	gtggagcccc	tgccccacga	cgagacctac	tgcgaccccg	ccagcctgtt	2880
ccacgtgagc	aacgactact	ccttcatccg	gtactacacc	cggacccctgt	accagttcca	2940
gttccaggag	gcccctgtgc	aggccgccaa	gcacgagggc	cccctgcaca	agtgcgacat	3000
cagcaacagc	accgaggccg	gacagaaact	gttcaacatg	ctgcggctgg	gcaagagcga	3060
gccctggacc	ctggccctgg	agaatgtggt	gggcgccaa	aacatgaatg	tgcccccctt	3120
gctgaactac	ttcgagcccc	tgttcacctg	gctgaaggac	cagaacaaga	acagcttcgt	3180
gggctggagc	accgactgga	gcccctacgc	cgaccagagc	atcaaagtgc	ggatcagcct	3240
gaagagcgcc	ctgggcgaca	aggcctacga	gtggaacgac	aacgagatgt	acctgttccg	3300
gagcagcgtg	gcctatgcc	tgcggcgagta	cttcctgaaa	gtgaagaacc	agatgatcct	3360
gttcggcgag	gaggacgtga	gagtggccaa	cctgaagccc	cggatcagct	tcaacttctt	3420
cgtgaccgcc	cccaagaacg	tgagcgacat	catcccccg	accgaagtgg	agaaggccat	3480
ccggatgagc	cggagccgga	tcaacgacgc	cttcgggctg	aacgacaact	ccctggagtt	3540
cctgggcate	cagcccaccc	tgggccttcc	caaccagccc	cccgtgagca	ctggctgat	3600
cgtgtttggc	gtggtgatgg	gcgtgatcgt	ggtgggaatc	gtgatcctga	tcttcaccgg	3660
catccgggac	cggagaaga	agaacaaggc	ccggagcggc	gagaaccctt	acgccagcat	3720
cgatatcagc	aagggcgaga	acaaccccgg	cttcacgaac	accgacgacg	tgacagaccag	3780
cttctgataa	tctagaacga	gctcgaattc	gaagcttctg	cagacgcgtc	gacgtcatat	3840
ggatccgata	tcgcccgtgg	ggccgcaccc	agcgtgttca	tcttcccccc	ctccgacgag	3900
cagctgaaga	gcggcaccgc	cagcgtgggtg	tgcctgctga	acaacttcta	cccccgggag	3960

gccaaaggtgc	agtggaaggt	ggacaacgcc	ctgcagagcg	gcaacagcca	ggagagcgtg	4020
accgagcagg	acagcaagga	ctccacctac	agcctgagca	gcacctcac	cctgagcaag	4080
gccgactacg	agaagcacia	ggtgtacgcc	tgcgaggtga	cccaccagg	cctgagcagc	4140
cccgtgacca	agagcttcaa	ccggggcgag	tgtaataaga	cttaagttaa	aaccgctgat	4200
cagcctcgac	tgtgccttct	agttgccagc	catctgttgt	ttgccccctc	cccgtgcctt	4260
ccttgacctt	ggaaggtgcc	actcccactg	tcctttccta	ataaaatgag	gaaattgcat	4320
cgcattgtct	gagtaggtgt	cattctattc	tgggggggtg	ggtggggcag	gacagcaagg	4380
gggaggattg	ggaagacaat	agcaggcatg	ctggggatgc	ggtgggctct	atggcttctg	4440
aggcggaag	aaccagctgg	ggctctaggg	ggtatcccca	cgcgcctgt	agcggcgcat	4500
taagcgcggc	gggtgtggtg	gttacgcgca	gcgtgaccgc	tacacttgcc	agcgccttag	4560
cgcgcgctcc	tttcgctttc	ttcccttcc	ttctcgccac	gttcgcgggc	tttccccgtc	4620
aagctctaaa	tccgggggtc	ccttttaggt	tccgatttag	tgctttacgg	cacctcgacc	4680
ccaaaaaact	tgattagggg	gatgggtcac	gtagtggggc	atcgccctga	tagacgggtt	4740
ttcgcccttt	gacgttggag	tccacgttct	ttaatagtgg	actcttggtc	caaactggaa	4800
caacactcaa	ccctatctcg	gtctattctt	ttgatttata	agggattttg	gccatttcgg	4860
cctatttggt	aaaaaatgag	ctgatttaac	aaaaatttaa	cgcgaattaa	ttctgtggaa	4920
tgtgtgtcag	ttaggtgtg	gaaagtcctc	aggctcccca	gcaggcagaa	gtatgcaaag	4980
catgcatctc	aattagtcag	caaccagggt	tggaaagtcc	ccaggctccc	cagcaggcag	5040
aagtatgcaa	agcatgcata	tcaattagtc	agcaaccata	gtcccgcctc	taactccgcc	5100
catcccgccc	ctaactccgc	ccagttccgc	ccattctccg	ccccatggct	gactaatttt	5160
ttttatttat	gcagaggccg	aggccgcctc	tgctctgag	ctattccaga	agtagtgagg	5220
aggctttttt	ggaggccctag	gcttttgcaa	aaagctcccg	ggagcttgta	tatccatttt	5280
cggatctgat	cagcacgtga	tgaaaaagcc	tgaactcacc	gcgacgtctg	tgcagaagtt	5340
tctgatcgaa	aagttcgaca	gcgtctccga	cctgatgcag	ctctcggagg	gcgaagaatc	5400
tcgtgctttc	agcttcgatg	taggaggggc	tggatatgtc	ctgcgggtaa	atagctgcgc	5460
cgatgggttc	tacaaagatc	gttatgttta	tccgcacttt	gcatcggccg	cgctcccgat	5520
tccggaagtg	cttgacattg	gggaattcag	cgagagcctg	acctattgca	tctcccgcgg	5580
tgcacagggt	gtcacgttgc	aagacctgcc	tgaaccgaa	ctgcccgtg	ttctgcagcc	5640
ggtcgcggag	gccatggatg	cgatcgctgc	ggccgatctt	agccagacga	gcgggttcgg	5700
cccattcgga	ccacaaggaa	tccgtcaata	cactacatgg	cgtgatttca	tatgcgcgat	5760
tgtgatcccc	catgtgtatc	actggcaaac	tgtgatggac	gacaccgtca	gtgcgtccgt	5820
cgcgcaggct	ctcgatgagc	tgatgctttg	ggccgaggac	tgccccgaag	tccggcacct	5880
cgtgcacgcg	gatttcggct	ccaacaatgt	cctgacggac	aatggccgca	taacagcggt	5940
cattgactgg	agcagggcga	tgttcgggga	ttcccaatac	gaggtcgcca	acatcttctt	6000
ctggaggccg	tggttggctt	gtatggagca	gcagacgcgc	tacttcgagc	ggaggcatcc	6060
ggagcttgca	ggatcgccgc	ggctccgggc	gtatatgtct	cgcattgggt	ttgaccaact	6120
ctatcagagc	ttggttgacg	gcaatttcga	tgatgcagct	tgggcgcagg	gtcgatgcga	6180
cgaatcgtc	cgatccggag	ccgggactgt	ccggcgtaga	caaatcgccc	gcagaagcgc	6240
ggccgtctgg	accgatggct	gtgtagaagt	actcgccgat	agtggaaacc	gacgccccag	6300
cactcgctcc	agggcaaaag	aatagcacgt	gctacgagat	ttcgattcca	ccgccgcctt	6360
ctatgaaagg	ttgggcttcg	gaatcgtttt	ccgggacgcc	ggctggatga	tcctccagcg	6420
cggggatctc	atgctggagt	tcttcgcccc	ccccaaactg	tttattgcag	cttataatgg	6480
ttacaaataa	agcaatagca	tcacaaattt	cacaaataaa	gcattttttt	cactgcattc	6540
tagttgtggt	ttgtccaaac	tcatcaatgt	atcttatcat	gtctgtatac	cgtcgacctc	6600
tagctagagc	ttggcgtaat	catggtcata	gctgtttcct	gtgtgaaatt	gttatccgct	6660
cacaattcca	cacaacatac	gagccggaag	cataaagtgt	aaagcctggg	gtgcctaatt	6720
agttagctaa	ctcacattaa	ttgcgttgcg	ctcactgccc	gctttccagt	cgggaaacct	6780
gtcgtgccag	ctgcattaat	gaatcgccca	acgcgcgggg	agaggcggtt	tgcgtattgg	6840
gcgctcttcc	gcttcctcgc	tactgactc	gctgcgctcg	gtcgttcggc	tgcggcgagc	6900
ggtatcagct	cactcaaagg	cggtaataac	gttatccaca	gaatcagggg	ataacgcagg	6960
aaagaacatg	tgagcaaaa	gccagcaaaa	ggccaggaa	cgtaaaaagg	ccgcgttgct	7020
ggcgtttttc	cataggctcc	gccccctga	cgagcatcac	aaaaatcgac	gctcaagtca	7080
gaggtggcga	aaccgcagag	gactataaag	ataccaggcg	tttccccctg	gaagctccct	7140
cgtgcgctct	cctgttccga	ccctgcccgt	taccggatac	ctgtccgcct	ttctcccttc	7200
gggaagcgtg	gcgctttctc	atagctcacg	ctgtaggtat	ctcagttcgg	tgtaggtcgt	7260
tcgctccaag	ctgggctgtg	tgcacgaacc	ccccgttcag	cccgaaccgt	gcgccttata	7320
cggtaactat	cgtcttgagt	ccaaccgggt	aagacacgac	ttatcgccac	tggcagcagc	7380
cactggtaac	aggattagca	gagcgaggta	tgtaggcggt	gctacagagt	tcttgaagtg	7440
gtggcctaac	tacggctaca	ctagaagaac	agtatttggt	atctgcgctc	tgtgaagcc	7500
agttaccttc	ggaaaaagag	ttggtagctc	ttgatccggc	aaacaaaoca	ccgctggtag	7560
cgggtttttt	gtttgcaagc	agcagattac	gcgcagaaaa	aaaggatctc	aagaagatcc	7620
tttgatcttt	tctacggggt	ctgacgctca	gtggaacgaa	aactcacggt	aagggttttt	7680
ggtcatgaga	ttatcaaaaa	ggatcttcac	ctagatcctt	ttaaattaaa	aatgaagttt	7740

taaatcaatc	taaagtatat	atgagtaaac	ttggtctgac	agttaccaat	gcttaatcag	7800
tgaggcacct	atctcagcga	tctgtctatt	tcgttcatcc	atagttgcct	gactccccgt	7860
cgtgtagata	actacgatac	gggaggcctt	accatctggc	cccagtgtcg	caatgatacc	7920
gcgagaccca	cgctcacccg	ctccagatct	atcagcaata	aaccagccag	ccggaagggc	7980
cgagcgcaga	agtggctctg	caactttatc	cgcctccatc	cagtctatta	attggtgccg	8040
ggaagctaga	gtaagtagtt	cgccagttaa	tagtttgccg	aacgttggtg	ccattgctac	8100
aggcatcgtg	gtgtcacgct	cgctgtttgg	tatggcttca	ttcagctccg	gttcccaacg	8160
atcaaggcga	gttacatgat	ccccatggt	gtgcaaaaaa	gcggttagct	ccttcggtcc	8220
tccgatcgtt	gtcagaagta	agttggccgc	agtgttatca	ctcatgggta	tggcagcact	8280
gcataattct	cttactgtca	tgccatccgt	aagatgcttt	tctgtgactg	gtgagtactc	8340
aaccaagtca	ttctgagaat	agtgtatgcg	gcgaccgagt	tgctcttgcc	cggcgtcaat	8400
acgggataat	accgcgccac	atagcagaac	tttaaaagtg	ctcatcattg	gaaaacgttc	8460
ttcggggcga	aaactctcaa	ggatcttacc	gctgttgaga	tccagttcga	tgtaaccac	8520
tcgtgcaccc	aactgatctt	cagcatcttt	tactttcacc	agcgtttctg	ggtgagcaaa	8580
aacaggaagg	caaaatgccg	caaaaaagg	aataagggcg	acacggaaat	gttgaatact	8640
catactcttc	ctttttcaat	attattgaag	catttatcag	ggttattgtc	tcagtagcgg	8700
atacatatct	gaatgtatct	agaaaaataa	acaaatagg	gttccgcgca	catttccccg	8760
aaaagtgcc	cctgacg					8777

SEQ ID NO:143

tcgacggatc	gggagatctc	ccgatcccc	atggtgcact	ctcagtacaa	tctgctctga	60
tgccgcatag	tttaagccagt	atctgctccc	tgcttgtgtg	ttggagggtcg	ctgagtagtg	120
cgcgagcaaa	attttaagcta	caacaaggca	aggcttgacc	gacaattggt	aattaacatg	180
agaatctgc	ttagggttag	gcgttttgcg	ctgcttcgct	agggtggtaa	tattggccat	240
tagccatatt	attcattggt	tatatagcat	aaatcaatat	tggtatttgg	ccattgcata	300
cgttgtatcc	atatcataat	atgtacattt	atattggctc	atgtccaaca	ttaccgccat	360
gttgacattg	attattgact	agttattaat	agtaatcaat	tacgggggtca	ttagttcata	420
gcccataat	ggagttccgc	gttacataac	ttacggtaaa	tgcccgccct	ggctgaccgc	480
ccaacgaccc	ccgcccattg	acgtcaataa	tgacgtatgt	tcccatagta	acgccaatag	540
ggactttcca	ttgacgtcaa	tggttgaggt	atttacggta	aactgcccac	ttggcagtag	600
atcaagtgt	tcatatgcca	agtacgccc	ctattgacgt	caatgacggt	aaatggccc	660
cctggcatta	tgcccagtag	atgaccttat	gggactttcc	tacttggcag	tacatctacg	720
tattagtcac	cgctattacc	atggtgatgc	ggttttggca	gtacatcaat	gggcgtggat	780
agcggtttga	ctcacgggga	tttccaagtc	tccaccccat	tgacgtcaat	gggagtttgt	840
tttggcacca	aaatcaacgg	gactttccaa	aatgtcgtaa	caactccgcc	ccattgacgc	900
aaatgggcgg	taggcgtgta	cggtgggagg	tctatataag	cagagctcgt	ttagtgaacc	960
gtcagatcgc	ctggagacgc	catccacgct	gttttgacct	ccatagaaga	caccgggacc	1020
gatccagcct	ccgcggccgg	gaacgggtgca	ttggaatcga	tgactctctt	aggtagcctt	1080
gcagaagtgt	gtcgtgaggg	actgggcagg	taagtatcaa	ggttacaaga	caggtttaag	1140
gagatcaata	gaaactgggc	ttgtcgagac	agagaagact	cttgcgtttc	tgataggcac	1200
ctatttggct	tactgacatc	cactttgcct	ttctctccac	agggtgtccac	tcccagttca	1260
attacagctc	gccaccatgc	ggtttctccgc	tcagctgctg	ggccttctgg	tgctgtggat	1320
tcccggcgtc	tcgagatcta	tcgatgcacg	ccatggtacc	aagcttgcca	ccatgagcag	1380
cagctcttgg	ctgctgctga	gcctggtggc	cgtgacagcc	gcccagagca	ccatcgagga	1440
gcaggccaag	accttcctgg	acaagttcaa	ccacgaggcc	gaggacctgt	tctaccagag	1500
cagcctggcc	agctggaact	acaacaccaa	catcaccgag	gagaacgtgc	agaacatgaa	1560
caacgcgggc	gacaagtgg	gcgccttcc	gaaggagcag	agcacactgg	cccagatgta	1620
ccccctgcag	gagatccaga	acctgaccgt	gaagctgcag	ctgcaggccc	tgcagcagaa	1680
cggcagcagc	gtgctgagcg	aggacaagag	caagcggctg	aacaccatcc	tgaacaccat	1740
gtccaccatc	tacagcaccg	gcaaagtgtg	caaccccgac	aacccccagg	agtgcctgct	1800
gctggagccc	ggcctgaacg	agatcatggc	caacagcctg	gactacaacg	agcggctgtg	1860
ggcctgggag	agctggcgga	gcgaagtggg	caagcagctg	cggcccctgt	acgaggagta	1920
cgtggtgctg	aagaacgaga	tgccaggggc	caaccactac	gaggactacg	gcgactactg	1980
gagaggcgac	tacgaagtga	acggcgtgga	cggctacgac	tacagcagag	gccagctgat	2040
cgaggacgtg	gagcacacct	tcgaggagat	caagcctctg	tacagcacc	tgcacgccta	2100
cgtgcgggcc	aagctgatga	acgcctaccc	cagctacatc	agccccatcg	gctgcctgcc	2160
cgcccacctg	ctgggcgaca	tgtggggccg	gttctggacc	aacctgtaca	gcctgaccgt	2220
gcccttcggc	cagaagccca	acatcgacgt	gaccgacgcc	atggtggacc	aggcctggga	2280
cgcccagcgg	atcttcaagg	aggccgagaa	gttcttcgtg	agcgtggggc	tgcccaacat	2340
gacccagggc	ttttgggaga	acagcatgct	gaccgacccc	ggcaatgtgc	agaaggccgt	2400
gtgccacccc	accgcctggg	acctgggcaa	gggcgacttc	cggatcctga	tgtgcaccaa	2460
agtgaccatg	gacgacttcc	tgaccgcccc	ccacgagatg	ggccacatcc	agtacgacat	2520
ggcctacgcc	gccagccct	tctgtctgcg	gaacggcgcc	aacgagggct	ttcacgaggc	2580

cgtgggcgag	atcatgagcc	tgagcgccgc	cacccccaa	cacctgaaga	gcacggcct	2640
gctgagcccc	gacttccagg	aggacaacga	gaccgagatc	aacttcctgc	tgaagcaggg	2700
cctgaccatc	gtgggcaccc	tgcccttcac	ctacatgctg	gagaagtggc	gggtggatggt	2760
gtttaagggc	gagatcccca	aggaccagt	gatgaagaag	tgggtggaga	tgaagcggga	2820
gatcgtgggc	gtggtggagc	ccgtgcccc	cgacgagacc	tactgcgacc	ccgccagcct	2880
gttccacgtg	agcaacgact	actccttcac	ccggtactac	acccggaccc	tgtaccagtt	2940
ccagttccag	gaggccctgt	gccaggccgc	caagcacgag	ggccccctgc	acaagtgcga	3000
catcagcaac	agcaccgagg	ccggacagaa	actgttcaac	atgctgcggc	tgggcaagag	3060
cgagccctgg	accctggccc	tggagaatgt	ggtgggcgcc	aagaacatga	atgtgcgccc	3120
cctgctgaac	tacttcgagc	ccctgttcac	ctggctgaag	gaccagaaca	agaacagctt	3180
cgtgggctgg	agcaccgact	ggagccccta	cgccgaccag	agcatcaaag	tgcggatcag	3240
cctgaagagc	gccctgggcg	acaaggccta	cgagtggaa	gacaacgaga	tgtacctgtt	3300
ccggagcagc	gtggcctatg	ccatgcggca	gtacttcctg	aaagtgaaga	accagatgat	3360
cctgttcggc	gaggaggacg	tgagagtggc	caacctgaag	ccccggatca	gcttcaactt	3420
cttcgtgacc	gcccccaaga	acgtgagcga	catcatcccc	cggaccgaag	tggagaaggc	3480
catccggatg	agccggagcc	ggatcaacga	cgccttcggg	ctgaacgaca	actccctgga	3540
gttcctgggc	atccagccca	ccctgggccc	tcccaaccag	ccccccgtga	gcacctggct	3600
gatcgtgttt	ggcgtggtga	tgggctgtat	cgtggtggga	atcgtgatcc	tgatcttcac	3660
cgccatccgg	gaccggaaga	agaagaacaa	ggcccgagc	ggcgagaacc	cctacgccag	3720
catcgatatc	agcaaggggc	agaacaaccc	cggcttcacg	aacaccgacg	acgtgcagac	3780
cagcttctga	taatctagaa	cgagctcgaa	tccgaagctt	ctgcagacgc	gtcgacgtca	3840
tatggatccg	atatcgccgt	ggcgcccgca	ggccagccca	aggccgctcc	cagcgtgacc	3900
ctgttccccc	cctcctccga	ggagctgcag	gccaacaagg	ccaccctggt	gtgcctcatc	3960
agcgacttct	accctggcgc	cgtgaccgtg	gcctggaagg	ccgacagcag	ccccgtgaag	4020
gccggcgtgg	agaccaccac	ccccagcaag	cagagcaaca	acaagtacgc	cgccagcagc	4080
tacctgagcc	tcacccccga	gcagtggaa	agccaccgga	gctacagctg	ccaggtgacc	4140
cacgagggga	gcaccgtgga	gaagaccgtg	gccccaccgg	agtgcagcta	atagacttaa	4200
gtttaaaccg	ctgatcagcc	tcgactgtgc	cttctagttt	ccagccatct	gttgtttgcc	4260
cctcccccg	gccttccttg	accctggaag	gtgccactcc	cactgtcctt	tcctaataaa	4320
atgaggaaat	tgcatcgcat	tgtctgagta	gtgtgtcatc	tattctgggg	gggtgggtgg	4380
ggcaggacag	caagggggag	gattgggaag	acaatagcag	gcacgtggg	gatgcgggtg	4440
gctctatggc	ttctgaggcg	gaaagaacca	gctggggctc	taggggggat	ccccacgcgc	4500
cctgtagcgg	cgcattaagc	gcggcggggtg	tgggtggttac	gcgcagcgtg	accgctacac	4560
ttgccagcgc	cctagcgccc	gctcctttcg	ctttcttccc	ttcctttctc	gccacgttcg	4620
ccggctttcc	ccgtcaagct	ctaaatcggg	ggctcccttt	agggttccga	tttagtgctt	4680
tacggcacct	cgacccccaa	aaacttgatt	aggggtgatg	ttcacgtagt	gggccatcgc	4740
cctgatagac	ggttttttgc	ccttttgacgt	tggagtccac	gttctttaat	agtggactct	4800
tgttccaaac	tggaaacaaca	ctcaacccta	tctcgggtcta	ttcttttgat	ttataaggga	4860
ttttggccat	ttcggcctat	tgggttaaaaa	atgagctgat	tttaacaaaa	tttaacgcga	4920
attaattctg	tggaatgtgt	gtcagttagg	gtgtggaaag	tccccaggct	ccccagcagg	4980
cagaagtatg	caaagcatgc	atctcaatta	gtcagcaaac	aggtgtggaa	agtccccagg	5040
ctccccagca	ggcagaagta	tgcaaaagcat	gcactcaact	tagtcagcaa	ccatagtccc	5100
gccccaaact	ccgcccatac	cgccccaaac	tcggccagct	tcggccattt	ctccgcccga	5160
tggctgacta	atttttttta	tttatgcaga	ggccgaggcc	gcctctgcct	ctgagctatt	5220
ccagaagtag	tgaggaggct	tttttgagg	cctaggcttt	tgcataaagc	tcccgggagc	5280
ttgtatatcc	attttcggtg	ctgatcagca	cgtgatgaaa	aagcctgaac	tcaccgcgac	5340
gtctgtcgag	aagtttctga	tcgaaaagtt	cgacagcgtc	tcgacctga	tgcagctctc	5400
ggagggcgaa	gaatctcgtg	ctttcagctt	cgatgtagga	ggcggtggat	atgtcctgcg	5460
ggtaaatagc	tgcgcgatg	gtttctacaa	agatcgttat	gtttatcggc	actttgcac	5520
ggccgcgctc	ccgattccgg	aagtgtctga	cattggggaa	ttcagcgaga	gcctgaccta	5580
ttgcatctcc	cgccgtgcac	agggtgtcac	gttgcaagac	ctgcctgaaa	ccgaactgcc	5640
cgctgttctg	cagccggctg	cggaggccat	ggatgcgatc	gctgcggccg	atcttagcca	5700
gacgagcggg	ttcggcccat	tcggaccgca	aggaatcggg	caatacacta	catggcgtga	5760
tttcatatgc	gcgattgctg	atccccatgt	gtatcaactg	caaactgtga	tggacgacac	5820
cgtcagtgcg	tccgtcgcg	aggctctcga	tgagctgatg	ctttgggccc	aggactgccc	5880
cgaagtcagg	cacctcgtgc	acgcggattt	cggctccaac	aatgtcctga	cggacaattg	5940
ccgcataaca	cgggtcattg	actggagoga	ggcgatgttc	ggggattccc	aatacgagg	6000
cgccaacatc	ttctcttgga	ggcgtgggt	gtctgtgatg	gagcagcaga	cgcgctactt	6060
cgagcggagg	catccggagc	ttgcaggatc	gccgcggctc	cgggcgtata	tgtccgcat	6120
tggctcttgac	caactctatc	agagcttggg	tgacggcaat	ttcgatgatg	cagcttgggc	6180
gcagggctga	tgcgacgcaa	tcgtccgatc	cggagccggg	actgtcgggc	gtacacaaat	6240
cgcccgacga	agcgcggccg	tctggaccga	tggctgtgta	gaagtactcg	ccgatagtgg	6300
aaaccgacgc	cccagcactc	gtccgagggc	aaaggaatag	cacgtgctac	gagatttcga	6360

ttccaccgcc	gccttctatg	aaagggttggg	cttcggaatc	gttttccggg	acgccggctg	6420
gatgatcctc	cagcgcgggg	atctcatgct	ggagttcttc	gccaccccca	acttgtttat	6480
tgcagcttat	aatggtttaca	aataaagcaa	tagcatcaca	aatttcacaa	ataaagcatt	6540
tttttcaactg	cattctagtt	gtggtttgtc	caaactcatc	aatgtatctt	atcatgtctg	6600
tataccgtcg	acctctagct	agagcttggc	gtaatcatgg	tcatagctgt	ttcctgtgtg	6660
aaattgttat	ccgctcacaa	ttccacacaa	catacgagcc	ggaagcataa	agtgtaaagc	6720
ctgggggtgcc	taatgagtga	gctaactcac	attaattgctg	ttgcgctcac	tgcccgcctt	6780
ccagtcggga	aacctgtcgt	gccagctgca	ttaatgaatc	ggccaacgcg	cggggagagg	6840
cggtttgctg	attgggcgct	cttcgcgttc	ctcgctcact	gactcgctgc	gctcggtcgt	6900
tcggctgcgg	cgagcggtat	cagctcactc	aaaggcggtg	atacggttat	ccacagaatc	6960
aggggataac	gcaggaaaga	acatgtgagc	aaaaggccag	caaaaggcca	ggaaccgtaa	7020
aaaggccgcg	ttgctggcgt	ttttccatag	gctccgcccc	cctgacgagc	atcacaaaaa	7080
tcgacgtca	agtacagagg	ggcgaaaccc	gacaggacta	taaagatacc	aggcgtttcc	7140
ccctggaagc	tcctctgtgc	gctctcctgt	tccgacctgc	cgccttaccg	gatacctgtc	7200
cgcctttctc	ccttcgggaa	gcgtggcgct	ttctcatagc	tcacgctgta	ggatatctcag	7260
ttcggtgtag	gtcggttcgt	ccaagctggg	ctgtgtgcac	gaaccccccg	ttcagcccga	7320
ccgctgcgcc	ttatccggtg	actatcgtct	tgagtccaac	ccggttaagac	acgacttatc	7380
gccactggca	gcagccactg	gtaacaggat	tagcagagcg	aggtatgtag	gcggtgtctac	7440
agagttcttg	aagtgggtggc	ctaactacgg	ctacactaga	agaacagtat	ttggtatctg	7500
cgtctgtctg	aagccagtta	ccttcggaaa	aagagttggt	agctcttgat	ccggcaaaca	7560
aaccaccgct	ggtagcgggt	tttttgtttg	caagcagcag	attacgcgca	gaaaaaaagg	7620
atctcaagaa	gatcctttga	tcttttctac	ggggtctgac	gctcagtggg	acgaaaactc	7680
acgttaaggg	attttgggtca	tgagattatc	aaaaaggatc	ttcacctaga	tcctttttaa	7740
ttaaaaatga	agttttaaat	caatctaaag	tatatatgag	taaacttggt	ctgacagtta	7800
ccaatgctta	atcagtggag	cacctatctc	agcgatctgt	ctatttcggt	catccatagt	7860
tgccctgactc	cccgtcgtgt	agataactac	gatacgggag	ggcttaccat	ctggccccag	7920
tgctgcaatg	ataccgcgag	acccacgctc	accggctcca	gatttatcag	caataaacca	7980
gccagccgga	agggccgagc	gcagaagtgg	tccgtgaact	ttatccgcct	ccatccagtc	8040
tattaattgt	tgccgggaag	ctagagtaag	tagttcgcca	gttaatagtt	tgcgcaacgt	8100
tgttgccatt	gctacaggca	tcgtgggtgtc	acgctcgctg	tttggtatgg	cttcattcag	8160
ctccggttcc	caacgatcaa	ggcgagttac	atgatcccc	atgttgtgca	aaaaagcggt	8220
tagctccttc	ggtcctccga	tcgttgtcag	aagtaagttg	gccgcagttg	tatcactcat	8280
ggttatggca	gcaactgcata	attctcttac	tgtcatgcca	tccgtaagat	gcttttctgt	8340
gactgggtgag	tactcaacca	agtcattctg	agaatagttg	atgcggcgac	cgagttgctc	8400
ttgcccggcg	tcaatacggg	ataataccgc	gccacatagc	agaactttaa	aagtgtcat	8460
catttgaaaa	cgttcttcgg	ggcgaaaact	ctcaaggatc	ttaccgctgt	tgagatccag	8520
ttcgatgtaa	cccactcgtg	cacccaactg	atcttcagca	tcttttactt	tcaccagcgt	8580
ttctgggtga	gcaaaaaacag	gaaggcaaaa	tgcgcgaaaa	aagggaataa	gggcgacacg	8640
gaaatgttga	atactcatac	tcttcctttt	tcaatattat	tgaagcattt	atcagggtta	8700
ttgtctcatg	agcggataca	tatttgaatg	tatttagaaa	aataaaciaa	taggggttcc	8760
gcgcacattt	ccccgaaaag	tgccacctga	cg			8792

SEQ ID NO:212

gaggtccagc	tggtgcagtc	tggggctgag	gtgaagaagc	ctggggcctc	agtgaaggtc	60
tccctgaagg	cttctgggta	caccttcacc	ggctactatg	tgtactgggt	gcgacaggcc	120
cctggacaag	ggcttgagtg	gatgggatgg	atcagcgctt	acaatggtaa	cacaaactat	180
gcacagaagt	tccagggcag	agtcacgatt	accgcggaca	aatccacgag	cacagcctac	240
atggagctga	gcagcctgag	atctgaagac	acggctgtgt	attactgtgc	gagaagtaga	300
tccctggacg	tctggggcca	agggaccacg	gtcaccgtct	cgagcggtac	gggcggttca	360
ggcggaaccg	gcagcggcac	tggcggtgctg	acggatgttg	tgatgactca	gtctccagac	420
tccctggctg	tgtctctggg	cgagagggcc	accatcaact	gcaagtccag	ccagagtgtt	480
ttatacagct	ccaacaataa	gaactactta	gcttggtacc	agcagaaacc	aggacagcct	540
cctaagctgc	tcatttactg	ggcatctacc	cgggaatccg	gggtccctga	ccgattcagt	600
ggcagcgggt	ctgggacaga	tttcaactctc	accatcagca	gcctgcaggc	tgaagatgtg	660
gcagtttatt	actgtcagca	atattatagt	actcctctca	ctttcggcgg	agggacccaa	720
gtggatatca	aacgt					735

SEQ ID NO:213

E	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	P	G	A	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	G	Y	Y	V	Y	W	V
R	Q	A	P	G	Q	G	L	E	W	M	G	W	I	S	A	Y	N	G	N	T	N	Y	A	Q	K	F	Q	G	R	V	T	I	T	A	D	K
S	T	S	T	A	Y	M	E	L	S	S	L	R	S	E	D	T	A	V	Y	Y	C	A	R	S	R	S	L	D	V	W	G	Q	G	T	T	V
T	V	S	S	G	T	G	G	S	G	G	T	G	S	G	T	G	G	S	T	D	V	V	M	T	Q	S	P	D	S	L	A	V	S	L	G	E

R A T I N C K S S Q S V L Y S S N N K N Y L A W Y Q Q K P G Q P P K L L I
 Y W A S T R E S G V P D R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q A E D V A V
 Y Y C Q Q Y Y S T P L T F G G G T K V D I K R

SEQ ID NO:214

cagatgcagc	tggtgcagtc	tggggctgag	gtgaagaagc	ctgggtcctc	ggtgaaggctc	60
tcctgcaagg	cttctggagg	caccttctcc	agttatgcta	tcacctgggt	gcgacaggcc	120
cctggacaag	ggcttgagtg	gatgggaggg	atcatcggtg	tgtttggttc	aacaaactac	180
gcacagaact	tccagggcag	agtcacgatt	accgcggacg	aatccacgag	cacagcctac	240
atggagctga	gcagcctcag	atctgaggac	acggccgtgt	attactgtgc	gagaagtact	300
ggttattacc	ctgcatacct	ccaccactgg	ggccagggca	ccctggtcac	cgtctcgagc	360
ggtacgggcg	gttcaggcg	aaccggcagc	ggcactggcg	ggtcgacgca	gtctgccctg	420
actcagcctc	gctcagtgct	cgggtctcct	ggacagtcag	tcaccatctc	ctgcactgga	480
accagcagtg	atggttggtg	ttataactat	gtctcctggg	accaacagca	cccaggcaaa	540
gccccaaac	tcagtattta	tgatgtcagt	aagcggccct	caggggtccc	tgatcgcttc	600
tctggctcca	agtcctggca	cacggcctcc	ctgaccatct	ctgggctcca	ggctgaggat	660
gaggctgatt	attactgcag	ctcatataca	agcagcagca	ctcatgtctt	cgggaactggg	720
accaaggtca	cgtctctagg	t				741

SEQ ID NO:215

Q M Q L V Q S G A E V K K P G S S V K V S C K A S G G T F S S Y A I T W V
 R Q A P G Q G L E W M G G I I G M F G S T N Y A Q N F Q G R V T I T A D E
 S T S T A Y M E L S S L R S E D T A V Y Y C A R S T G Y Y P A Y L H H W G
 Q G T L V T V S S G T G G S G G T G S G T G G S T Q S A L T Q P R S V S G
 S P G Q S V T I S C T G T S S D V G G Y N Y V S W Y Q Q H P G K A P K L M
 I Y D V S K R P S G V P D R F S G S K S G N T A S L T I S G L Q A E D E A
 D Y Y C S S Y T S S S T H V F G T G T K V T V L G

SEQ ID NO:216

gaggtgcagc	tggtggagac	cggggctgag	gtgaagaagc	ctggggcctc	agtgaagggtt	60
tcctgcaagg	catctggata	caccttcacc	agctactata	tgcactgggt	gcgacaggcc	120
cctggacaag	ggcttgagtg	gatgggatgg	atcaacccta	acagtgggtg	cacaaactat	180
gcacagaagt	ttcagggcag	ggtcaccatg	accagggaca	cgtccatcag	cacagcctac	240
atggagctga	gcaggctgag	atctgacgac	acggccgtgt	attactgtgc	gagagagggg	300
aaatggggac	ctcaagcggc	ttttgatatc	tggggccaag	ggacaatggt	caccgtctcg	360
agcggtagcg	gcggttcagg	cggaaccggc	agcggcactg	gcgggtcgac	ggaaattgtg	420
atgacgcagt	ctccaggcac	cctgtctttg	tctccagggg	aaagagccac	cctctcctgc	480
agggccagtc	agagtgttag	cagcagctac	ttagcctggg	accagcagaa	acctggccag	540
gctcccaggc	tcctcatcta	tgatgcatcc	agcagggcca	ctgacatccc	agacagggtc	600
agtggcagtg	ggtctgggac	agacttcact	ctcaccatca	gcagactgga	gcctgaagat	660
tttgacgtgt	attactgtca	gcagtatggt	agctcacttt	ggacgttcgg	ccaagggacc	720
aaggtggaga	tcaaacgt					738

SEQ ID NO:217

E V Q L V E T G A E V K K P G A S V K V S C K A S G Y T F T S Y Y M H W V
 R Q A P G Q G L E W M G W I N P N S G G T N Y A Q K F Q G R V T M T R D T
 S I S T A Y M E L S R L R S D D T A V Y Y C A R E G K W G P Q A A F D I W
 G Q G T M V T V S S G T G G S G G T G S G T G G S T E I V M T Q S P G T L
 S L S P G E R A T L S C R A S Q S V S S S Y L A W Y Q Q K P G Q A P R L L
 I Y D A S S R A T D I P D R F S G S G S G T D F T L T I S R L E P E D F A
 V Y Y C Q Q Y G S S L W T F G Q G T K V E I K R

SEQ ID NO:218

gaggtgcagc	tggtagagtc	tgggggaggc	ttggtacagc	ctgggggggtc	cctgagactc	60
tcctgtgcag	cctctggatt	cacctttagc	atctatgcc	tgagctgggt	ccgccaggca	120
ccaggggaag	ggctggagtg	ggtctcagct	attagtagta	tggtgatag	cacatactac	180
gcagactccg	tgaagggccg	gttcaccatc	tccagagaca	acgccaggaa	cacgctgtat	240
ctgcaaatga	acagtctgag	agccgaggac	acggctgtgt	attactgtgc	gagagcgtat	300
ggctacacgt	tcgacccctg	gggccaggga	accctgggtc	ccgtctcgag	cggtacgggc	360
ggttcaggcg	gaaccggcag	cggcactggc	gggtcgacgg	aaattgtgct	gactcagctc	420
ccactctccc	tgcccgtcac	ccctggagag	ccggcctcca	tctcctgcag	gtctagtcag	480
agcctcctgc	atagtaatgg	atacaactat	ttggattggt	acctgcagaa	gccagggcag	540
tctccacagc	tcctgatcta	tttgggttct	aatcgggcct	ccgggggtccc	tgacagggtc	600

agtggcagtg gatcaggcac agattttaca ctgaaaatca gcagagtgga ggctgaggat 660
 gttgggggtt attactgcat gcaagctcta caaactcccc tcactttcgg cggaggggacc 720
 aagtgaggaga tcaaacgt 738

SEQ ID NO:219

E V Q L V E S G G G L V Q P G G S L R L S C A A S G F T F S I Y A M S W V
 R Q A P G K G L E W V S A I S S S G D S T Y Y A D S V K G R F T I S R D N
 A R N T L Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A R A Y G Y T F D P W G Q G T
 L V T V S S G T G G S G G T G S G T G G S T E I V L T Q S P L S L P V T P
 G E P A S I S C R S S Q S L L H S N G Y N Y L D W Y L Q K P G Q S P Q L L
 I Y L G S N R A S G V P D R F S G S G S G T D F T L K I S R V E A E D V G
 V Y Y C M Q A L Q T P L T F G G G T K V E I K R

SEQ ID NO:220

gaggtgcagc tgggtggagac cggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60
 tcctgcaagg cctctggagg caccttcagg acccatgcta tcagttgggt gcgacaggcc 120
 cctggacaag ggcttgagt gatgggagg atcatcgcta tcttcggaac agcaaactac 180
 gcacagaagt tccagggcag aatcacgatt accgcggacg aatccacgag tacagcctac 240
 atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggcctgtg atttctgtgc gagaggcagt 300
 ggttatcata tatcgacacc ctttgacaac tggggccagg gaaccctggt caccgtctcg 360
 agcggtagcg gcggttcagg cggaaccggc agcggcactg gcgggtcgac gtcctatgtg 420
 ctgactcagc caccctcggg gtcagtggcc ccaggacaga cggccaggat tacctgtggg 480
 ggaaacaaca ttggaagtaa aggtgtgcac tgggtaccagc agaagcctgg ccaggcccct 540
 gtgctggtcg tctatgatga tagcgaccgg ccctcaggga tccctgagcg atttctgtgc 600
 tccaactctg ggaacacggc caccctgacc atcagcaggg tcgaagccgg ggatgaggcc 660
 gactattact gtcagggtgtg ggatagtagt agtgatcatg tgggtattcgg cggaggggacc 720
 aagctgaccg tcctaggt 738

SEQ ID NO:221

E V Q L V E T G A E V K K P G S S V K V S C K A S G G T F R T H A I S W V
 R Q A P G Q G L E W M G G I I A I F G T A N Y A Q K F Q G R I T I T A D E
 S T S T A Y M E L S S L R S E D T A V Y F C A R G S G Y H I S T P F D N W
 G Q G T L V T V S S G T G G S G G T G S G T G G S T S Y V L T Q P P S V S
 V A P G Q T A R I T C G G N N I G S K G V H W Y Q Q K P G Q A P V L V V Y
 D D S D R P S G I P E R F S G S N S G N T A T L T I S R V E A G D E A D Y
 Y C Q V W D S S S D H V V F G G G T K L T V L G

SEQ ID NO:222

gaggtgcagc tgggtggagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60
 tcctgcaagg cttctggaca catcttcagc ggctatgcaa tcagttgggt gcgacaggcc 120
 cctggacaag ggcttgagt gatgggagg atcatcccta tctttggtac aacaaactac 180
 gcacagaagt tccagggcag agtcacgatt accgcggacc aatccacgag cacagcctac 240
 atggacctga gcaacttgag atctgaggac acggcctgtc attactgtgc gagagtga aa 300
 gatggatatt gtactcttac cagctgccct gtcggctggt acttcgatct ctggggccgt 360
 ggcaccctgg tcaactgtctc gageggtagc ggcggttcag gcggaaccgg cagcggcact 420
 ggcggttcga cggaaattgt gatgacgcag tctccaggca cctgtcttt gtctccaggg 480
 gaaagagcca cctctcgtg cagggccagt cagagtgtta gcagcagcta cttagcctgg 540
 taccagcaga aacctggcca ggctcccagg ctctcctatct ttggtgcctc cagcagggcc 600
 actggcatcc cagacagggt cagtggcagt gggctctggga cagacttcac tctcaccatc 660
 agcagactgg agcctgaaga ttttgagtg tattactgtc agcagtatgg tagctcactc 720
 actttcggcg gagggaccaa gctggagatc aaacgt 756

SEQ ID NO:223

E V Q L V E S G A E V K K P G S S V K V S C K A S G H I F S G Y A I S W V
 R Q A P G Q G L E W M G G I I P I F G T T N Y A Q K F Q G R V T I T A D Q
 S T S T A Y M D L S N L R S E D T A V Y Y C A R V K D G Y C T L T S C P V
 G W Y F D L W G R G T L V T V S S G T G G S G G T G S G T G G S T E I V M
 T Q S P G T L S L S P G E R A T L S C R A S Q S V S S S Y L A W Y Q Q K P
 G Q A P R L L I F G A S S R A T G I P D R F S G S G S G T D F T L T I S R
 L E P E D F A V Y Y C Q Q Y G S S L T F G G G T K L E I K R

SEQ ID NO:224

gaggtccagc tgggtacagtc tggggctgag gttgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60

tcctgcaagg	cttctggagg	catcttcaga	agcaattcta	tcagttgggt	gcgacaggcc	120
cctgggcaag	ggcttgagtg	gatgggaggg	atcttcgctc	ttttcggaac	aacagactac	180
gcgcagaagt	tccagggcag	agtcacgatt	accgcggacg	aatcttcgac	cacagtctac	240
ctggagctga	gtagcctgac	atctgaggac	acggccgttt	attactgtgc	gagaggcagt	300
ggctacacca	cacgcaacta	ctttgactac	tggggccagg	gcaccctggt	caccgtctcg	360
agcggtagcg	gcggttcagg	cggaaccggc	agcggcactg	gcgggtcgac	ggaaattgtg	420
ctgactcagt	ctccaggcac	cctgtctttg	tctccagggg	aaagagccac	actctcctgc	480
agggccagtc	agagtgttag	cagcaactac	ttaggctggg	accagcagaa	acctggccag	540
gctcccaggc	tcctgatcta	tgggtgcatcc	agcagggcca	gtggcatccc	agacaggttc	600
agtggcggtg	ggtctgggac	agacttcact	ctcaccatca	gcagactgga	gcctgaagat	660
tttgacgtgt	attactgtca	gcagtatggt	agctcacccc	tcactttcgg	cggaggggacc	720
aaggtggaga	tcaaactgt					738

SEQ ID NO:225

E V Q L V Q S G A E V K K P G S S V K V S C K A S G G I F R S N S I S W V
R Q A P G Q G L E W M G G I F A L F G T T D Y A Q K F Q G R V T I T A D E
S S T T V Y L E L S S L T S E D T A V Y Y C A R G S G Y T T R N Y F D Y W
G Q G T L V T V S S G T G G S G G T G S G T G G S T E I V L T Q S P G T L
S L S P G E R A T L S C R A S Q S V S S N Y L G W Y Q Q K P G Q A P R L L
I Y G A S S R A S G I P D R F S G G G S G T D F T L T I S R L E P E D F A
V Y Y C Q Q Y G S S P L T F G G G T K V E I K R

SEQ ID NO:226

caggtgcagc	tgggtgcagtc	tggggctgag	gtgaagaagc	ctgggtcctc	ggtaaaggtc	60
tcctgcaagg	cttctggagg	ccccttcgcg	aattttgcta	tcaactgggt	gcgacaggcc	120
cctggacaag	ggcttgagtg	gatgggaggg	atcatcgctg	tctttgggac	gacaaagtac	180
gcacataagt	tccagggcag	agtcaccatc	accgcggacg	actccacaaa	tacagcttac	240
atggagcttg	gcagcctgaa	atctgaggac	acggccgtgt	attactgtgc	gagaggctcc	300
cactactact	cctcctacat	ggacgtctgg	ggcgaaggga	ccacggtcac	cgtctcgagc	360
ggtacgggcg	gttcaggcg	aaccggcagc	ggcactggcg	ggtcgacgga	catccagttg	420
accagttctc	catcctccct	gtctgcatct	gtaggagaca	gagtcaccat	cacttgccgg	480
gcgagtcagg	gcattagcac	ttattttagcc	tggatatcagc	agaaacccgg	gaaagttcct	540
aaactcctga	tctatgtctg	atccactttg	caatcagggg	tcccatctcg	gttcagtggc	600
agtggatctg	ggacagattt	cactctcacc	atcagcagcc	tgcagcctga	agatgttgca	660
acttattact	gtcaaaaagta	taacagtgcc	ccttcttttcg	gccctgggac	caaagtggtat	720
atcaaacgt						729

SEQ ID NO:227

Q V Q L V Q S G A E V K K P G S S V K V S C K A S G G P F R N F A I N W V
R Q A P G Q G L E W M G G I I A V F G T T K Y A H K F Q G R V T I T A D D
S T N T A Y M E L G S L K S E D T A V Y Y C A R G P H Y Y S S Y M D V W G
E G T T V T V S S G T G G S G G T G S G T G G S T D I Q L T Q S P S S L S
A S V G D R V T I T C R A S Q G I S T Y L A W Y Q Q K P G K V P K L L I Y
A A S T L Q S G V P S R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P E D V A T Y
Y C Q K Y N S A P S F G P G T K V D I K R

SEQ ID NO:228

gaggtgcagc	tgggtggagac	tggggctgag	gtgaagaagc	ctgggtcctc	ggtgaaggtc	60
ccctgcaaat	cttctggaag	ccccttcagg	agtaatgctg	tcagctgggt	gcgacaggcc	120
cccgacaag	ggcttgagtg	ggtgggagga	atcctcggtg	tctttggttc	accaagctac	180
gcacagaagt	tccagggcag	agtcacgatt	accgcggacg	aatccaccaa	cacagtccac	240
atggagctga	gaggtttgag	atctgaggac	acggccgtgt	attattgtgc	gagaggctct	300
acctactact	actcctacat	ggacgtctgg	ggcaaaaggga	ccacggtcac	cgtctcgagc	360
ggtacgggcg	gttcaggcg	aaccggcagc	ggcactggcg	ggtcgacgtc	ctatgtgctg	420
actcagccac	cctcggagtc	agtggcccca	ggacagacgg	ccaggattac	ctgtggggga	480
aataacattg	gaagaaatag	tgtgcactgg	tatcagcaga	agccaggcca	ggccctgtg	540
ctggctcgtg	atgatgatag	cgaccggccc	tcagggatcc	ctgagcgatt	ttctggctcc	600
aagtcctggga	acacggccac	cctgattatc	agcagggctg	aagtcgggga	tgaggccgac	660
tactactgtc	aggtgtggca	tagtagtagt	gatcattatg	tcttcggaac	tgggaccaag	720
gtcaccgtcc	taggt					735

SEQ ID NO:229

E V Q L V E T G A E V K K P G S S V K V P C K S S G S P F R S N A V S W V

R Q A P G Q G L E W V G G I L G V F G S P S Y A Q K F Q G R V T I T A D E
 S T N T V H M E L R G L R S E D T A V Y Y C A R G P T Y Y Y S Y M D V W G
 K G T T V T V S S G T G G S G G T G S G T G G S T S Y V L T Q P P S E S V
 A P G Q T A R I T C G G N N I G R N S V H W Y Q Q K P G Q A P V L V V Y D
 D S D R P S G I P E R F S G S K S G N T A T L I I S R V E V G D E A D Y Y
 C Q V W H S S S D H Y V F G T G T K V T V L G

SEQ ID NO:230

cagatgcagc	tggtacaatc	tggagctgag	gtgaagaagc	ctgggtcctc	ggtgaaggtc	60
tcttgcaagg	cttctggagg	caccttcagc	agctatgcta	tcagctgggt	gcgacaggcc	120
cctggacaag	ggcttgagtg	gatgggaggg	atcttcggta	tgtttgggac	agcaaactac	180
gcgcagaagt	tccagggcag	agtcacgatt	accgcggacg	aattcacgag	cgcggcctac	240
atggagctga	gcagcctggg	atctgaggac	acggccatgt	attactgtgc	gaggtctagt	300
ggttattacc	cccaatactt	ccaggactgg	ggccagggca	ccctggtcac	cgtctcgagc	360
ggtacgggcg	gttcaggcgg	aaccggcagc	ggcactggcg	ggtcgacgga	aattgtgatg	420
acacagtctc	caggcaccct	gtctttgtct	ccaggggcaaa	gagccaccct	ctcctgcagg	480
gccagtcaga	gtgttagcag	cagctactta	gcctggtagc	agcagaaacc	tggccaggct	540
cccagactcc	tcatgtatgg	tgcattccagc	agggccactg	gcattcccaga	caggttcagt	600
ggcagtgggt	ctgggacaga	cttcactctc	accatcagca	gactggagcc	tgaagatttt	660
gcagtgtatt	actgtcagca	gtatggtagc	tcattcgctca	ctttcggcgg	agggaccaag	720
ctggagatca	aacgt					735

SEQ ID NO:231

Q M Q L V Q S G A E V K K P G S S V K V S C K A S G G T F S S Y A I S W V
 R Q A P G Q G L E W M G G I F G M F G T A N Y A Q K F Q G R V T I T A D E
 F T S A A Y M E L S S L G S E D T A M Y Y C A R S S G Y Y P Q Y F Q D W G
 Q G T L V T V S S G T G S G G T G S G T G G S T E I V M T Q S P G T L S
 L S P G Q R A T S L S C R A S G S V S S S Y L A W Y Q Q K P G Q A P R L L M
 Y G A S S R A T G I P D R F S G S G S G T D F T L T I S R L E P E D F A V
 Y Y C Q Q Y G S S S L T F G G G T K L E I K R

SEQ ID NO:232

gaggtgcagc	tggtggagtc	cggggctgag	gtgaagaagc	ctgggtcctc	ggtgaaggtc	60
tcttgcaagg	cttctggagg	catcttcaac	agttatgcta	tcagctgggt	gcgacaggcc	120
cctggacaag	ggcttgagtg	gatgggaggg	atcatcgcta	tctttcatac	accaaagtac	180
gcacagaagt	tccagggcag	agtcacgatt	accgcggacg	aatccacgaa	cacagcctac	240
atggaactga	gaagcctgaa	atctgaggac	acggccctgt	attactgtgc	gagagggctc	300
acttacgatt	tttcgagtg	ccttgactac	tggggccagg	gaaccctggt	caccgtctcg	360
agcggtagcg	gcgggttcagg	cggaaccggc	agcggcactg	gcgggtcgac	gcaggcaggg	420
ctgactcagc	caccctcggt	gtcagtggcc	ccaggacaga	cggccaggat	tacctgtggg	480
ggaaacaaca	ttggaagtaa	aagtgtgcac	tggtaccagc	agaagccagg	ccaggcccct	540
gtcctagtctg	tctatgatga	tagcgaccgg	ccctcaggga	tccctgagcg	attctctggc	600
tccaactctg	ggaacacggc	caccctgacc	atcagcaggg	tcgaagccgg	ggatgaggcc	660
gactattact	gtcaggtgtg	ggatagtagt	agtgatcatg	tggtattcgg	cggagggacc	720
aagctgaccg	tctaggt					738

SEQ ID NO:233

E V Q L V E S G A E V K K P G S S V K V S C K A S G G I F N S Y A I S W V
 R Q A P G Q G L E W M G G I I A I F H T P K Y A Q K F Q G R V T I T A D E
 S T N T A Y M E L R S L K S E D T A L Y Y C A R G S T Y D F S S G L D Y W
 G Q G T L V T V S S G T G G S G G T G S G T G G S T Q A G L T Q P P S V S
 V A P G Q T A R I T C G G N N I G S K S V H W Y Q Q K P G Q A P V L V V Y
 D D S D R P S G I P E R F S G S N S G N T A T L T I S R V E A G D E A D Y
 Y C Q V W D S S S D H V V F G G G T K L T V L G

SEQ ID NO:234

caggtccagc	tggtgcagtc	tggggctgag	gtgaagaagc	ctgggtcctc	ggtgaaggtc	60
tcttgcaagg	cttctggagg	cttcttcagc	agctatgcta	tcagctgggt	gcgccaggcc	120
cctggacaag	gacttgagtg	gatggggggg	gtcatcccta	tctttcgtac	agcaaactac	180
gcacagaact	tccagggcag	agtcaccatt	accgcggacg	aattcacatc	gtatatggag	240
ctgagcagcc	tgagatctga	cgacacggcc	gtgtattact	gtgcgaggtt	gaattaccat	300
gattcgggga	cttattataa	cgcccccg	ggctgggttcg	accctggggg	ccagggaacc	360
ctggtcaccg	tctcgagcgg	tacgggcggt	tcaggcgga	ccggcagcgg	cactggcggg	420

tcgacggaca	tccagatgac	ccagtctcca	gactccctgg	ctgtgtctct	gggcgagaag	480
gccaccatca	actgcaagtc	cagccagagt	attttaaaaca	gctccaacaa	taagaactac	540
ttagcttggt	accagcagaa	accaggacag	cctcctaagc	tgctcattta	ctgggcatct	600
acccgggaat	ccgggggtccc	tgaccgattc	agtggcagcg	ggctctgggac	agatttcact	660
ctcaccatca	gcagcctgca	ggctgaagat	gtggcagttt	attactgtca	gcaatattat	720
agtagtccgc	cgacgttcgg	ccaagggacc	aaggtggaaa	tcaaacgt		768

SEQ ID NO:235

Q V Q L V Q S G A E V K K P G S S V K V S C K A S G G F F S S Y A I S W V
R Q A P G Q G L E W M G G V I P I F R T A N Y A Q N F Q G R V T I T A D E
F T S Y M E L S S L R S D D T A V Y Y C A R L N Y H D S G T Y Y N A P R G
W F D P W G Q G T L V T V S S G T G G S G G T G S G T G G S T D I Q M T Q
S P D S L A V S L G E K A T I N C K S S Q S I L N S S N N K N Y L A W Y Q
Q K P G Q P P K L L I Y W A S T R E S G V P D R F S G S G S G T D F T L T
I S S L Q A E D V A V Y Y C Q Q Y Y S S P P T F G Q G T K V E I K R

SEQ ID NO:236

caggtccagc	tggtgcagtc	tggagctgag	gtgaagaagc	ctgggtcctc	gggtgaaggtc	60
tcttgcaagg	cttctggagt	caccttcagt	tactatgcta	tgagctgggt	gcgacaggcc	120
cctggacaag	ggcttgagt	gatgggagga	atcagcccta	tgtttgggac	aacaacctac	180
gcacagaagt	tccagggcag	agtcacgatt	actgcggacg	actccacgag	tacagcctac	240
atggaggtga	ggagcctgag	atctgaggac	acggcctgt	attactgtgc	gagatcttcg	300
aattactatg	atagtgtata	tgactactgg	ggccaggga	ccctgggtcac	cgtctcgagc	360
ggtacgggcg	gttcaggcg	aaccggcagc	ggcactggcg	ggtcgacgca	gtctgtcgtg	420
acgcagccgc	cctcggagtc	agtggcccca	ggacagacgg	ccaggattac	ctgtggggga	480
cataacattg	gaagtaatag	tgtgcaactg	taccagcaga	agccaggcca	ggccccctgtg	540
ctggctcgtg	atgataatag	cgaccggccc	tcagggatcc	ctgagcgatt	ctctggctcc	600
aactctggga	acacggccac	cctgaccatc	agcagggtcg	aagccgggga	tgaggccgac	660
tattactgtc	aggtgtgggg	tagtagtagt	gaccattatg	tcttcggaac	tgggaccaag	720
gtcaccgtcc	taggt					735

SEQ ID NO:237

Q V Q L V Q S G A E V K K P G S S V K V S C K A S G V T F S Y Y A M S W V
R Q A P G Q G L E W M G G I S P M F G T T T Y A Q K F Q G R V T I T A D D
S T S T A Y M E V R S L R S E D T A V Y Y C A R S S N Y Y D S V Y D Y W G
Q G T L V T V S S G T G G S G G T G S G T G G S T Q S V V T Q P P S E S V
A P G Q T A R I T C G G H N I G S N S V H W Y Q Q K P G Q A P V L V V Y D
N S D R P S G I P E R F S G S N S G N T A T L T I S R V E A G D E A D Y Y
C Q V W G S S S D H Y V F G T G T K V T V L G

SEQ ID NO:316

gaggtccagc	tggtgcagtc	tggggctgag	gtgaagaagc	ctggggcctc	agtgaaggtc	60
tcttgcaagg	cttctgggta	caccttcacc	ggctactatg	tgtactgggt	gcgacaggcc	120
cctggacaag	ggcttgagt	gatgggatg	atcagcgctt	acaatggtaa	cacaaactat	180
gcacagaagt	tccagggcag	agtcacgatt	accgcggaca	aatccacgag	cacagcctac	240
atggagctga	gcagcctgag	atctgaagac	acggctgtgt	attactgtgc	gagaagtaga	300
tccctggacg	tctggggcca	agggaccacg	gtcaccgtct	cgagtgtctag	caccaagggc	360
cccagcgtgt	tccccctggc	ccccagcagc	aagagcacca	gcggcggcac	agccgccctg	420
ggctgcctgg	tgaaggacta	cttccccgag	cccgtagccg	tgagctggaa	cagcggcgcc	480
ttgaccagcg	gcgtgcacac	cttccccgcc	gtgctgcaga	gcagcggcct	gtacagcctg	540
agcagcgtgg	tgaccgtgcc	cagcagcagc	ctgggcaccc	agacctacat	ctgcaacgtg	600
aaccacaagc	ccagcaacac	caaggtggac	aaacgcgtgg	agcccaagag	ctgcgacaag	660
acccacacct	gccccccctg	ccctgcccc	gagctgtctg	gcggaccctc	cgtgttcctg	720
ttccccccca	agcccaagga	cacctcatg	atcagccgga	cccccgaggt	gacctgcgtg	780
gtggtggacg	tgagccacga	ggacccccgag	gtgaagttca	actggtacgt	ggacggcgtg	840
gaggtgcaca	acgccaaagc	caagccccgg	gaggagcagt	acaacagcac	ctaccgggtg	900
gtgagcgtgc	tcaccgtgct	gcaccaggac	tggctgaacg	gcaaggagta	caagtgcgaag	960
gtgagcaaca	aggccctgcc	tgcccccatc	gagaagacca	tcagcaaggc	caagggccag	1020
ccccgggagc	cccaggtgta	cacctgccc	cccagccggg	aggagatgac	caagaaccag	1080
gtgtccctca	cctgtctggt	gaagggttc	tacccccagc	acatcgccgt	ggagtgggag	1140
agcaacggcc	agcccgagaa	caactacaag	accaccccc	ctgtgctgga	cagcgacggc	1200
agcttcttcc	tgtacagcaa	gtcaccgtg	gacaagagcc	ggtggcagca	gggcaacgtg	1260
ttcagctgca	gcgtgatgca	cgaggccctg	cacaaccact	acaccagaa	gagcctgagc	1320

ctgagccccg gcaag

1335

SEQ ID NO:317

E V Q L V Q S G A E V K K P G A S V K V S C K A S G Y T F T G Y Y V Y W V
 R Q A P G Q G L E W M G W I S A Y N G N T N Y A Q K F Q G R V T I T A D K
 S T S T A Y M E L S S L R S E D T A V Y Y C A R S R S L D V W G Q G T T V
 T V S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F
 P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T
 V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K R V E P K S C D K T H
 T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C
 V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S
 T Y R V V S V L
 T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P
 R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E
 W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W
 Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K

SEQ ID NO:318

gatgttgtga	tgactcagtc	tccagactcc	ctggtgtgtgt	ctctgggcca	gagggccacc	60
atcaactgca	agtccagcca	gagtgtttta	tacagctcca	acaataagaa	ctacttagct	120
tggtaccagc	agaaaccagg	acagcctcct	aagctgctca	tttactgggc	atctaccggg	180
gaatccgggg	tccctgaccg	attcagtggc	agcgggtctg	ggacagattt	cactctcacc	240
atcagcagcc	tgcaggctga	agatgtggca	gtttattact	gtcagcaata	ttatagtact	300
cctctcactt	tggcgaggag	gaccaaagt	gatatcaaac	gtgcgggccg	acccagcgtg	360
ttcatcttcc	ccccctccga	cgagcagctg	aagagcggca	ccgccagcgt	ggtgtgcctg	420
ctgaacaact	tctacccccg	ggaggccaag	gtgcagtggga	aggtggacaa	cgccctgcag	480
agcggcaaca	gccaggagag	cgtgaccgag	caggacagca	aggactccac	ctacagcctg	540
agcagcacc	tcaccctgag	caaggccgac	tacgagaagc	acaaggtgta	cgccctgcag	600
gtgaccacc	agggcctgag	cagccccgtg	accaagagct	tcaaccgggg	cgagtgt	657

SEQ ID NO:319

D V V M T Q S P D S L A V S L G E R A T I N C K S S Q S V L Y S S N N K N
 Y L A W Y Q Q K P G Q P P K L L I Y W A S T R E S G V P D R F S G S G S G
 T D F T L T I S S L Q A E D V A V Y Y C Q Q Y Y S T P L T F G G G T K V D
 I K R A A A P S V F I F P P S D E Q L K S G T A S V V C L L N N F Y P R E
 A K V Q W K V D N A L Q S G N S Q E S V T E Q D S K D S T Y S L S S T L T
 L S K A D Y E K H K V Y A C E V T H Q G L S S P V T K S F N R G E C

SEQ ID NO:320

cagatgcagc	tggtgcagtc	tggggctgag	gtgaagaagc	ctgggtcctc	ggtgaaggtc	60
tcctgcaagg	cttctggagg	caccttctcc	agttatgcta	tcacctgggt	gcgacaggcc	120
cctggacaag	ggcttgagtg	gatgggagg	atcatcggtg	tgtttggttc	aacaaactac	180
gcacagaact	tccagggcag	agtcacgatt	accgcggacg	aatccacgag	cacagcctac	240
atggagctga	gcagcctcag	atctgaggac	acggcctgtg	attactgtgc	gagaagtact	300
ggttattacc	ctgcatacct	ccaccactgg	ggccaggcca	ccctgggtcac	cgtctcgagt	360
gctagcacca	agggccccag	cgtgttcccc	ctggccccca	gcagcaagag	caccagcggc	420
ggcacagccg	ccctgggctg	cctggtgaag	gactacttcc	ccgagcccgt	gaccgtgagc	480
tggacacagc	gcgccttgac	cagcggcgtg	cacaccttcc	ccgcctgtgt	gcagagcagc	540
ggcctgtaca	gcctgagcag	cgtggtgacc	gtgcccagca	gcagcctggg	cacccagacc	600
tacatctgca	acgtgaacca	caagcccagc	aacaccaagg	tggaacaaac	cgtggagccc	660
aagagctgcg	acaagaccca	cacctgcccc	ccctgcccctg	cccccgagct	gctgggcgga	720
ccctccgtgt	tcctgttccc	ccccaaagccc	aaggacaccc	tcattgatcag	ccggaccccc	780
gaggtgacct	gcgtggtggt	ggacgtgagc	cacgaggacc	ccgaggtgaa	gttcaactgg	840
tacgtggacg	gcgtggaggt	gcacaacgcc	aagaccaagc	cccgggagga	gcagtacaac	900
agcacctacc	gggtggtgag	cgtgctcacc	gtgctgcacc	aggactggct	gaacggcaag	960
gagtacaagt	gcaaggtgag	caacaaggcc	ctgcctgccc	ccatcgagaa	gaccatcagc	1020
aaggccaagg	gccagccccg	ggagccccag	gtgtacaccc	tgccccccag	ccgggaggag	1080
atgaccaaga	accaggtgtc	cctcacctgt	ctggtgaagg	gcttctaccc	cagcgacatc	1140
gccgtggagt	gggagagcaa	cggccagccc	gagaacaact	acaagaccac	ccccctgtg	1200
ctggacagcg	acggcagctt	cttcctgtac	agcaagctca	ccgtggacaa	gagccgggtg	1260
cagcaggcca	acgtgttcag	ctgcagcgtg	atgcacgagg	ccctgcacaa	ccactacacc	1320
cagaagagcc	tgagcctgag	ccccggcaag				1350

SEQ ID NO:321

Q M Q L V Q S G A E V K K P G S S V K V S C K A S G G T F S S Y A I T W V
 R Q A P G Q G L E W M G G I I G M F G S T N Y A Q N F Q G R V T I T A D E
 S T S T A Y M E L S S L R S E D T A V Y Y C A R S T G Y Y P A Y L H H W G
 Q G T L V T V S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L
 V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L
 S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K R V E P K S
 C D K T H T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T
 P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E
 E Q Y N S T Y R
 V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K
 A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S
 D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V
 D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K

SEQ ID NO:322

cagtctgccc tgactcagcc tcgctcagtg tccgggtctc ctggacagtc agtcaccatc 60
 tcctgcactg gaaccagcag tgatgttggt gggtataact atgtctcctg gtaccaacag 120
 caccagcga aagccccaa actcatgatt tatgatgtca gtaagcggcc ctccaggggtc 180
 cctgatcgct tctctggctc caagtctggc aacacggcct ccctgaccat ctctgggctc 240
 caggctgagg atgaggctga ttattactgc agctcatata caagcagcag cactcatgtc 300
 ttcggaactg ggaccaaggt caccgtccta ggtgcggccg caggccagcc caaggccgct 360
 cccagcgtga cctgtttccc cccctcctcc gaggagctgc aggccaaaca ggccaccctg 420
 gtgtgcctca tcagcgactt ctaccctggc gccgtgaccg tggcctggaa ggccgacagc 480
 agccccgtga aggcggcggt ggagaccacc acccccagca agcagagcaa caacaagtac 540
 gccgccagca gctacctgag cctcaccccc gagcagtggg agagccaccg gagctacagc 600
 tgccaggtga cccacgaggg cagcaccgtg gagaagaccg tggccccac cgagtgcagc 660

SEQ ID NO:323

Q S A L T Q P R S V S G S P G Q S V T I S C T G T S S D V G G Y N Y V S W
 Y Q Q H P G K A P K L M I Y D V S K R P S G V P D R F S G S K S G N T A S
 L T I S G L Q A E D E A D Y Y C S S Y T S S S T H V F G T G T K V T V L G
 A A A G Q P K A A P S V T L F P P S S E E L Q A N K A T L V C L I S D F Y
 P G A V T V A W K A D S S P V K A G V E T T T P S K Q S N N K Y A A S S Y
 L S L T P E Q W K S H R S Y S C Q V T H E G S T V E K T V A P T E C S

SEQ ID NO:324

gaggtgcagc tgggtggagac cggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60
 tcctgcaagg catctggata caccttcacc agctactata tgactgggt ggcacaggcc 120
 cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcaacccta acagtgggtg cacaactat 180
 gcacagaagt ttcagggcag ggtcaccatg accagggaca cgtccatcag cacagcctac 240
 atggagctga gcaggctgag atctgacgac acggcctgtg attactgtgc gagagagggg 300
 aaatggggac ctcaagcggc ttttgatata tggggccaag ggacaatggt caccgtctcg 360
 agtgctagca ccaaggggcc cagcgtgttc cccctggccc ccagcagcaa gagcaccagc 420
 ggcggcacag ccgccttggg ctgcctgggt aaggactact tccccgagcc cgtgaccgtg 480
 agctggaaca gcggcgccct gaccagcggc gtgcacacct tccccgccgt gctgcagagc 540
 agcggcctgt acagcctgag cagcgtgggt accgtgccca gcagcagcct gggcaccag 600
 acctacatct gcaacgtgaa ccacaagccc agcaacacca aggtggacaa acgcgtggag 660
 cccaagagct gcgacaagac ccacacctgc cccctgccc ctgccccga gctgctgggc 720
 ggaccctccg tgttcctgtt ccccccaaag cccaaggaca cctcatgat cagccggacc 780
 cccgaggtga cctgcgtggg ggtggacgtg agccacgagg accccgaggt gaagttcaac 840
 tggtagctgg acggcgtgga ggtgcacaac gccaaagacca agccccggga ggagcagtac 900
 aacagcacct accgggtggg gagcgtgctc accgtgctgc accaggactg gctgaacggc 960
 aaggagtaca agtgcaaggt gagcaacaag gccctgcttg ccccatcga gaagaccatc 1020
 agcaaggcca agggccagcc ccgggagccc caggtgtaca cctgcccc cagccgggag 1080
 gagatgacca agaaccaggt gtccctcacc tgtctggtga agggcttcta cccagcgac 1140
 atcgccgtgg agtgggagag caacggccag cccgagaaca actacaagac cccccccct 1200
 gtgctggaca gcgacggcag cttcttcctg tacagcaagc tcaccgtgga caagagccgg 1260
 tggcagcagg gcaacgtgtt cagctgcagc gtgatgcagc aggcctgca caaccactac 1320
 acccagaaga gcctgagcct gagccccggc aag 1353

SEQ ID NO:325

E V Q L V E T G A E V K K P G A S V K V S C K A S G Y T F T S Y Y M H W V

R Q A P G Q G L E W M G W I N P N S G G T N Y A Q K F Q G R V T M T R D T
 S I S T A Y M E L S R L R S D D T A V Y Y C A R E G K W G P Q A A F D I W
 G Q G T M V T V S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C
 L V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S
 L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K R V E P K
 S C D K T H T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R
 T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R
 E E Q Y N S T Y
 R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S
 K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P
 S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T
 V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K

SEQ ID NO:326

gaaattgtga	tgacgcagtc	tccaggcacc	ctgtctttgt	ctccagggga	aagagccacc	60
ctctcctgca	gggccagtc	gagtgtagc	agcagctact	tagcctggta	ccagcagaaa	120
cctggccagg	ctcccaggct	cctcatctat	gatgcattca	gcagggccac	tgacatccca	180
gacaggttca	gtggcagtg	gtctgggaca	gacttcactc	tcaccatcag	cagactggag	240
cctgaagatt	ttgcagtgta	ttactgtcag	cagtatggta	gctcactttg	gacgttcggc	300
caagggacca	aggtggagat	caaacgtgcg	gccgcaccca	gcgtgttcat	cttccccccc	360
tccgacgagc	agctgaagag	cggcaccgcc	agcgtggtgt	gcctgctgaa	caacttctac	420
ccccgggagg	ccaaggtgca	gtggaaggtg	gacaacgccc	tgacagcg	caacagccag	480
gagagcgtga	ccgagcagga	cagcaaggac	tccacctaca	gcctgagcag	caccctcacc	540
ctgagcaagg	ccgactacga	gaagcacaag	gtgtacgcct	gcgaggtgac	ccaccagggc	600
ctgagcagcc	ccgtgaccaa	gagcttcaac	cggggcgagt	gt		642

SEQ ID NO:327

E I V M T Q S P G T L S L S P G E R A T L S C R A S Q S V S S S Y L A W Y
 Q Q K P G Q A P R L L I Y D A S S R A T D I P D R F S G S G S G T D F T L
 T I S R L E P E D F A V Y Y C Q Q Y G S S L W T F G Q G T K V E I K R A A
 A P S V F I F P P S D E Q L K S G T A S V V C L L N N F Y P R E A K V Q W
 K V D N A L Q S G N S Q E S V T E Q D S K D S T Y S L S S T L T L S K A D
 Y E K H K V Y A C E V T H Q G L S S P V T K S F N R G E C

SEQ ID NO:328

gaggtgcagc	tggtagagtc	tgggggaggc	ttggtacagc	ctgggggggtc	cctgagactc	60
tcctgtgcag	cctctggatt	cacctttagc	atctatgcc	tgagctgggt	ccgccaggca	120
ccaggggaagg	ggctggagtg	ggtctcagct	attagtagta	gtggtgatag	cacatactac	180
gcagactccg	tgaagggccg	gttcaccatc	tccagagaca	acgccaggaa	cacgtctgat	240
ctgcaaatga	acagtctgag	agccgaggac	acggctgtgt	attactgtgc	gagagcgtat	300
ggctacacgt	tcgacccctg	gggccaggga	accctgggtc	ccgtctcgag	tgctagcacc	360
aagggcccca	gcgtgttccc	cctggccccc	agcagcaaga	gcaccagcgg	cggcacagcc	420
gccctgggct	gcctggtgaa	ggactacttc	cccagagccc	tgaccgtgag	ctggaacagc	480
ggcgccctga	ccagcggcgt	gcacaccttc	cccgcctgtc	tgacagagcag	cggcctgtac	540
agcctgagca	gcgtggtgac	cgtgcccagc	agcagcctgg	gcacccagac	ctacatctgc	600
aacgtgaacc	acaagcccag	caacaccaag	gtggacaaac	gcgtggagcc	caagagctgc	660
gacaagaccc	acacctgccc	ccctgcccct	gcccccgagc	tgctgggcgg	accctccgtg	720
ttcctgttcc	cccccaagcc	caaggacacc	ctcatgatca	gccggacccc	cgaggtgacc	780
tgctgtgtgg	tggacgtgag	ccacgaggac	cccaggtgta	agttcaactg	gtacgtggac	840
ggcgtggagg	tgacaacgc	caagaccaag	ccccgggagg	agcagtacaa	cagcacctac	900
cgggtggtga	gcgtgctcac	cgtgctgcac	caggactggc	tgaacggcaa	ggagtacaag	960
tgcaaggtga	gcaacaaggc	cctgcctgcc	cccacgcaga	agaccatcag	caaggccaag	1020
ggccagcccc	gggagcccca	ggtgtacacc	ctgcccccca	gccgggagga	gatgaccaag	1080
aaccaggtgt	ccctcacctg	tctggtgaag	ggcttctacc	ccagcgacat	cgcctgtggag	1140
tgggagagca	acggccagcc	cgagaacaac	tacaagacca	ccccccctgt	gctggacagc	1200
gacggcagct	tcttcctgta	cagcaagctc	accgtggaca	agagccggtg	gcagcagggc	1260
aacgtgttca	gctgcagcgt	gatgcacgag	gccctgcaca	accactacac	ccagaagagc	1320
ctgagcctga	gccccggcaa	g				1341

SEQ ID NO:329

E V Q L V E S G G G L V Q P G G S L R L S C A A S G F T F S I Y A M S W V
 R Q A P G K G L E W V S A I S S S G D S T Y Y A D S V K G R F T I S R D N

A R N T L Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A R A Y G Y T F D P W G Q G T
 L V T V S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D
 Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V
 V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K R V E P K S C D K
 T H T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V
 T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y
 N S T Y R V V S
 V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G
 Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A
 V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S
 R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K

SEQ ID NO:330

gaaattgtgc	tgactcagtc	tccactctcc	ctgcccgtca	cccctggaga	gccggcctcc	60
atctcctgca	ggtctagtca	gagcctcctg	catagtaatg	gatacaacta	tttggattgg	120
tacctgcaga	agccagggca	gtctccacag	ctcctgatct	atttgggttc	taatcggggc	180
tccgggggtcc	ctgacaggtt	cagtggcagt	ggatcaggca	cagattttac	actgaaaatc	240
agcagagtgg	aggctgagga	tgttgggtt	tattactgca	tgcaagctct	acaaactccc	300
ctcactttcg	gcgaggggac	caagtgagg	atcaaactgt	cggccgcacc	cagcgtgttc	360
atcttccccc	cctccgacga	gcagctgaag	agcggcaccg	ccagcgtggt	gtgcctgctg	420
aacaacttct	acccccggga	ggccaagggt	cagtgggaagg	tggacaacgc	cctgcagagc	480
ggcaacagcc	aggagagcgt	gaccgagcag	gacagcaagg	actccaccta	cagcctgagc	540
agcacctca	ccctgagcaa	ggccgactac	gagaagcaca	aggtgtacgc	ctgcgaggtg	600
accaccagc	gcctgagcag	ccccgtgacc	aagagcttca	accggggcga	gtgt	654

SEQ ID NO:331

E I V L T Q S P L S L P V T P G E P A S I S C R S S Q S L L H S N G Y N Y
 L D W Y L Q K P G Q S P Q L L I Y L G S N R A S G V P D R F S G S G S G T
 D F T L K I S R V E A E D V G V Y Y C M Q A L Q T P L T F G G G T K V E I
 K R A A A P S V F I F P P S D E Q L K S G T A S V V C L L N N F Y P R E A
 K V Q W K V D N A L Q S G N S Q E S V T E Q D S K D S T Y S L S S T L T L
 S K A D Y E K H K V Y A C E V T H Q G L S S P V T K S F N R G E C

SEQ ID NO:332

gaggtgcagc	tggtggagac	cggggctgag	gtgaagaagc	ctgggtcctc	ggtgaaggtc	60
tcctgcaagg	cctctggagg	caccttcagg	acccatgcta	tcagttgggt	gcgacaggcc	120
cctggacaag	ggcttgagt	gatgggagg	atcatcgcta	tcttcggaac	agcaaactac	180
gcacagaagt	tccagggcag	aatcacgatt	accgcggacg	aatccacgag	tacagcctac	240
atggagctga	gcagcctgag	atctgaggac	acggccgtgt	atttctgtgc	gagaggcagt	300
ggttatcata	tatcgacacc	ctttgacaac	tggggccagg	gaaccctggt	caccgtctcg	360
agtgcctagca	ccaagggcc	cagcgtgttc	cccctggccc	ccagcagcaa	gagcaccagc	420
ggcggcacag	ccgccctggg	ctgectgggt	aaggactact	tccccgagcc	cgtgaccgtg	480
agctggaaca	gcggcgccct	gaccagcggc	gtgcacacct	tccccgccgt	gctgcagagc	540
agcggcctgt	acagcctgag	cagcgtgggt	accgtgccca	gcagcagcct	gggcacccag	600
acctacatct	gcaacgtgaa	ccacaagccc	agcaacacca	aggtggacaa	acgcgtggag	660
cccaagagct	gcgacaagac	ccacacctgc	ccccctgcc	ctgcccccca	gctgctgggc	720
ggaccctccg	tgttcctgtt	cccccccaag	cccaaggaca	ccctcatgat	cagccggacc	780
cccagagtga	cctgcgtggt	ggtggacgtg	agccacgagg	accccagagt	gaagttcaac	840
tggtacgtgg	acggcgtgga	ggtgcacaac	gccaaagacca	agccccggga	ggagcagtac	900
aacagcacct	accgggtggt	gagcgtgtc	accgtgtgtc	accaggactg	gctgaacggc	960
aaggagtaca	agtgaagggt	gagcaacaag	gcctgtcctg	cccccatcga	gaagaccatc	1020
agcaaggcca	agggccagcc	ccgggagccc	caggtgtaca	ccctgcccc	cagccgggag	1080
gagatgacca	agaaccagggt	gtccctcacc	tgtctgggtga	agggcttcta	ccccagcgac	1140
atcgccgtgg	agtgggagag	caacggccag	cccgagaaca	actacaagac	cccccccct	1200
gtgctggaca	gcgacggcag	cttcttctctg	tacagcaagc	tcaccgtgga	caagagccgg	1260
tggcagcagg	gcaacgtgtt	cagctgcagc	gtgatgcacg	aggccctgca	caaccactac	1320
accagaaga	gcctgagcct	gagccccggc	aag			1353

SEQ ID NO:333

E V Q L V E T G A E V K K P G S S V K V S C K A S G G T F R T H A I S W V
 R Q A P G Q G L E W M G G I I A I F G T A N Y A Q K F Q G R I T I T A D E
 S T S T A Y M E L S S L R S E D T A V Y F C A R G S G Y H I S T P F D N W
 G Q G T L V T V S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C

L V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S
 L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K R V E P K
 S C D K T H T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R
 T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R
 E E Q Y N S T Y
 R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S
 K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P
 S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T
 V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K

SEQ ID NO:334

tcctatgtgc	tgactcagcc	accctcggtg	tcagtggccc	caggacagac	ggccaggatt	60
acctgtgggg	gaaacaacat	tggaagtaaa	ggtgtgcact	ggtaccagca	gaagcctggc	120
caggccccctg	tgctggctgt	ctatgatgat	agcgaccggc	cctcagggat	ccctgagcga	180
ttctctggct	ccaactctgg	gaacacggcc	accctgacca	tcagcagggt	cgaagccggg	240
gatgaggccg	actattactg	tcaggtgtgg	gatagtagta	gtgatcatgt	ggtattcggc	300
ggaggggacca	agctgaccgt	cctaggtgcg	gccgcaggcc	agcccaaggc	cgctcccagc	360
gtgaccctgt	tccccccctc	ctccgaggag	ctgcaggcca	acaaggccac	cctggtgtgc	420
ctcatcagcg	acttctaccc	tggcgcctgt	accgtggcct	ggaaggccga	cagcagcccc	480
gtgaaggccg	gcgtggagac	caccaccccc	agcaagcaga	gcaacaacaa	gtacgccggc	540
agcagctacc	tgagcctcac	ccccgagcag	tggaagagcc	accggagcta	cagctgccag	600
gtgaccacag	agggcagcac	cgtggagaag	accgtggccc	ccaccgagtg	cagc	654

SEQ ID NO:335

S Y V L T Q P P S V S V A P G Q T A R I T C G G N N I G S K G V H W Y Q Q
 K P G Q A P V L V V Y D D S D R P S G I P E R F S G S N S G N T A T L T I
 S R V E A G D E A D Y Y C Q V W D S S S D H V V F G G G T K L T V L G A A
 A G Q P K A A P S V T L F P P S S E E L Q A N K A T L V C L I S D F Y P G
 A V T V A W K A D S S P V K A G V E T T T P S K Q S N N K Y A A S S Y L S
 L T P E Q W K S H R S Y S C Q V T H E G S T V E K T V A P T E C S

SEQ ID NO:336

gaggtgcagc	tggtggagtc	tggggctgag	gtgaagaagc	ctgggtcctc	ggtgaaggtc	60
tcctgcaagg	cttctggaca	catcttcagc	ggctatgcaa	tcagttgggt	gcgacaggcc	120
cctggacaag	ggcttgagtg	gatgggaggg	atcatcccta	tctttggtac	aacaaactac	180
gcacagaagt	tccagggcag	agtcacgatt	accgcggacc	aatccacgag	cacagcctac	240
atggacctga	gcaacttgag	atctgaggac	acggccgtct	attactgtgc	gagagtgaag	300
gatggatatt	gtactcttac	cagctgccc	gtcggctgg	acttcgatct	ctggggccgt	360
ggcaccctgg	tactgtctc	gagtgtctagc	accaagggcc	ccagcgtgtt	ccccctggcc	420
cccagcagca	agagcaccag	cggcggcaca	gccgccctgg	gctgcctggt	gaaggactac	480
ttccccgagc	ccgtgaccgt	gagctggaac	agcggcgcc	tgaccagcgg	cgtgcacacc	540
ttccccgcgg	tgtgtcagag	cagcggcctg	tacagcctga	gcagcgtggt	gcagctgccc	600
agcagcagcc	tgggcaccca	gacctacatc	tgcaacgtga	accacaagcc	cagcaacacc	660
aaggtggaca	aacgcgtgga	gcccgaagagc	tgcgacaaga	cccacacctg	ccccccctgc	720
cctgcccccg	agctgctggg	cggaccctcc	gtgttctctg	tcccccccaa	gcccgaaggac	780
accctcatga	tcagccggac	ccccgaggtg	acctgcgtgg	tggtggacgt	gagccacgag	840
gacccccgag	tgaagttcaa	ctggtacgtg	gacggcgtgg	aggtgcacaa	cgccaagacc	900
aagccccggg	aggagcagta	caacagcacc	taccgggtgg	tgagcgtgct	caccgtgctg	960
caccaggact	ggctgaacgg	caaggagtac	aagtgcagg	tgagcaacaa	ggccctgcct	1020
gcccccatcg	agaagaccat	cagcaaggcc	aaggggccagc	ccggggagcc	ccaggtgtac	1080
accctgcccc	ccagccggga	ggagatgacc	aagaaccagg	tgctccctcac	ctgtctggtg	1140
aagggtctct	accccagcga	catcgccgtg	gagtgaggaga	gcaacggcca	gcccagagaac	1200
aactacaaga	ccaccccccc	tgtgctggac	agcgacggca	gcttcttctc	gtacagcaag	1260
ctcaccgtgg	acaagagccg	gtggcagcag	ggcaacgtgt	tcagctgcag	cgtgatgcac	1320
gaggccctgc	acaaccacta	caccacagaag	agcctgagcc	tgagcccccg	caag	1374

SEQ ID NO:337

E V Q L V E S G A E V K K P G S S V K V S C K A S G H I F S G Y A I S W V
 R Q A P G Q G L E W M G G I I P I F G T T N Y A Q K F Q G R V T I T A D Q
 S T S T A Y M D L S N L R S E D T A V Y Y C A R V K D G Y C T L T S C P V
 G W Y F D L W G R G T L V T V S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G
 G T A A L G C L V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L
 Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V

D K R V E P K S C D K T H T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K
D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H
N A K T K P R E
E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A
P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C
L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F
F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L
S L S P G K

SEQ ID NO:338

gaaattgtga tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcgtgca gggccagtc gaagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120
cctggccagg ctcccaggct cctcatcttt ggtgcctcca gcagggccac tggcatccca 180
gacaggttca gtggcagtg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240
cctgaagatt ttgcagtgt ttactgtcag cagtatggta gctcactcac tttcggcgga 300
gggaccaagc tggagatcaa acgtgcggcc gcaccacgcg tgttcactct ccccccctcc 360
gacgagcgc tgaagagcgg caccgccagc gtggtgtgccc tgctgaacaa cttctacccc 420
cgggaggcca aggtgcagtg gaaggtggac aacgccctgc agagcggcaa cagccaggag 480
agcgtgaccg agcaggacag caaggactcc acctacagcc tgagcagcac cctcacctg 540
agcaaggccg actacgagaa gcacaagggtg tacgcctgcg aggtgaccca ccagggcctg 600
agcagccccg tgaccaagag cttcaaccgg ggcgagtgt 639

SEQ ID NO:339

E I V M T Q S P G T L S L S P G E R A T L S C R A S Q S V S S S Y L A W Y
Q Q K P G Q A P R L L I F G A S S R A T G I P D R F S G S G S G T D F T L
T I S R L E P E D F A V Y Y C Q Q Y G S S L T F G G G T K L E I K R A A A
P S V F I F P P S D E Q L K S G T A S V V C L L N N F Y P R E A K V Q W K
V D N A L Q S G N S Q E S V T E Q D S K D S T Y S L S S T L T L S K A D Y
E K H K V Y A C E V T H Q G L S S P V T K S F N R G E C

SEQ ID NO:340

gaggtccagc tggtagcagtc tggggctgag gttaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60
tcctgcaagg cttctggagg catcttcaga agcaattcta tcagttgggt gcgacaggcc 120
cctgggcaag ggcttgagtg gatgggaggg atcttcgctc ttttcggaac aacagactac 180
gcgcagaagt tccagggcag agtcacgatt accgcggacg aatcttcgac cacagtctac 240
ctggagctga gtagcctgac atctgaggac acggccgttt attactgtgc gagaggcagt 300
ggctacacca cacgcaacta ctttgactac tggggccagg gcaccctggt caccgtctcg 360
agtgctagca ccaagggccc cagcgtgttc cccctggccc ccagcagcaa gagcaccagc 420
ggcggcacag ccgcccctgg ctgcctggtg aaggactact tccccgagcc cgtgaccgtg 480
agctggaaca gcggcgccct gaccagcggc gtgcacacct tccccgccgt gctgcagagc 540
agcggcctgt acagcctgag cagcgtggtg accgtgccc gcagcagcct gggcaccag 600
acctacatct gcaacgtgaa ccacaagccc agcaacacca aggtggacaa acgcgtggag 660
cccaagagct gcgacaagac ccacacctgc cccccctgcc ctgccccga gctgctgggc 720
ggaccctccg tgttctgtt ccccccaag cccaaggaca cctcatgat cagcgggacc 780
cccgaggtga cctgcgtggt ggtggacgtg agccagagg accccgaggt gaagttcaac 840
tggtagctgg acggcgtgga ggtgcacaac gccaaagacca agccccgga ggagcagtac 900
aacagcacct accgggtggt gagcgtgctc accgtgctgc accaggactg gctgaacggc 960
aaggagtaca agtgcaagggt gagcaacaag gcctgctg ccccatcga gaagaccatc 1020
agcaaggcca agggccagcc ccgggagccc caggtgtaca cctgcccc cagccgggag 1080
gagatgacca agaaccaggt gtccctcacc tgtctggtga agggcttcta cccagcgac 1140
atcgccgtgg agtgggagag caacggccag ccgagaaca actacaagac cccccccct 1200
gtgctggaca gcgacggcag cttcttctg tacagcaagc tcaccgtgga caagagccgg 1260
tggcagcagg gcaacgtgtt cagctgcagc gtgatgcagc aggcctgca caaccactac 1320
accagaaga gcctgagcct gagccccggc aag 1353

SEQ ID NO:341

E V Q L V Q S G A E V K K P G S S V K V S C K A S G G I F R S N S I S W V
R Q A P G Q G L E W M G G I F A L F G T T D Y A Q K F Q G R V T I T A D E
S S T T V Y L E L S S L T S E D T A V Y Y C A R G S G Y T T R N Y F D Y W
G Q G T L V T V S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C
L V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S
L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K R V E P K
S C D K T H T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R

T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R
 E E Q Y N S T Y
 R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S
 K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P
 S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T
 V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K

SEQ ID NO:342

gaaattgtgc	tgactcagtc	tccaggcacc	ctgtctttgt	ctccagggga	aagagccaca	60
ctctcctgca	gggccagtc	gagtgttagc	agcaactact	taggctggta	ccagcagaaa	120
cctggccagg	ctcccaggct	cctgatctat	ggtgcatcca	gcagggccag	tggcatccca	180
gacaggttca	gtggcggtgg	gtctgggaca	gacttcactc	tcaccatcag	cagactggag	240
cctgaagatt	ttgcagtgt	ttactgtcag	cagtatggta	gctcaccctc	cactttcggc	300
ggagggacca	aggtgggat	caaacgtgcg	gccgcaggcc	agcccaaggc	cgctcccagc	360
gtgaccctgt	tccccctc	ctccgaggag	ctgcaggcca	acaaggccac	cctgggtgtgc	420
ctcatcagcg	acttctaccc	tggcgccgtg	accgtggcct	ggaaggccga	cagcagcccc	480
gtgaaggccg	gcgtggagac	caccaccccc	agcaagcaga	gcaacaacaa	gtacgccgcc	540
agcagctacc	tgagcctcac	ccccgagcag	tgggaagagcc	accggagcta	cagctgccag	600
gtgaccacag	agggcagcac	cgtggagaag	accgtggccc	ccaccgagtg	cagc	654

SEQ ID NO:343

E I V L T Q S P G T L S L S P G E R A T L S C R A S Q S V S S N Y L G W Y
 Q Q K P G Q A P R L L I Y G A S S R A S G I P D R F S G G G S G T D F T L
 T I S R L E P E D F A V Y Y C Q Q Y G S S P L T F G G G T K V E I K R A A
 A G Q P K A A P S V T L F P P S S E E L Q A N K A T L V C L I S D F Y P G
 A V T V A W K A D S S P V K A G V E T T T P S K Q S N N K Y A A S S Y L S
 L T P E Q W K S H R S Y S C Q V T H E G S T V E K T V A P T E C S

SEQ ID NO:344

caggtgcagc	tggtgcagtc	tggggctgag	gtgaagaagc	ctgggtcctc	ggtaaaggtc	60
tcctgcaagg	cttctggagg	ccccttccgc	aattttgcta	tcaactgggt	gcgacaggcc	120
cctggacaag	ggcttgagtg	gatgggaggg	atcatcgctg	tctttgggac	gacaaagtac	180
gcacataagt	tccagggcag	agtcaccatc	accgcggacg	actccacaaa	tacagcttac	240
atggagctgg	gcagcctgaa	atctgaggac	acggcctgtg	attactgtgc	gagaggtccc	300
cactactact	cctcctacat	ggacgtctgg	ggcgaaggga	ccacggtcac	cgtctcgagt	360
gctagcacca	agggccccag	cgtgttcccc	ctggccccca	gcagcaagag	caccagcggc	420
ggcacagccg	ccctgggctg	cctgggtgaag	gactacttcc	ccgagcccgt	gaccgtgagc	480
tggaaacagcg	gcgccttgac	cagcggcgtg	cacacettcc	ccgcctgtgt	gcagagcagc	540
ggcctgtaca	gcctgagcag	cgtgggtgacc	gtgccagca	gcagcctggg	cacccagacc	600
tacatctgca	acgtgaacca	caagcccagc	aacaccaagg	tggacaaaacg	cgtggagccc	660
aagagctgct	acaagaccca	cacctgcccc	ccctgccttg	cccccgagct	gctgggcgga	720
ccctccgtgt	tcctgttccc	ccccaaagccc	aaggacaccc	tcattgatcag	ccggaccccc	780
gaggtgacct	gcgtgggtgt	ggacgtgagc	cacgaggacc	ccgaggtgaa	gttcaactgg	840
tacgtggacg	gcgtggaggt	gcacaacgcc	aagaccaagc	cccgggagga	gcagtacaac	900
agcacctacc	gggtgggtgag	cgtgctcacc	gtgctgcacc	aggactggct	gaacggcaag	960
gagtacaagt	gcaaggtgag	caacaaggcc	ctgcctgccc	ccatcgagaa	gaccatcagc	1020
aaggccaagg	gccagccccg	ggagccccag	gtgtacaccc	tgccccccag	ccgggaggag	1080
atgaccaaga	accaggtgtc	cctcacctgt	ctggtgaagg	gcttctaccc	cagcgacatc	1140
gccgtggagt	gggagagcaa	cggccagccc	gagaacaact	acaagaccac	ccccctgtg	1200
ctggacagcg	acggcagctt	cttcctgtac	agcaagctca	ccgtggacaa	gagccgggtg	1260
cagcagggca	acgtgttcag	ctgcagcgtg	atgcacgagg	ccctgcacaa	ccactacacc	1320
cagaagagcc	tgagcctgag	ccccggcaag				1350

SEQ ID NO:345

Q V Q L V Q S G A E V K K P G S S V K V S C K A S G G P F R N F A I N W V
 R Q A P G Q G L E W M G G I I A V F G T T K Y A H K F Q G R V T I T A D D
 S T N T A Y M E L G S L K S E D T A V Y Y C A R G P H Y Y S S Y M D V W G
 E G T T V T V S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L
 V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L
 S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K R V E P K S
 C D K T H T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T
 P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E
 E Q Y N S T Y R

V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K
 A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S
 D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V
 D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K

SEQ ID NO:346

gacatccagt	tgacccagtc	tccatcctcc	ctgtctgcat	ctgtaggaga	cagagtcacc	60
atcacttgcc	gggcgagtc	gggcattagc	acttatttag	cctgggtatca	gcagaaaccc	120
gggaaagtcc	ctaaactcct	gatctatgct	gcattccactt	tgcaatcagg	ggtcccattct	180
cggttcagtg	gcagtggtac	tgggacagat	ttcactctca	ccatcagcag	cctgcagcct	240
gaagatgttg	caacttatta	ctgtcaaaag	tataacagtg	ccccctcttt	cggccctggg	300
accaaagtgg	atatcaaacg	tgccggccgca	cccagcgtgt	tcattcttccc	cccctccgac	360
gagcagctga	agagcggcac	cgccagcgtg	gtgtgcctgc	tgaacaactt	ctacccccgg	420
gaggccaagg	tgagtggaac	ggtggacaac	gccctgcaga	gcggcaacag	ccaggagagc	480
gtgaccgagc	aggacagcaa	ggactccacc	tacagcctga	gcagcaccct	caccctgagc	540
aaggccgact	acgagaagca	caaggtgtac	gcctgcgagg	tgaccaccca	gggcctgagc	600
agccccgtga	ccaagagctt	caaccggggc	gagtggt			636

SEQ ID NO:347

D I Q L T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C R A S Q G I S T Y L A W Y Q
 Q K P G K V P K L L I Y A A S T L Q S G V P S R F S G S G S G T D F T L T
 I S S L Q P E D V A T Y Y C Q K Y N S A P S F G P G T K V D I K R A A A P
 S V F I F P P S D E Q L K S G T A S V V C L L N N F Y P R E A K V Q W K V
 D N A L Q S G N S Q E S V T E Q D S K D S T Y S L S S T L T L S K A D Y E
 K H K V Y A C E V T H Q G L S S P V T K S F N R G E C

SEQ ID NO:348

gaggtgcagc	tggtggagac	tggggctgag	gtgaagaagc	ctgggtcctc	ggtgaaggtc	60
ccctgcaaat	cttctggaag	ccccttcagg	agtaatgctg	tcagctgggt	gcgacaggcc	120
cccgacaag	gcttgagtg	ggtgggagga	atcctcggtg	tctttggttc	accaagctac	180
gcacagaagt	tccagggcag	agtcacgatt	accgcggacg	aatccacca	cacagtccac	240
atggagctga	gaggtttgag	atctgaggac	acggcctgtg	attattgtgc	gagaggtcct	300
acctactact	actcctacat	ggacgtctgg	ggcaaaggga	ccacggtcac	cgtctcgagt	360
gctagcacca	agggccccag	cgtgttcccc	ctggccccca	gcagcaagag	caccagcggc	420
ggcacagccg	ccctgggctg	cctggtgaag	gactacttcc	ccgagcccgt	gaccgtgagc	480
tggaacagcg	gcgccttgac	cagcggcgtg	cacaccttcc	ccgcccgtgt	gcagagcagc	540
ggcctgtaca	gcctgagcag	cgtggtgacc	gtgcccagca	gcagcctggg	caccagagcc	600
tacatctgca	acgtgaacca	caagcccagc	aacaccaagg	tggacaaacg	cgtggagccc	660
aagagctgcg	acaagaccca	cacctgcccc	ccctgcccctg	cccccgagct	gctgggcgga	720
ccctccgtgt	tcctgttccc	ccccaaagccc	aaggacaccc	tcattgatcag	ccggaccccc	780
gaggtgacct	gcgtggtggt	ggacgtgagc	cacgaggacc	ccgaggtgaa	gttcaactgg	840
tacgtggacg	gcgtggagggt	gcacaacgcc	aagaccaagc	cccgggagga	gcagtacaac	900
agcacctacc	gggtgggtgag	cgtgtccacc	gtgctgcacc	aggactggct	gaacggcaag	960
gagtacaagt	gcaaggtgag	caacaaggcc	ctgcctgccc	ccatcgagaa	gaccatcagc	1020
aaggccaagg	ggagcccccg	ggagccccag	gtgtacaccc	tgccccccag	ccgggaggag	1080
atgaccaaga	accaggtgtc	cctcacctgt	ctggtgaagg	gcttctaccc	cagcgacatc	1140
gccgtggagt	gggagagcaa	cggccagccc	gagaacaact	acaagaccac	ccccctgtg	1200
ctggacagcg	acggcagctt	cttctgttac	agcaagctca	ccgtggacaa	gagccggtgg	1260
cagcagggca	acgtgttcag	ctgcagcgtg	atgcacgagg	ccctgcacaa	ccactacacc	1320
cagaagagcc	tgagcctgag	ccccggcaag				1350

SEQ ID NO:349

E V Q L V E T G A E V K K P G S S V K V P C K S S G S P F R S N A V S W V
 R Q A P G Q G L E W V G G I L G V F G S P S Y A Q K F Q G R V T I T A D E
 S T N T V H M E L R G L R S E D T A V Y Y C A R G P T Y Y S Y M D V W G
 K G T T V T V S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L
 V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L
 S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K R V E P K S
 C D K T H T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T
 P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E
 E Q Y N S T Y R
 V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K
 A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S

D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V
D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K

SEQ ID NO:350

tcctatgtgc	tgactcagcc	accctcggag	tcagtggccc	caggacagac	ggccaggatt	60
acctgtgggg	gaaataacat	tggaagaaat	agtgtgcact	ggtatcagca	gaagccaggc	120
caggccccctg	tgctggtcgt	gtatgatgat	agcgaccggc	cctcagggat	ccctgagcga	180
ttttctggct	ccaagtctgg	gaacacggcc	accctgatta	tcagcagggg	cgaagtccggg	240
gatgaggccg	actactactg	tcagggtgtg	catagtagta	gtgatcatta	tgtcttcgga	300
actgggacca	aggtcaccgt	cctagggtgcg	gccgcaggcc	agcccaaggc	cgtctcccagc	360
gtgaccctgt	tccccccctc	ctccgaggag	ctgcaggcca	acaaggccac	cctggtgtgc	420
ctcatcagcg	acttctaccc	tggcgccgtg	accgtggcct	ggaaggccga	cagcagcccc	480
gtgaaggccg	gcgtggagac	caccaccccc	agcaagcaga	gcaacaacaa	gtacgccgcc	540
agcagctacc	tgagcctcac	ccccgagcag	tggaagagcc	accggagcta	cagctgccag	600
gtgaccacag	agggcagcac	cgtggagaag	accgtggccc	ccaccgagtg	cagc	654

SEQ ID NO:351

S Y V L T Q P P S E S V A P G Q T A R I T C G G N N I G R N S V H W Y Q Q
K P G Q A P V L V V Y D D S D R P S G I P E R F S G S K S G N T A T L I I
S R V E V G D E A D Y Y C Q V W H S S S D H Y V F G T G T K V T V L G A A
A G Q P K A A P S V T L F P P S S E E L Q A N K A T L V C L I S D F Y P G
A V T V A W K A D S S P V K A G V E T T T P S K Q S N N K Y A A S S Y L S
L T P E Q W K S H R S Y S C Q V T H E G S T V E K T V A P T E C S

SEQ ID NO:352

cagatgcagc	tggtacaatc	tggagctgag	gtgaagaagc	ctgggtcctc	ggtgaaggtc	60
tcttgcaagg	cttctggagg	caccttcagc	agctatgcta	tcagctgggt	gcgacaggcc	120
cctggacaag	gcttgagtg	gatgggagg	atcttcggta	tgtttgggac	agcaactac	180
gcgcagaagt	tccagggcag	agtcacgatt	accgcggacg	aattcacgag	cgcggcctac	240
atggagctga	gcagcctggg	atctgaggac	acggccatgt	attactgtgc	gaggtctagt	300
ggttattacc	cccaataactt	ccaggactgg	ggccaggcca	ccctggtcac	cgtctcgagt	360
gctagcacca	agggccccag	cgtgttcccc	ctggccccca	gcagcaagag	caccagcggc	420
ggcacagccg	ccctgggctg	cctggtgaag	gactacttcc	ccgagcccgt	gaccgtgagc	480
tggaacagcg	gcgccttgac	cagcggcgtg	cacaccttcc	ccgccgtgct	gcagagcagc	540
ggcctgtaca	gcctgagcag	cgtggtgacc	gtgccagca	gcagcctggg	caccagacc	600
tacatctgca	acgtgaacca	caagcccagc	aacaccaagg	tggaacaaacg	cgtggagccc	660
aagagctgcg	acaagaccca	cacctgcccc	ccctgccttg	cccccgagct	gctgggcgga	720
ccctccgtgt	tctgttcccc	ccccaaagccc	aaggacacce	tcattgatcag	ccggaccccc	780
gaggtgacct	gcgtggtggg	ggacgtgagc	cacgaggacc	ccgaggtgaa	gttcaactgg	840
tacgtggacg	gcgtggagg	gcacaacgcc	aagaccaagc	cccgggagga	gcagtacaac	900
agcacctacc	gggtggtgag	cgtgctcacc	gtgctgcacc	aggactggct	gaacggcaag	960
gagtacaagt	gcaaggtgag	caacaaggcc	ctgcctgccc	ccatcgagaa	gaccatcagc	1020
aaggccaagg	gccagccccg	ggagccccag	gtgtacaccc	tgccccccag	ccgggaggag	1080
atgaccaaga	accaggtgtc	cctcacctgt	ctggtgaagg	gcttctaccc	cagcgacatc	1140
gccgtggagt	gggagagcaa	cggccagccc	gagaacaact	acaagaccac	ccccctgtg	1200
ctggacagcg	acggcagctt	cttctgttac	agcaagctca	ccgtggacaa	gagccggtgg	1260
cagcagggca	acgtgttcag	ctgcagcgtg	atgcacgagg	ccctgcacaa	ccactacacc	1320
cagaagagcc	tgagcctgag	ccccggcaag				1350

SEQ ID NO:353

Q M Q L V Q S G A E V K K P G S S V K V S C K A S G G T F S S Y A I S W V
R Q A P G Q G L E W M G G I F G M F G T A N Y A Q K F Q G R V T I T A D E
F T S A A Y M E L S S L G S E D T A M Y Y C A R S S G Y Y P Q Y F Q D W G
Q G T L V T V S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L
V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L
S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K R V E P K S
C D K T H T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T
P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E
E Q Y N S T Y R
V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K
A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S
D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V
D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K

SEQ ID NO:354

gaaattgtga	tgacacagtc	tccaggcacc	ctgtctttgt	ctccagggca	aagagccacc	60
ctctcctgca	gggccagtc	gagtgttagc	agcagctact	tagcctggta	ccagcagaaa	120
cctggccagg	ctcccagact	cctcatgtat	ggtgcatcca	gcagggccac	tggcatccca	180
gacaggttca	gtggcagtg	gtctgggaca	gacttcactc	tcaccatcag	cagactggag	240
cctgaagatt	ttgcagtgt	ttactgtcag	cagtatggta	gctcatcgct	cactttcggc	300
ggagggacca	agctggagat	caaacgtg	gccgcaccca	gcgtgttcat	cttccccccc	360
tccgacgagc	agctgaagag	cggcaccgcc	agcgtgggtg	gcctgctgaa	caacttctac	420
ccccgggagg	ccaaggtgca	gtggaaggtg	gacaacgccc	tgcagagcgg	caacagccag	480
gagagcgtga	ccgagcagga	cagcaaggac	tccacctaca	gcctgagcag	cacctcacc	540
ctgagcaagg	ccgactacga	gaagcacaag	gtgtacgcct	gcgaggtgac	ccaccagggc	600
ctgagcagcc	ccgtgaccaa	gagcttcaac	cggggcgagt	gt		642

SEQ ID NO:355

E I V M T Q S P G T L S L S P G Q R A T L S C R A S Q S V S S S Y L A W Y
 Q Q K P G Q A P R L L M Y G A S S R A T G I P D R F S G S G S G T D F T L
 T I S R L E P E D F A V Y Y C Q Q Y G S S S L T F G G G T K L E I K R A A
 A P S V F I F P P S D E Q L K S G T A S V V C L L N N F Y P R E A K V Q W
 K V D N A L Q S G N S Q E S V T E Q D S K D S T Y S L S S T L T L S K A D
 Y E K H K V Y A C E V T H Q G L S S P V T K S F N R G E C

SEQ ID NO:356

gaggtgcagc	tggtggagtc	cggggctgag	gtgaagaagc	ctgggtcctc	ggtgaaggtc	60
tcctgcaagg	cttctggagg	catcttcaac	agttatgcta	tcagctgggt	gcgacaggcc	120
cctggacaag	ggcttgagtg	gatgggaggc	atcatcgcta	tctttcatac	accaaagtac	180
gcacagaagt	tccagggcag	agtcacgatt	accgcggacg	aatccacgaa	cacagcctac	240
atggaactga	gaagcctgaa	atctgaggac	acggccctgt	attactgtgc	gagagggctc	300
acttacgatt	tttcgagtg	ccttgactac	tggggccagg	gaaccctggt	caccgtctcg	360
agtgcctagca	ccaagggccc	cagcgtgttc	cccctggccc	ccagcagcaa	gagcaccagc	420
ggcggcacag	ccgccctggg	ctgcctgggt	aaggactact	tccccgagcc	cgtgaccgtg	480
agctggaaca	gcggcgccct	gaccagcggc	gtgcacacct	tccccgccgt	gctgcagagc	540
agcggcctgt	acagcctgag	cagcgtgggt	accgtgccca	gcagcagcct	gggcacccag	600
acctacatct	gcaacgtgaa	ccacaagccc	agcaacacca	aggtggacaa	acgcgtggag	660
cccaagagct	gcgacaagac	ccacacctgc	ccccccctgcc	ctgcccccca	gctgctgggc	720
ggaccctccg	tgttcctgtt	cccccccagg	cccaaggaca	ccctcatgat	cagccggacc	780
cccagagtga	cctgcgtggg	ggtggacgtg	agccacgagg	accccagagt	gaagttcaac	840
tggtacgtgg	acggcgtgga	ggtgcacaac	gccaagacca	agccccggga	ggagcagtag	900
aacagcacct	accgggtggg	gagcgtgttc	accgtgctgc	accaggactg	gctgaacggc	960
aaggagtaca	agtgaaggt	gagcaacaag	gcctgtgcta	cccccatcga	gaagaccatc	1020
agcaaggcca	agggccagcc	ccgggagccc	caggtgtaca	ccctgcccc	cagccgggag	1080
gagatgacca	agaaccaggt	gtccctcacc	tgtctggtga	agggcttcta	ccccagcgac	1140
atcgccgtgg	agtgggagag	caacggccag	cccgagaaca	actacaagac	cacccccct	1200
gtgctggaca	gcgacggcag	cttcttctct	tacagcaagc	tcaccgtgga	caagagccgg	1260
tggcagcagg	gcaacgtgtt	cagctgcagc	gtgatgcacg	aggccctgca	caaccactac	1320
accagaaga	gcctgagcct	gagccccggc	aag			1353

SEQ ID NO:357

E V Q L V E S G A E V K K P G S S V K V S C K A S G G I F N S Y A I S W V
 R Q A P G Q G L E W M G G I I A I F H T P K Y A Q K F Q G R V T I T A D E
 S T N T A Y M E L R S L K S E D T A L Y Y C A R G S T Y D F S S G L D Y W
 G Q G T L V T V S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C
 L V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S
 L S S V V T V P S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K R V E P K
 S C D K T H T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R
 T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R
 E E Q Y N S T Y
 R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S
 K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P
 S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T
 V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K

SEQ ID NO:358

caggcagggc	tgactcagcc	accctcgggtg	tcagtggccc	caggacagac	ggccaggatt	60
acctgtgggg	gaaacaacat	tggaagtaaa	agtgtgcaact	ggtaccagca	gaagccaggc	120
caggccccctg	tcctagtcgt	ctatgatgat	agcgaccggc	cctcagggat	ccctgagcga	180
ttctctggct	ccaactctgg	gaacacggcc	accctgacca	tcagcagggt	cgaagccggg	240
gatgaggccg	actattactg	tcagggtgtg	gatagtagta	gtgatcatgt	ggtattcggc	300
ggaggggacca	agctgaccgt	cctaggtgcg	gccgcaggcc	agcccaaggc	cgctcccagc	360
gtgaccctgt	tccccccctc	ctccgaggag	ctgcaggcca	acaaggccac	cctgggtgtgc	420
ctcatcagcg	acttctaccc	tggcgccgtg	accgtggcct	ggaaggccga	cagcagcccc	480
gtgaaggccg	gcgtggagac	caccaccccc	agcaagcaga	gcaacaacaa	gtacgccgcc	540
agcagctacc	tgagcctcac	ccccgagcag	tgggaagagcc	accggagcta	cagctgccag	600
gtgaccacag	agggcagcac	cgtggagaag	accgtggccc	ccaccgagtg	cagc	654

SEQ ID NO:359

Q A G L T Q P P S V S V A P G Q T A R I T C G G N N I G S K S V H W Y Q Q
 K P G Q A P V L V V Y D D S D R P S G I P E R F S G S N S G N T A T L T I
 S R V E A G D E A D Y Y C Q V W D S S S D H V V F G G G T K L T V L G A A
 A G Q P K A A P S V T L F P P S S E E L Q A N K A T L V C L I S D F Y P G
 A V T V A W K A D S S P V K A G V E T T T P S K Q S N N K Y A A S S Y L S
 L T P E Q W K S H R S Y S C Q V T H E G S T V E K T V A P T E C S

SEQ ID NO:360

caggtccagc	tggtgcagtc	tggggctgag	gtgaagaagc	ctgggtcctc	ggtgaaggtc	60
tcctgcaagg	cttctggagg	cttcttcagc	agctatgcta	tcagctgggt	gcgccaggcc	120
cctggacaag	gacttgagtg	gatggggggg	gtcatcccta	tctttcgtac	agcaaactac	180
gcacagaact	tccagggcag	agtcaccatt	accgcggacg	aattcacatc	gtatatggag	240
ctgagcagcc	tgagatctga	cgacacggcc	gtgtattact	gtgcgagggt	gaattaccat	300
gattcgggga	cttattataa	cgcccccccg	ggctggttcg	acccctgggg	ccagggaacc	360
ctgggtcaccg	ctcogagtgc	tagcaccaag	ggccccagcg	tgttccccct	ggccccagc	420
agcaagtgca	cacgcggcgg	cacagccgcc	ctgggtgcc	tggtgaagga	ctacttcccc	480
gagcccgtga	ccgtgagctg	gaacagcgcc	gccttgacca	gcggcgtgca	caccttcccc	540
gccgtgctgc	agagcagcgg	cctgtacagc	ctgagcagcg	tggtgaccgt	gcccagcagc	600
agcctgggca	cccagacctc	catctgcaac	gtgaaccaca	agcccagcaa	caccaagggtg	660
gacaaacgcg	tggagcccaa	gagctgcgac	aagaccacaa	cctgcccccc	ctgcctgcc	720
cccagactgc	tgggcggacc	ctccgtgttc	ctgttcccc	ccaagcccaa	ggacaccctc	780
atgatcagcc	ggacccccga	ggtgacctgc	gtggtggtgg	acgtgagcca	cgaggaccccc	840
gaggtgaagt	tcaactggta	cgtggacggc	gtggagggtg	acaacgccaa	gaccaagccc	900
cgggaggagc	agtaacaacg	cacctaccgg	gtggtgagcg	tgtcaccctg	gctgcaccag	960
gactggctga	acggcaagga	gtacaagtgc	aagggtgagca	acaaggccct	gcctgcccc	1020
atcgagaaga	ccatcagcaa	ggccaagggc	cagccccggg	agccccaggt	gtacaccctg	1080
ccccccagcc	gggaggagat	gaccaagaac	cagggtgtccc	tcacctgtct	ggtgaagggc	1140
ttctacccca	gcgacatcgc	cgtggagtgg	gagagcaacg	gccagccga	gaacaactac	1200
aagaccaccc	cccctgtgct	ggacagcgac	ggcagcttct	tcctgtacag	caagctcacc	1260
gtggacaaga	gccggtggca	gcagggcaac	gtgttcagct	gcagcgtgat	gcacgaggcc	1320
ctgcacaacc	actacacca	gaagagcctg	agcctgagcc	ccggcaag		1368

SEQ ID NO:361

Q V Q L V Q S G A E V K K P G S S V K V S C K A S G G F F S S Y A I S W V
 R Q A P G Q G L E W M G G V I P I F R T A N Y A Q N F Q G R V T I T A D E
 F T S Y M E L S S L R S D D T A V Y Y C A R L N Y H D S G T Y Y N A P R G
 W F D P W G Q G T L V T V S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T
 A A L G C L V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S
 S G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K
 R V E P K S C D K T H T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T
 L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A
 K T K P R E E Q
 Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I
 E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V
 K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L
 Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L
 S P G K

SEQ ID NO:362

gacatccaga	tgaccagtc	tccagactcc	ctggctgtgt	ctctgggcga	gaaggccacc	60
------------	-----------	------------	------------	------------	------------	----

atcaactgca	agtcacagcca	gagtatttta	aacagctcca	acaataagaa	ctacttagct	120
tggtaccagc	agaaaccagg	acagcctcct	aagctgctca	tttactgggc	atctaccg	180
gaatccgggg	tccctgaccg	attcagtggc	agcgggtctg	ggacagattt	cactctcacc	240
atcagcagcc	tgcaggctga	agatgtggca	gtttattact	gtcagcaata	ttatagtagt	300
ccgcccagct	tgcggccaag	gaccaaggtg	gaaatcaaac	gtgcggccgc	accagcgtg	360
ttcatcttcc	ccccctccga	cgagcagctg	aagagcggca	ccgccagcgt	ggtgtgcctg	420
ctgaacaact	tctacccccg	ggaggccaag	gtgcagtggg	agggtggaca	cgccctgcag	480
agcggcaaca	gccaggagag	cgtgaccgag	caggacagca	aggactccac	ctacagcctg	540
agcagcacc	tcacccctgag	caaggccgac	tacgagaagc	acaagggtgt	cgctgcgag	600
gtgaccacc	agggcctgag	cagccccgtg	accaagagct	tcaaccgggg	cgagtgt	657

SEQ ID NO:363

D I Q M T Q S P D S L A V S L G E K A T I N C K S S Q S I L N S S N N K N
Y L A W Y Q Q K P G Q P P K L L I Y W A S T R E S G V P D R F S G S G S G
T D F T L T I S S L Q A E D V A V Y Y C Q Q Y Y S S P P T F G Q G T K V E
I K R A A A P S V F I F P P S D E Q L K S G T A S V V C L L N N F Y P R E
A K V Q W K V D N A L Q S G N S Q E S V T E Q D S K D S T Y S L S S T L T
L S K A D Y E K H K V Y A C E V T H Q G L S S P V T K S F N R G E C

SEQ ID NO:364

caggtccagc	tggtgcagtc	tggagctgag	gtgaagaagc	ctgggtcctc	ggtgaaggtc	60
tcttgcaagg	cttctggagt	caccttcagt	tactatgcta	tgagctgggt	gcgacaggcc	120
cctggacaag	ggcttgagtg	gatgggagga	atcagcccta	tgtttgggac	aacaacctac	180
gcacagaagt	tccagggcag	agtcacgatt	actgcggacg	actccacgag	tacagcctac	240
atggaggtga	ggagcctgag	atctgaggac	acggccgtgt	attactgtgc	gagatcttcg	300
aattactatg	atagtgtata	tgactactgg	ggccagggaa	ccctgggtcac	cgtctcgagt	360
gctagcacca	agggccccag	cgtgttcccc	ctggccccca	gcagcaagag	caccagcggc	420
ggcacagccg	ccctgggctg	cctggtgaag	gactacttcc	ccgagcccgt	gaccgtgagc	480
tggaacagcg	gcgccttgac	cagcggcgtg	cacaccttcc	ccgccgtgct	gcagagcagc	540
ggcctgtaca	gcctgagcag	cgtggtgacc	gtgcccagca	gcagcctggg	caccagacc	600
tacatctgca	acgtgaacca	caagcccagc	aacaccaagg	tggaacaaacg	cgtggagccc	660
aagagctgog	acaagaccca	cacctgcccc	ccctgcccctg	cccccgagct	gctgggaggga	720
ccctccgtgt	tctgttcccc	ccccaaagccc	aaggacaccc	tcatgatcag	ccggaccccc	780
gaggtgacct	gcgtggtggt	ggacgtgagc	cacgaggacc	ccgaggtgaa	gttcaactgg	840
tacgtggacg	gcgtggaggt	gcacaacgcc	aagaccaagc	cccgggagga	gcagtacaac	900
agcacctacc	gggtggtgag	cgtgctcacc	gtgctgcacc	aggactggct	gaacggcaag	960
gagtacaagt	gcaaggtgag	caacaaggcc	ctgcctgccc	ccatcgagaa	gaccatcagc	1020
aaggccaagg	gccagccccg	ggagccccag	gtgtacaccc	tgccccccag	ccgggaggag	1080
atgaccaaga	accaggtgtc	cctcacctgt	ctggtgaagg	gcttctaccc	cagcgacatc	1140
gccgtggagt	gggagagcaa	cggccagccc	gagaacaaact	acaagaccac	ccccctgtg	1200
ctggacagcg	acggcagctt	cttcctgtac	agcaagctca	ccgtggacaa	gagccggtgg	1260
cagcagggca	acgtgttcag	ctgcagcgtg	atgcacgagg	ccctgcacaa	ccactacacc	1320
cagaagagcc	tgagcctgag	ccccggcaag				1350

SEQ ID NO:365

Q V Q L V Q S G A E V K K P G S S V K V S C K A S G V T F S Y Y A M S W V
R Q A P G Q G L E W M G G I S P M F G T T T Y A Q K F Q G R V T I T A D D
S T S T A Y M E V R S L R S E D T A V Y Y C A R S S N Y Y D S V Y D Y W G
Q G T L V T V S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L
V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L
S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K R V E P K S
C D K T H T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T
P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E
E Q Y N S T Y R
V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K
A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S
D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V
D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K

SEQ ID NO:366

cagtctgtcg	tgacgcagcc	gccctcggag	tcagtggccc	caggacagac	ggccaggatt	60
acctgtgggg	gacataacat	tggaagtaat	agtgtgcact	ggtaccagca	gaagccaggc	120
caggccccctg	tgctggtcgt	gtatgataat	agcgaccggc	cctcagggat	ccctgagcga	180

```

ttctctggct ccaactctgg gaacacggcc accctgacca tcagcagggt cgaagccggg 240
gatgaggccg actattactg tcaggtgtgg ggtagtagta gtgaccatta tgtcttcgga 300
actgggacca aggtcacctg cctaggtgcg gcgcaggcc agcccaaggc cgctcccagc 360
gtgacctgtg tccccccctc ctccgaggag ctgcaggcca acaaggccac cctgggtgtgc 420
ctcatcagcg actttctacc tggcgccgtg accgtggcct ggaaggccga cagcagcccc 480
gtgaaggccg gcgtggagac caccaccccc agcaagcaga gcaacaacaa gtacgccgcc 540
agcagctacc tgagcctcac ccccgagcag tggaagagcc accggagcta cagctgccag 600
gtgaccacag agggcagcac cgtggagaag accgtggccc ccaccgagtg cagc 654

```

SEQ ID NO:367

Q S V V T Q P P S E S V A P G Q T A R I T C G G H N I G S N S V H W Y Q Q
K P G Q A P V L V V Y D N S D R P S G I P E R F S G S N S G N T A T L T I
S R V E A G D E A D Y Y C Q V W G S S S D H Y V F G T G T K V T V L G A A
A G Q P K A A P S V T L F P P S S E E L Q A N K A T L V C L I S D F Y P G
A V T V A W K A D S S P V K A G V E T T T P S K Q S N N K Y A A S S Y L S
L T P E Q W K S H R S Y S C Q V T H E G S T V E K T V A P T E C S

TABELA 1

AMPLIFICAÇÕES VCAPA, VLAMBDA E VH DA PRIMEIRA SÉRIE

Nome do iniciador	Sequência de nucleotídeos do iniciador.	SEQ ID NO:
OK1 (HuVK1B)	GAC ATC CAG WTG ACC CAG TCT CC	144
OK2 (HuVK2)	GAT GTT GTG ATG ACT CAG TCT CC	145
OK3 (HuVK2B2)	GAT ATT GTG ATG ACC CAG ACT CC	146
OK4 (HuVK3B)	GAA ATT GTG WTG ACR CAG TCT CC	147
OK5 (HuVK5)	GAA ACG ACA CTC ACG CAG TCT CC	148
OK6 (HuVK6)	GAA ATT GTG CTG ACT CAG TCT CC	149
OCK (HuCK)	ACA CTC TCC CCT GTT GAA GCT CTT	150
OL1 (HuVL1A)*	CAG TCT GTG CTG ACT CAG CCA CC	151
OL1 (HuVL1B)*	CAG TCT GTG YTG ACG CAG CCG CC	152
OL1 (HuVL1C)*	CAG TCT GTC GTG ACG CAG CCG CC	153
OL2 (HuVL2B)	CAG TCT GCC CTG ACT CAG CC	154
OL3 (HuVL3A)	TCC TAT GWG CTG ACT CAG CCA CC	155
OL4 (HuVL3B)	TCT TCT GAG CTG ACT CAG GAC CC	156
OL5 (HuVL4B)	CAG CYT GTG CTG ACT CAA TC	157
OL6 (HuVL5)	CAG GCT GTG CTG ACT CAG CCG TC	158
OL7 (HuVL6)	AAT TTT ATG CTG ACT CAG CCC CA	159
OL8 (HuVL7/8)	CAG RCT GTG GTG ACY CAG GAG CC	160
OL9 (HuVL9)#	CWG CCT GTG CTG ACT CAG CCM CC	161
OL9 (HuVL10)#	CAG GCA GGG CTG ACT CAG	162
OCL (HuCL2)X	TGA ACA TTC TGT AGG GGC CAC TG	163
OCL (HuCL7)X	AGA GCA TTC TGC AGG GGC CAC TG	164
OH1(HuVH1B7A)+	CAG RTG CAG CTG GTG CAR TCT GG	165
OH1 (HuVH1C)+	SAG GTC CAG CTG GTR CAG TCT GG	166
OH2 (HuVH2B)	CAG RTC ACC TTG AAG GAG TCT GG	167
OH3 (HuVH3A)	GAG GTG CAG CTG GTG GAG	168
OH4 (HuVH3C)	GAG GTG CAG CTG GTG GAG WCY GG	169
OH5 (HuVH4B)	CAG GTG CAG CTA CAG CAG TGG GG	170
OH6 (HuVH4C)	CAG STG CAG CTG CAG GAG TCS GG	171
OH7 (HuVH6A)	CAG GTA CAG CTG CAG CAG TCA GG	172
OCM (HuCIgM)	TGG AAG AGG CAC GTT CTT TTC TTT	173

* Mistura na relação 1:1:1

Mistura na relação 1:1

X Mistura na relação 1:1

+ Mistura na relação 1:1

TABELA 2

AMPLIFICAÇÕES VCAPA, VLAMBDA E VH DA SEGUNDA SÉRIE

Nome do iniciador	Sequência de nucleotídeos do iniciador	SEQ ID NO
OK1S (HuVK1B-SAL)	TGA GCA CAC AGG TCG ACG GAC ATC CAG WTG ACC CAG TCT CC	174
OK2S (HuVK2-SAL)	TGA GCA CAC AGG TCG ACG GAT GTT GTG ATG ACT CAG TCT CC	175
OK3S (HuVK2B2-SAL)	TGA GCA CAC AGG TCG ACG GAT ATT GTG ATG ACC CAG ACT CC	176
OK4S (HuVK3B-SAL)	TGA GCA CAC AGG TCG ACG GAA ATT GTG WTG ACR CAG TCT CC	177
OK5S (HuVK5-SAL)	TGA GCA CAC AGG TCG ACG GAA ACG ACA CTC ACG CAG TCT CC	178
OK6S (HuVK6-SAL)	TGA GCA CAC AGG TCG ACG GAA ATT GTG CTG ACT CAG TCT CC	179
OJK1 (HuJK1-NOT)	GAG TCA TTC TCG ACT TGC GGC CGC ACG TTT GAT TTC CAC CTT GGT CCC	180
OJK2 (HuJK2-NOT)	GAG TCA TTC TCG ACT TGC GGC CGC ACG TTT GAT CTC CAG CTT GGT CCC	181
OJK3 (HuJK3-NOT)	GAG TCA TTC TCG ACT TGC GGC CGC ACG TTT GAT ATC CAC TTT GGT CCC	182
OJK4 (HuJK4-NOT)	GAG TCA TTC TCG ACT TGC GGC CGC ACG TTT GAT CTC CAC CTT GGT CCC	183
OJK5 (HuJK5-NOT)	GAG TCA TTC TCG ACT TGC GGC CGC ACG TTT AAT CTC CAG TCG TGT CCC	184
OL1S (HuVL1A-SAL)*	TGA GCA CAC AGG TCG ACG CAG TCT GTG CTG ACT CAG CCA CC	185
OL1S (HuVL1B-SAL)*	TGA GCA CAC AGG TCG ACG CAG TCT GTG YTG ACG CAG CCG CC	186
OL1S (HuVL1C-SAL)*	TGA GCA CAC AGG TCG ACG CAG TCT GTC GTG ACG CAG CCG CC	187
OL2S (HuVL2B-SAL)	TGA GCA CAC AGG TCG ACG CAG TCT GCC CTG ACT CAG CC	188
OL3S (HuVL3A-SAL)	TGA GCA CAC AGG TCG ACG TCC TAT GWG CTG ACT CAG CCA CC	189
OL4S (HuVL3B-SAL)	TGA GCA CAC AGG TCG ACG TCT TCT GAG CTG ACT CAG GAC CC	190
OL5S (HuVL4B-SAL)	TGA GCA CAC AGG TCG ACG CAG CYT GTG CTG ACT CAA TC	191
OL6S (HuVL5-SAL)	TGA GCA CAC AGG TCG ACG CAG GCT GTG CTG ACT CAG CCG TC	192
OL7S (HuVL6-SAL)	TGA GCA CAC AGG TCG ACG AAT TTT ATG CTG ACT CAG CCC CA	193
OL8S (HuVL7/8-SAL)	TGA GCA CAC AGG TCG ACG CAG RCT GTG GTG ACY CAG GAG CC	194
OL9S (HuVL9-SAL)#	TGA GCA CAC AGG TCG ACG CWG CCT GTG CTG ACT CAG CCM CC	195
OL9S (HuVL10-SAL)#	TGA GCA CAC AGG TCG ACG CAG GCA GGG CTG ACT CAG	196
OJL1 (HuJL1-NOT)	GAG TCA TTC TCG ACT TGC GGC CGC ACC TAG GAC GGT GAC CTT GGT CCC	197
OJL2 (HuJL2/3-NOT)	GAG TCA TTC TCG ACT TGC GGC CGC ACC TAG GAC GGT CAG CTT GGT CCC	198

OJL3 (HuJL7-NOT)	GAG TCA TTC TCG ACT TGC GGC CGC ACC GAG GAC GGT CAG CTG GGT GCC	199
OH1S (HuVH1B-SFI)+	GTC CTC GCA ACT GCG GCC CAG CCG GCC ATG GCC CAG RTG CAG CTG GTG CAR TCT GG	200
OH1S (HuVH1C-SFI)+	GTC CTC GCA ACT GCG GCC CAG CCG GCC ATG GCC SAG GTC CAG CTG GTR CAG TCT GG	201
OH2S (HuVH2B-SFI)	GTC CTC GCA ACT GCG GCC CAG CCG GCC ATG GCC CAG RTC ACC TTG AAG GAG TCT GG	202
OH3S (HuVH3A-SFI)	GTC CTC GCA ACT GCG GCC CAG CCG GCC ATG GCC GAG GTG CAG CTG GTG GAG	203
OH4S (HuVH3C-SFI)	GTC CTC GCA ACT GCG GCC CAG CCG GCC ATG GCC GAG GTG CAG CTG GTG GAG WCY GG	204
OH5S (HuVH4B-SFI)	GTC CTC GCA ACT GCG GCC CAG CCG GCC ATG GCC CAG GTG CAG CTA CAG CAG TGG GG	205
OH6S (HuVH4C-SFI)	GTC CTC GCA ACT GCG GCC CAG CCG GCC ATG GCC CAG STG CAG CTG CAG GAG TCS GG	206
OH7S (HuVH6A-SFI)	GTC CTC GCA ACT GCG GCC CAG CCG GCC ATG GCC CAG GTA CAG CTG CAG CAG TCA GG	207
OJH1 (HuJH1/2-XHO)	GAG TCA TTC TCG ACT CGA GAC RGT GAC CAG GGT GCC	208
OJH2 (HuJH3-XHO)	GAG TCA TTC TCG ACT CGA GAC GGT GAC CAT TGT CCC	209
OJH3 (HuJH4/5-XHO)	GAG TCA TTC TCG ACT CGA GAC GGT GAC CAG GGT TCC	210
OJH4 (HuJH6-XHO)	GAG TCA TTC TCG ACT CGA GAC GGT GAC CGT GGT CCC	211

* Mistura na relação 1:1:1

Mistura na relação 1:1

+ Mistura na relação 1:1

TABELA 3

VISTA GERAL DA AMPLIFICAÇÃO DAS REGIÕES VL DE SEGUNDA

SÉRIE

Gabarito	iniciador 5'	iniciador 3'	Produto	Compartilhar em PK/PL (%)	Grupo	Compartilhar em VL (%)
K1	OK1S	OJK1	K1J1	25	PK1	30
	OK1S	OJK2	K1J2	25		
	OK1S	OJK3	K1J3	10		
	OK1S	OJK4	K1J4	25		
	OK1S	OJK5	K1J5	15		
K2	OK2S	OJK1	K2J1	25	PK2	4
	OK2S	OJK2	K2J2	25		
	OK2S	OJK3	K2J3	10		
	OK2S	OJK4	K2J4	25		

	OK2S	OJK5	K2J5	15		
K3	OK3S	OJK1	K3J1	25	PK3	1
	OK3S	OJK2	K3J2	25		
	OK3S	OJK3	K3J3	10		
	OK3S	OJK4	K3J4	25		
	OK3S	OJK5	K3J5	15		
K4	OK4S	OJK1	K4J1	25	PK4	19
	OK4S	OJK2	K4J2	25		
	OK4S	OJK3	K4J3	10		
	OK4S	OJK4	K4J4	25		
	OK4S	OJK5	K4J5	15		
K5	OK5S	OJK1	K5J1	25	PK5	1
	OK5S	OJK2	K5J2	25		
	OK5S	OJK3	K5J3	10		
	OK5S	OJK4	K5J4	25		
	OK5S	OJK5	K5J5	15		
K6	OK6S	OJK1	K6J1	25	PK6	5
	OK6S	OJK2	K6J2	25		
	OK6S	OJK3	K6J3	10		
	OK6S	OJK4	K6J4	25		
	OK6S	OJK5	K6J5	15		
L1	OL1S	OJL1	L1J1	30	PL1	14
	OL1S	OJL2	L1J2	60		
	OL1S	OJL3	L1J3	10		
L2	OL2S	OJL1	L2J1	30	PL2	10
	OL2S	OJL2	L2J2	60		
	OL2S	OJL3	L2J3	10		
L3	OL3S	OJL1	L3J1	30	PL3	10
	OL3S	OJL2	L3J2	60		
	OL3S	OJL3	L3J3	10		
L4	OL4S	OJL1	L4J1	30	PL4	1
	OL4S	OJL2	L4J2	60		
	OL4S	OJL3	L4J3	10		
L5	OL5S	OJL1	L5J1	30	PL5	1
	OL5S	OJL2	L5J2	60		
	OL5S	OJL3	L5J3	10		
L6	OL6S	OJL1	L6J1	30	PL6	1
	OL6S	OJL2	L6J2	60		
	OL6S	OJL3	L6J3	10		
L7	OL7S	OJL1	L7J1	30	PL7	1
	OL7S	OJL2	L7J2	60		
	OL7S	OJL3	L7J3	10		
L8	OL8S	OJL1	L8J1	30	PL8	1
	OL8S	OJL2	L8J2	60		
	OL8S	OJL3	L8J3	10		
L9	OL9S	OJL1	L9J1	30	PL9	1
	OL9S	OJL2	L9J2	60		
	OL9S	OJL3	L9J3	10		
					VL	100%

TABELA 4

VISTA GERAL DA AMPLIFICAÇÃO DAS REGIÕES VH DE SEGUNDA

SÉRIE

Gabarito	iniciador 5'	iniciador 3'	Produto	Compartilhar em PK/PL (%)	Grupo	Compartilhar em VH (%)
H1	OH1S	OJH1	H1J1	10	PH1	25
	OH1S	OJH2	H1J2	10		
	OH1S	OJH3	H1J3	60		
	OH1S	OJH4	H1J4	20		
H2	OH2S	OJH1	H2J1	10	PH2	2
	OH2S	OJH2	H2J2	10		
	OH2S	OJH3	H2J3	60		
	OH2S	OJH4	H2J4	20		
H3	OH3S	OJH1	H3J1	10	PH3	25
	OH3S	OJH2	H3J2	10		
	OH3S	OJH3	H3J3	60		
	OH3S	OJH4	H3J4	20		
H4	OH4S	OJH1	H4J1	10	PH4	25
	OH4S	OJH2	H4J2	10		
	OH4S	OJH3	H4J3	60		
	OH4S	OJH4	H4J4	20		
H5	OH5S	OJH1	H5J1	10	PH5	2
	OH5S	OJH2	H5J2	10		
	OH5S	OJH3	H5J3	60		
	OH5S	OJH4	H5J4	20		
H6	OH6S	OJH1	H6J1	10	PH6	20
	OH6S	OJH2	H6J2	10		
	OH6S	OJH3	H6J3	60		
	OH6S	OJH4	H6J4	20		
H7	OH7S	OJH1	H7J1	10	PH7	1
	OH7S	OJH2	H7J2	10		
	OH7S	OJH3	H7J3	60		
	OH7S	OJH4	H7J4	20		
					VH	100%

TABELA 5

CARACTERÍSTICAS DAS BIBLIOTECAS DE CÉLULAS B DE MEMÓRIA DE IgM INDIVIDUAIS

Bibliotecas de memória de IgM						
Doador	Células		Bibliotecas			
	PBL Total (x10 ⁶)	% das células B de memória	Tamanho (x10 ⁶)	% de frequência do inserto	% de ORF	% Único
Indivíduo 1			3	96	74	98
Indivíduo 2	72,5	1,7	5	98	79	98
Indivíduo 3	67,5	1,4	3	96	79	98
Indivíduo 4	132,5	2,3	6	98	69	99

5 TABELA 6

DADOS DOS Fvs DE CADEIA ÚNICA ESPECÍFICA DO HÁ

Nome <i>scFv</i>	SEQ ID NO (sequência núcleo)	SEQ ID NO (sequência de aminoácidos) *	lócus da VH	lócus da VL
SC06-141	212	213 (Vh 1-115; VI 132-245)	VH1 (1-18)	VKIV (B3)
SC06-255	115	116 (Vh 1-121; VI 138-248)	VH1 (1-69)	VL1 (V1-16)
SC06-257	117	118 (Vh 1-121; VI 138-248)	VH1 (1-69)	VL2 (V1-4)
SC06-260	119	120 (Vh 1-121; VI 138-248)	VH1 (1-69)	VL1 (V1-17)
SC06-261	121	122 (Vh 1-121; VI 138-249)	VH1 (1-69)	VL1 (V1-19)
SC06-262	123	124 (Vh 1-120; VI 137-245)	VH1 (1-69)	VKI (A20)
SC06-268	125	126 (Vh 1-120; VI 137-243)	VH1 (1-69)	VL3 (V2-1)
SC06-272	214	215 (Vh 1-120; VI 137-247)	VH1 (1-69)	VL2 (V1-3)
SC06-296	216	217 (Vh 1-121; VI 138-246)	VH1 (1-2)	VKIII (A27)
SC06-301	218	219 (Vh 1-117; VI 134-246)	VH1 (3-23)	VKII (A3)
SC06-307	127	128 (Vh 1-122; VI 139-246)	VH3 (3-21)	VKIII (A27)
SC06-310	129	130 (Vh 1-121; VI 138-246)	VH1 (1-69)	VL3 (V2-14)
SC06-314	131	132 (Vh 1-121; VI 138-248)	VH1 (1-69)	VL1 (V1-17)
SC06-323	133	134 (Vh 1-120; VI 137-245)	VH1 (1-69)	VKIII (A27)
SC06-325	135	136 (Vh 1-121; VI 138-248)	VH1 (1-69)	VL2 (V1-4)
SC06-327	220	221 (Vh 1-121; VI 138-246)	VH1 (1-69)	VL3 (V2-14)
SC06-328	222	223 (Vh 1-128; VI 145-252)	VH1 (1-69)	VKIII (A27)

SC06-329	224	225 (Vh 1-121; VI 138-246)	VH1 (1-69)	VKIII (A27)
SC06-331	137	138 (Vh 1-120; VI 137-245)	VH1 (1-69)	VL3 (V2-14)
SC06-332	226	227 (Vh 1-120; VI 137-243)	VH1 (1-69)	VKI (A20)
SC06-334	228	229 (Vh 1-120; VI 137-245)	VH1 (1-69)	VL3 (V2-14)
SC06-336	230	231 (Vh 1-120; VI 137-245)	VH1 (1-69)	VKIII (A27)
SC06-339	232	233 (Vh 1-121; VI 138-246)	VH1 (1-69)	VL3 (V2-14)
SC06-342	234	235 (Vh 1-126; VI 143-256)	VH1 (1-69)	VKIV (B3)
SC06-343	236	237 (Vh 1-120; VI 137-245)	VH1 (1-69)	VL3 (V2-14)
SC06-344	139	140 (Vh 1-123; VI 140-250)	VH1 (1-69)	VL1 (V1-13)

* entre os parênteses os aminoácidos que compõem a região variável de cadeia pesada (VH) e a região variável de cadeia leve (VL) são apresentadas.

TABELA 7

DADOS DAS REGIÕES CDR DAS IMUNOGLOBULINAS ESPECÍFICAS

DA HA. A SEQ ID NO: É FORNECIDA ENTRE PARÊNTESES.

Nome scFv	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
SC06-141	GYVYV (238)	WISAYNGNT NYAQKFQG (239)	SRSLDV (240)	KSSQSVLYS SNNKNYLA (241)	WASTRE S (242)	QYYSTP LT (243)
SC06-255	SYAIS (1)	GIPIFGTTK YAPKFQG (2)	HMGYQVR ETMDV (3)	SGSTFNIGSN AVD (4)	SNNQRPS (5)	AAWDDIL NVPV (6)
SC06-257	SYAIS (1)	GIPIFGTTK YAPKFQG (2)	HMGYQVR ETMDV (3)	TGTSSDVGG YNYVS (7)	EVSNRPS (8)	SSYTSSST YV (9)
SC06-260	SYAIS (1)	GIPIFGTTK YAPKFQG (2)	HMGYQVR ETMDV (3)	SGSRNVGD NSVY (10)	KNTQRP S (11)	VAWDDS VDGYV (12)
SC06-261	SYAIS (1)	GIPIFGTTK YAPKFQG (2)	HMGYQVR ETMDV (3)	SGSSSNIGND YVS (13)	DNNKRP S (14)	ATWDRRP TAYVV (15)
SC06-262	GSAIS (16)	GISPLFGTTN YAQKFQG (17)	GPKYYSEY MDV (18)	RASQGISSYL A (19)	DASTLRS (20)	QRYNSAP PIT (21)
SC06-268	SYAIS (1)	GIMGMFGTTNY AQKFQG (22)	SSGYYPEY FQD (23)	SGHKLGDG YVS (24)	QDNRRP S (25)	QAWDSST AV (26)

SC06-272	SYAIT (244)	GIIGMFGSTN YAQNFQG (245)	STGYYPAY LHH (246)	TGTSSDVGG YNYVS (247)	DVSKRPS (248)	SSYTSSST HV (249)
SC06-296	SYMH (250)	WINPNSGGT NYAQKFQG (251)	EGKWGPQ AAFDI (252)	RASQSVSSS YLA (253)	DASSRA T (254)	QQYGSSL W (255)
SC06-301	IYAMS (256)	AISSSGDSTY YADSVKG (257)	AYGYTFDP (258)	RSSQSLLHS NGYNYLD (259)	LGSNRA S (260)	MQALQTP L (261)
SC06-307	SYSMN (27)	SISSSSSYIYY VDSVKG (28)	GGGSYGA YEGFDY (29)	RASQRVSSY LA (30)	GASTRA A (31)	QQYGRTP LT (32)
SC06-310	SYAIS (1)	GIPIFGTTK YAPKFQG (2)	HMGYQVR ETMDV (3)	GGNNIGSKS VH (33)	DDSDRPS (34)	QVWDSSS DHAV (35)
SC06-314	SYAIS (1)	GIPIFGTTK YAPKFQG (2)	HMGYQVR ETMDV (3)	SGSSSNIGSN YVY (36)	RDGQRP S (37)	ATWDDN LSGPV (38)
SC06-323	SYGIS (39)	DIIGMFGSTN YAQNFQG (40)	SSGYYPAY LPH (41)	RASQSVSSS YLA (42)	GASSRA T (43)	QQYGSSP RT (44)
SC06-325	FYSMS (45)	GIIPMFGTTN YAQKFQG (46)	GDKGIYY YYMDV (47)	TGTSSDVGG YNYVS (7)	EVSNRPS (8)	SSYTSSST LV (48)
SC06-327	THAIS (262)	GIIAIFGTAN YAQKFQG (263)	GSGYHIST PFDN (264)	GGNNIGSKG VH (265)	DDSDRPS (266)	QVWDSSS DHVV (267)
SC06-328	GYAIS (268)	GIPIFGTTN YAQKFQG (269)	VKDGICT LTSCPVG WYFDL (270)	RASQSVSSS YLA (271)	GASSRA T (272)	QQYGSSL T (273)
SC06-329	SNSIS (274)	GIFALFGTTD YAQKFQG (275)	GSGYTTRN YFDY (276)	RASQSVSSN YLG (277)	GASSRAS (278)	QQYGSSP LT (279)
SC06-331	SYAIS (1)	GIIGMFGTA NYAQKFQG (49)	GNYYYESS LDY (50)	GGNNIGSKS VH (33)	DDSDRPS (34)	QVWDSSS DHYV (51)
SC06-332	NFAIN (280)	GILAVFGTTK YAHKFQG (281)	GPHYYSY MDV (282)	RASQGISTY LA (283)	AASTLQS (284)	QKYNAPS S (285)
SC06-334	SNAVS (286)	GILGVFGSPS YAQKFQG (287)	GPTYYYSY MDV (288)	GGNNIGRNS VH (289)	DDSDRPS (290)	QVWHSSS DHYV (291)
SC06-336	SYAIS (292)	GIFGMFGTA NYAQKFQG (293)	SSGYYPQY FQD (294)	RASQSVSSS YLA (295)	GASSRA T (296)	QQYGSSS LT (297)
SC06-339	SYAIS (298)	GIIAIFHTPK YAQKFQG (299)	GSTYDFSS GLDY (300)	GGNNIGSKS VH (301)	DDSDRPS (302)	QVWDSSS DHVV (303)
SC06-342	SYAIS (304)	GVIPIFRTAN YAQNFQG (305)	LNHYHDSG TYYNAPR GWFD (306)	KSSQSILNSS NNKNYLA (307)	WASTRE S (308)	QQYYSSP PT (309)
SC06-343	YYAMS (310)	GISPMFGTTT YAQKFQG (311)	SSNYYSV YDY (312)	GGHNIGSNS VH (313)	DNSDRPS (314)	QVWGSSS DHYV (315)

SC06-344	NYAMS (52)	GIIAIFGTPK YAQKFQG (53)	IPHYNFGS GSYFDY (54)	TGSSSNIGA GYDVH (55)	GNSNRPS (56)	GTWDSSL SAYV (57)
----------	---------------	-------------------------------	----------------------------	-------------------------	-----------------	----------------------

TABELA 8

DADOS DOS IgGs ESPECÍFICOS DA HA

Nome IgG	SEQ ID NO: da sequência núcleo	SEQ ID NO: da sequência de aminoácidos* cadeia pesada	SEQ ID NO: da sequência núcleo cadeia leve	SEQ ID NO: da sequência aminoácidos* cadeia leve
CR6141	316	317 (Vh 1-115)	318	319 (Vl 1-114)
CR6255	58	59 (Vh 1-121)	84	85 (Vl 1-111)
CR6257	60	61 (Vh 1-121)	86	87 (Vl 1-111)
CR6260	62	63 (Vh 1-121)	88	89 (Vl 1-111)
CR6261	64	65 (Vh 1-121)	90	91 (Vl 1-112)
CR6262	66	67 (Vh 1-120)	92	93 (Vl 1-109)
CR6268	68	69 (Vh 1-120)	94	95 (Vl 1-107)
CR6272	320	321 (Vh 1-120)	322	323 (Vl 1-111)
CR6296	324	325 (Vh 1-121)	326	327 (Vl 1-109)
CR6301	328	329 (Vh 1-117)	330	331 (Vl 1-113)
CR6307	70	71 (Vh 1-122)	96	97 (Vl 1-108)
CR6310	72	73 (Vh 1-121)	98	99 (Vl 1-109)
CR6314	74	75 (Vh 1-121)	100	101 (Vl 1-111)
CR6323	76	77 (Vh 1-120)	102	103 (Vl 1-109)
CR6325	78	79 (Vh 1-121)	104	105 (Vl 1-111)
CR6327	332	333 (Vh 1-121)	334	335 (Vl 1-109)
CR6328	336	337 (Vh 1-128)	338	339 (Vl 1-108)
CR6329	340	341 (Vh 1-121)	342	343 (Vl 1-109)
CR6331	80	81 (Vh 1-120)	106	107 (Vl 1-109)
CR6332	344	345 (Vh 1-120)	346	347 (Vl 1-107)
CR6334	348	349 (Vh 1-120)	350	351 (Vl 1-109)
CR6336	352	353 (Vh 1-120)	354	355 (Vl 1-109)

CR6339	356	357 (Vh 1-121)	358	359 (Vl 1-109)
CR6342	360	361 (Vh 1-126)	362	363 (Vl 1-114)
CR6343	364	365 (Vh 1-120)	366	367 (Vl 1-109)
CR6344	82	83 (Vh 1-123)	108	109 (Vl 1-111)

* entre parênteses os aminoácidos que compõem a região variável de cadeia pesada (VH) e a região variável de cadeia leve (VL) são mostrados.

TABELA 9

LIGAÇÃO DOS IgGs ÀS CÉLULAS PER.C6 EXPRESSANDO HA (H5N1TV)

Anticorpo	células PER.C6 expressando HA (H5N1TV),			Células PER.C6 de controle		
	10 µg/ml	1 µg/ml	0,1 µg/ml	10 µg/ml	1 µg/ml	0,1 µg/ml
CR6255	414,18	257,13	60,43	3,16	2,64	2,48
CR6257	365,17	283,87	62,08	2,59	2,44	2,53
CR6260	323,42	168,49	31,06	5,42	3,34	2,57
CR6261	330,77	278,81	85,82	29,43	13,22	3,89
CR6262	84,29	20,91	8,06	2,71	2,53	2,48
CR6268	421,70	218,70	43,71	3,82	2,74	2,50
CR6307	484,78	266,55	82,42	4,87	3,02	2,48
CR6314	399,54	166,98	44,51	5,99	3,49	2,64
CR6323	445,08	116,52	33,38	5,05	2,92	2,71
CR6325	478,29	239,28	64,36	4,00	3,11	2,57
CR6344	768,25	328,16	106,65	80,90	26,33	10,17
CR3014	13,10	10,00	6,21	3,11	2,69	2,55
CR6310*	597,04	290,93	86,91	14,92	6,05	4,42
CR6331*	421,14	165,43	41,04	7,87	4,59	4,55
CR3014*	9,15	7,95	10,51	4,74	4,12	4,57

* Indica as análises de FACS que foram realizadas em uma experiência separada.

TABELA 10

5 POTÊNCIA DOS ANTICORPOS ANTI-HA NO ENSAIO DE TITULAÇÃO DE ANTICORPO DE NEUTRALIZAÇÃO

Anticorpo	Concentração (µg/ml)
CR6255	25
CR6257	12,5
CR6260	12,5
CR6261	12,5
CR6262	100
CR6268	50
CR6307	50
CR6314	12,5
CR6323	50
CR6325	12,5
CR6344	25

CR6310	25
CR6331	100
CR4098	.*

* Em 50 µg/ml nenhuma neutralização foi observada

TABELA 11

POTÊNCIA DOS ANTICORPOS ANTI-HA NO ENSAIO DE TITULAÇÃO DE ANTICORPO DE NEUTRALIZAÇÃO

Anticorpo	Concentração (µg/ml)
CR6255	3,12
CR6257	1,56
CR6260	3,12
CR6261	0,78
CR6262	25
CR6268	6,25
CR6272	-
CR6307	25
CR6310	6,25
CR6314	3,12
CR6323	6,25
CR6325	6,25
CR6327	6,25
CR6328	25
CR6329	3,12
CR6331	25
CR6332	12,5
CR6334	6,25
CR6336	25
CR6339	-
CR6342	6,25
CR6343	50
CR6344	25

- significa que em 100 µg/ml nenhuma neutralização foi observada

5

TABELA 12

REATIVIDADE CRUZADA DOS IgGs ANTI-H5N1 ÀS MOLÉCULAS DE DIFERENTES SUBTIPOS DE HA, MEDIDA POR ELISA (OD 492 nm).

ND: Não determinado

	H1	H3	H5	H7	H9	A/NC/20/99 (H1N1) inativado por BPL	NIBRG14 (H5N1) inativado por BPL
CR6255	1,91	0,08	1,44	0,22	1,97	1,38	1,18
CR6257	1,93	0,08	1,37	0,16	2,06	1,34	1,21
CR6260	1,88	0,08	1,45	0,19	2,00	1,34	1,17
CR6261	2,04	0,07	1,44	0,31	2,32	1,46	1,41
CR6262	1,48	0,09	1,02	0,17	1,93	0,51	0,35
CR6268	1,78	0,08	1,30	0,15	2,16	1,39	1,13
CR6272	0,81	0,07	0,58	0,15	0,96	0,92	0,79
CR6307	0,22	0,11	0,99	0,22	0,17	0,23	0,50

CR6310	1,92	0,08	1,37	0,18	2,17	1,31	1,00
CR6314	1,93	0,07	1,48	0,25	2,21	1,37	1,42
CR6323	2,32	0,07	1,89	0,15	2,27	1,40	0,93
CR6325	1,42	0,07	1,30	0,17	2,04	1,09	1,20
CR6327	1,75	0,08	1,11	0,14	1,93	1,16	0,73
CR6328	2,43	0,07	1,78	0,16	2,38	1,39	0,98
CR6329	1,98	0,08	1,43	0,17	2,16	1,04	1,01
CR6331	1,75	0,06	1,32	0,16	2,02	1,25	0,92
CR6332	2,20	0,15	1,65	0,26	2,11	1,20	1,11
CR6334	2,04	0,07	1,19	0,15	1,82	1,13	0,91
CR6336	1,92	0,10	1,41	0,18	2,02	1,09	0,94
CR6339	1,25	0,07	0,81	0,14	1,96	0,94	0,50
CR6342	1,99	0,09	1,25	0,17	2,13	1,32	0,90
CR6343	1,28	0,07	0,76	0,15	1,88	0,91	0,64
CR6344	1,80	0,09	1,31	0,18	2,15	1,31	0,96
CR5111	0,08	0,07	1,57	0,15	0,17	0,09	0,81
CR3014	0,08	0,07	0,09	0,17	0,16	0,09	0,11
nenhum IgG	0,13	0,08	0,09	0,15	0,16	0,09	0,14
anti-H5 de carneiro	ND	ND	ND	0,90	2,07	2,62	2,93

TABELA 13

MAPEAMENTO DO EPÍTOPO DOS ANTICORPOS ANTI-HA
HUMANOS

	HA1	HA2	CR511 1	CR6342 C179	CR6307 CR6323	CR6261 CR6325 CR6329
H5N1TV	TGLRN	GVTNKVNSIIDK	+	+	+	+
Mutante I	K----	-----	+	-	+	+
Mutante II	----	----E----	+	-	+	-
Mutante III	--M--	-----	+	+	+	+
Mutante IV	----	-----R----	+	-	+	+
Mutante V	----	-----N-	+	+	+	+

TABELA 14

CLASSIFICAÇÕES CLÍNICAS DE CAMUNDONGOS PRÉ-TRATADOS COM ANTICORPO, SEGUIDO POR UM DESAFIO LETAL COM O VÍRUS H5N1 DA INFLUENZA

Número de camundongos apresentando sinais clínicos ^a																								
		Dia do estudo																						
Grupo	ID dose de Ab (mg/kg)	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
1	CF8281-15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	CF8281-5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2/9	2/9	1/8	0/7	0/7	0/7	0/7	0/7	0/7	0/7	0/7	0/7
3	CF8281-2	0	0	0	0	0	0	0	0	2	5	5	4/9	3/9	0/7	0/7	0/7	0/7	0/7	0/7	0/7	0/7	0/7	0/7
4	CF8281-0.7	0	0	0	0	0	0	0	0	10	10	8/8	7/7	6/6	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	1/4	1/4	1/4	1/4
5	CF8323-15	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9
6	CF8325-15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	RaH5N3	0	0	0	0	0	0	0	0	6	10	10	6/6	1/1	1/1	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
8	CF3014-15	0	0	0	0	0	10	10	10	9/9	5/5	1/1	1/1	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0

^a dos 10, a menos que de outra forma indicado

TABELA 16
CLASSIFICAÇÕES CLÍNICAS DOS CAMUNDONGOS INFECCIONADOS COM O VÍRUS H5N1 E TRATADOS COM
ANTICORPO EM DIFERENTES PONTOS DO TEMPO APÓS A INFECÇÃO

		Número de camundongos apresentando sinais clínicos ^a																						
		Dia do Estudo																						
Grupo ID	Intervalo de tempo p.i	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
1	4h	0	0	0	4	4	2	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	1d	0	0	0	10	10	10	10	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	2d	0	0	0	3	10	10	10	10	8	0	0	8	6	4	2	0	0	0	0	0	0	0	0
4	3d	0	0	0	6	6	10	10	10	10	10	10	10	10	3	3	2	0	0	0	0	0	0	0
5	CR2006	0	0	0	3	7	10	10	10	10	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

^a com 14 camundongos nos grupos 2 e 5 até o sexto dia após a infecção.

TABELA 17
ANGÚSTIA RESPIRATÓRIA DOS CAMUNDONGOS INFECTADOS COM O VÍRUS H5N1 E TRATADOS COM
ANTICORPO EM DIFERENTES PONTOS DO TEMPO APÓS A INFECÇÃO

		Número de camundongos vivos em cada dia do estudo																						
		Dia do estudo																						
Grupo ID	Intervalo de tempo p.i.	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
1	4 h	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	1 d	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	2 d	0	0	0	0	0	0	10	10	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	3 d	0	0	0	0	0	0	10	10	5	0	7	4	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	CR2006	0	0	0	0	0	0	10	10	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

^a classificação 3

TABELA 18

MORTALIDADE DOS CAMUNDONGOS INFECCIONADOS COM O VÍRUS H5N1 E TRATADOS COM ANTICORPO
EM DIFERENTES PONTOS DO TEMPO APÓS A INFECÇÃO

		Número de camundongos vivos em cada dia do estudo																						
		Dia do estudo																						
Grupo ID	Intervalo de tempo p.i.	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
1	4 h	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
2	1 d	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
3	2 d	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
4	3 d	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
5	CR2006	10	10	10	10	10	10	10	10	6	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

TABELA 19

MORTALIDADE DOS CAMUNDONGOS INFECCIONADOS COM O VÍRUS H1N1 E TRATADOS COM ANTICORPO
EM DIFERENTES PONTOS DO TEMPO ANTES E APÓS A INFECCÃO

Número de camundongos vivos em cada dia do estudo																						
Dia do estudo																						
Intervalo de tempo p.i.-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
-1d	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
1d	10	10	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
2d	10	10	9	9	9	9	9	9	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
3d	10	10	10	10	10	10	9	9	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
controle	10	10	10	10	10	10	10	5	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

TABELA 20
CLASSIFICAÇÕES CLÍNICAS DOS CAMUNDONGOS INFETADOS COM O VÍRUS H1N1 E TRATADOS COM
ANTICORPO EM DIFERENTES PONTOS DO TEMPO ANTES E APÓS A INFECCÃO

		Número de camundongos apresentando sinais clínicos ^a																						
		Dia do estudo																						
Grupo ID	Intervalo de tempo p i	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
6	d-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	d1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9	d2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	d3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	controle	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

^a com 9 camundongos nos grupos de tratamento de 1 dia e 2 dias após a infecção

TABELA 21
ANGÚSTIA RESPIRATÓRIA DOS CAMUNDONGOS INFETADOS COM O VÍRUS H1N1 E TRATADIS COM
ANTICORPO NOS DIFERENTES PONTOS DO TEMPO ANTES E APÓS A INFECCÃO

		Número de camundongos apresentando angústia respiratória ^a																					
		Dia do estudo																					
Intervalo de tempo p.i	1	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1d	0	0	0	4	7	10	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2d	0	0	0	7	8	10	9	3	4	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3d	0	0	0	4	10	9	10	8	9	8	8	8	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ctrl	0	0	0	1	9	7	10	10	5	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

^a uma classificação de 2 ou 3.

TABELA 22

SEQUÊNCIA DO EPÍTOPO HA2 EM DIFERENTES SUBTIPOS DA INFLUENZA. O AMINOÁCIDO SUBLINHADO REPRESENTA A SUBSTITUIÇÃO DA VALINA (V) → ÁCIDO GLUTÂMICO (E) NO

5 MUTANTE DE ESCAPE H2N2 (MUTANTE II; TABELA 13)

	HA2	SEQ ID NO:
H5N1: A/Vietnam/1203/2004	GVTNKVNSIIDK	368
H5N1: A/Hong Kong/156/97	GVTNKVNSIINK	369
H5N2: A/mald/PA/84	GVTNKVNSIIDK	368
H1N1: A/PR/8/34 A/South Carolina/1/1918 A/WSN/33 A/New Caledonia/20/99 A/Bangkok/10/83 A/Yamagata/120/86	GITNKVNSVIEK	372
H2N2: A/Okuda/57 A/Kumamoto/1/65 A/Korea/426/68 A/Izumi/5/65	GITNKVNSVIEK	372
H2N2: A/Izumi/5/65 (R)	GITNKENSVIEK	373
H6N2: A/Mallard/Netherlands/16/99	GITNKVNSIIDK	374
H9N2: A/Hong Kong/1073/99	KITSKVNNIVDK	375
H3N2: A/Aichi/2/68	QINGKLNRVIEK	376
H3N2: A/Fukuoka/C29/85	QINGKLNR ~~L~~ IEK	377

REFERÊNCIAS

- Boel, E. et al. (2000), Functional human monoclonal antibodies of all isotypes constructed from phage display library-derived single-chain Fv antibody fragments. *J. Immunol. Methods* 239: 153-166
- 5 Burton, D. R. e Barbas, C. F. (1994), Human antibodies from combinatorial libraries. *Adv. Immunol.* 57: 191-280
- Chou, T. C. e P. Talalay (1984) Quantitative analysis of dose-effect relationships: the combined effects of multiple drugs or enzyme inhibitors. *Adv Enzyme Regul* 22: 27-55
- 10 De Kruif, J. et al. (1995a), Rapid selection of cell subpopulation-specific human monoclonal antibodies from a synthetic phage antibody library. *Proc Natl Acad Sci USA* 92: 3938
- De Kruif, J. et al. (1995b) Selection and application of human single-chain Fv antibody fragments from a semi-synthetic phage antibody display library with designed CDR3 regions. *J. Mol. Biol.* 248: 97-105.
- 15 Huls, G. et al. (1999) Antitumor immune effector mechanisms recruited by phage display-derived fully human IgG1 and IgA1 monoclonal antibodies. *Cancer Res.* 59: 5778-5784
- Okuno, Y. et al. (1993) A common neutralizing epitope conserved between the hemagglutinins of Influenza A virus H1 and H2 strains. *J. Virol.* 67: 2552-2558.
- 20 Slootstra, J. W. et al. (1996) Structural aspects of antibody-antigen interaction revealed through small random peptide libraries. *Mol. Divers.* 1: 87-96.
- 25 Smirnov, Y. A. et al. (1999) An epitope shared by the hemagglutinins of H1, H2, H5 and H6 subtypes of influenza A virus. *Acta Virol.* 43: 237-244.
- The World Health Organization Global Influenza Program Surveillance Network (2005), Evolution of H5N1 Avian Influenza Viruses in Asia. *Emerg Infect Dis* 11: 1515-1521.

REIVINDICAÇÕES

1. Anticorpo humano isolado, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, capaz de reconhecer e se ligar a um epítopo da subunidade HA2 da proteína hemaglutinina de influenza (HA), caracterizado
5 pelo fato de que apresenta atividade neutralizante contra um vírus influenza compreendendo HA do subtipo H5, tal como H5N1, H5N2, H5N8 e H5N9, e em que o anticorpo ou o fragmento de ligação ao antígeno do mesmo compreende uma região variável da cadeia pesada compreendendo os aminoácidos 1-121 da SEQ ID NO: 65, e uma região variável da cadeia leve
10 compreendendo os aminoácidos 1-112 da SEQ ID NO: 91.

2. Anticorpo humano isolado, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que também apresenta atividade neutralizante contra um vírus influenza compreendendo HA do subtipo H1, tal como H1N1, e de
15 preferência em que o referido anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo também apresenta atividade neutralizante contra um vírusus influenza compreendendo HA do subtipo H2, H6 e/ou H9.

3. Anticorpo humano isolado, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, de acordo com a reivindicação 1 ou 2, caracterizado
20 pelo fato de que o anticorpo compreende uma região CDR1 da cadeia pesada da SEQ ID NO: 1, uma região CDR2 da cadeia pesada da SEQ ID NO: 2 e uma região CDR3 da cadeia pesada da SEQ ID NO: 3.

4. Molécula de ácido nucleico, caracterizada pelo fato de que codifica um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo,
25 como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 3.

5. Anticorpo, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, caracterizado pelo fato de que é para uso como um medicamento e, de preferência, para o tratamento terapêutico e/ou profilático da infecção por

influenza.

6. Anticorpo, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, de acordo com a reivindicação 5, caracterizado pelo fato de que a referida infecção por influenza é causada por um vírus influenza que está associado a um surto pandêmico, ou apresenta o potencial de estar associado a um surto pandêmico.

7. Anticorpo, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, de acordo com a reivindicação 6, caracterizado pelo fato de que a referida cepa do vírus influenza que está associada a um surto pandêmico é selecionada a partir do grupo consistindo em: H1N1, H5N1, H5N2, H5N8, H5N9, uma cepa baseada em H2, e H9N2.

8. Composição farmacêutica, caracterizada pelo fato de que compreende um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 3, e um excipiente farmaceuticamente aceitável.

9. Anticorpo, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, caracterizado pelo fato de que é para uso na profilaxia e/ou tratamento de uma infecção pelo vírus influenza.

10. Anticorpo, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, caracterizado pelo fato de que é para uso no diagnóstico de uma infecção pelo vírus influenza.

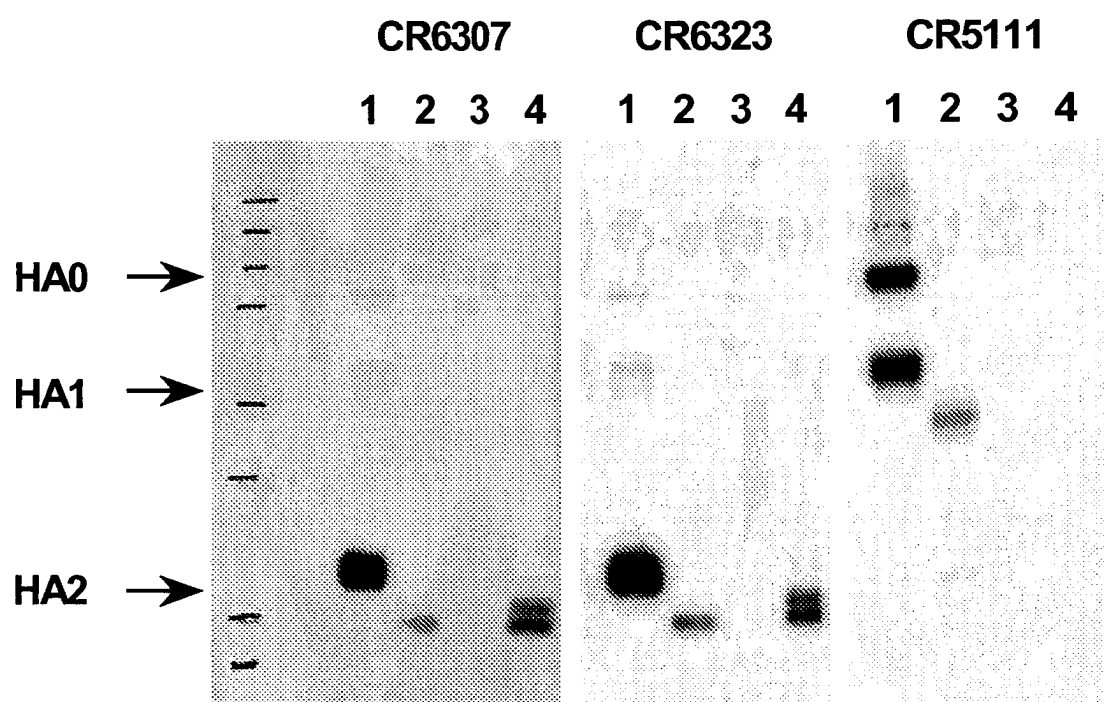


FIG 1

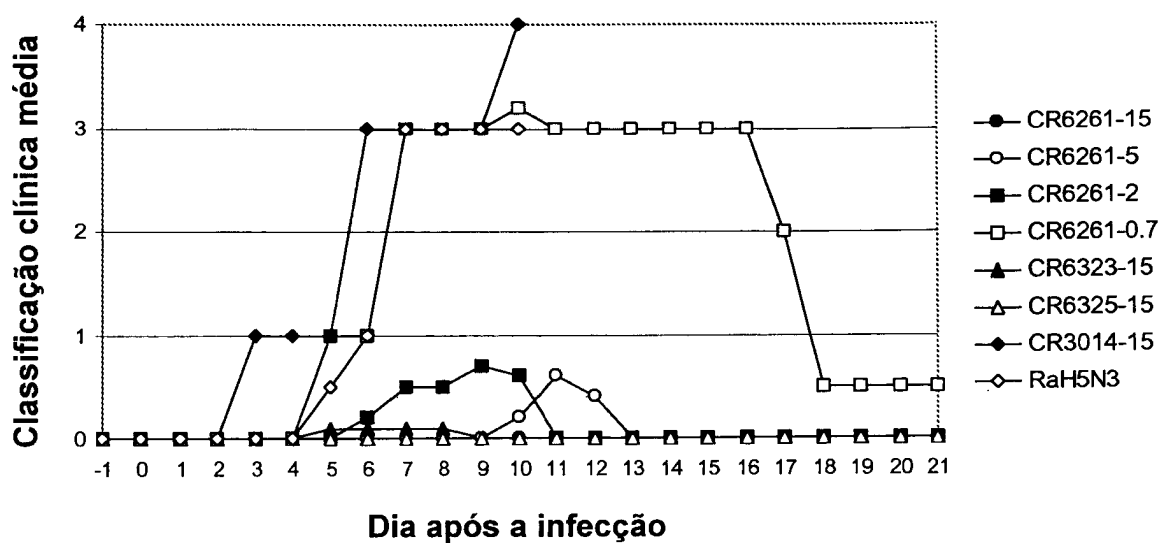


FIG 2

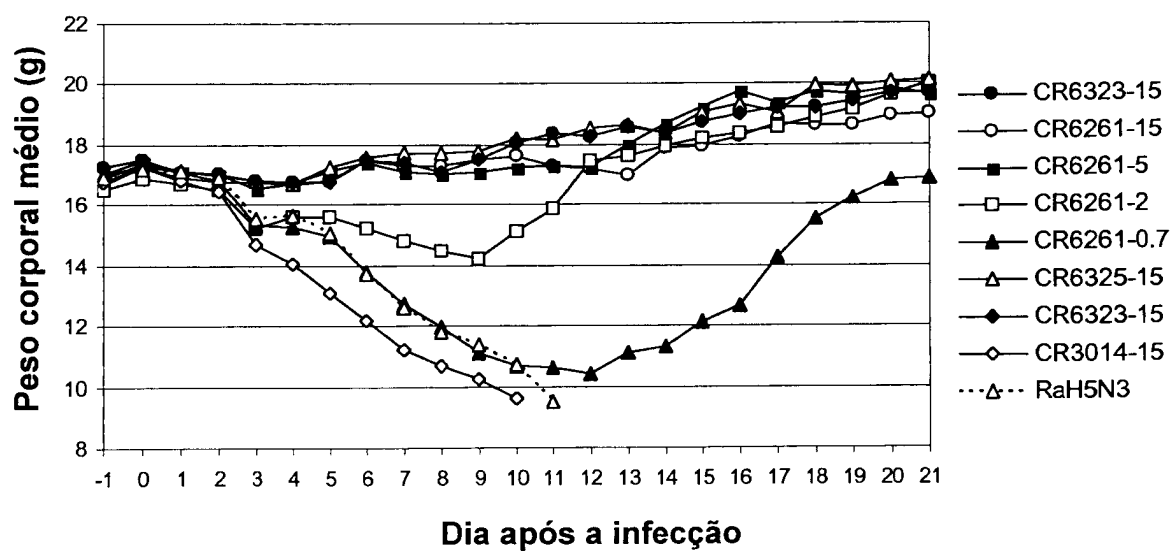


FIG 3

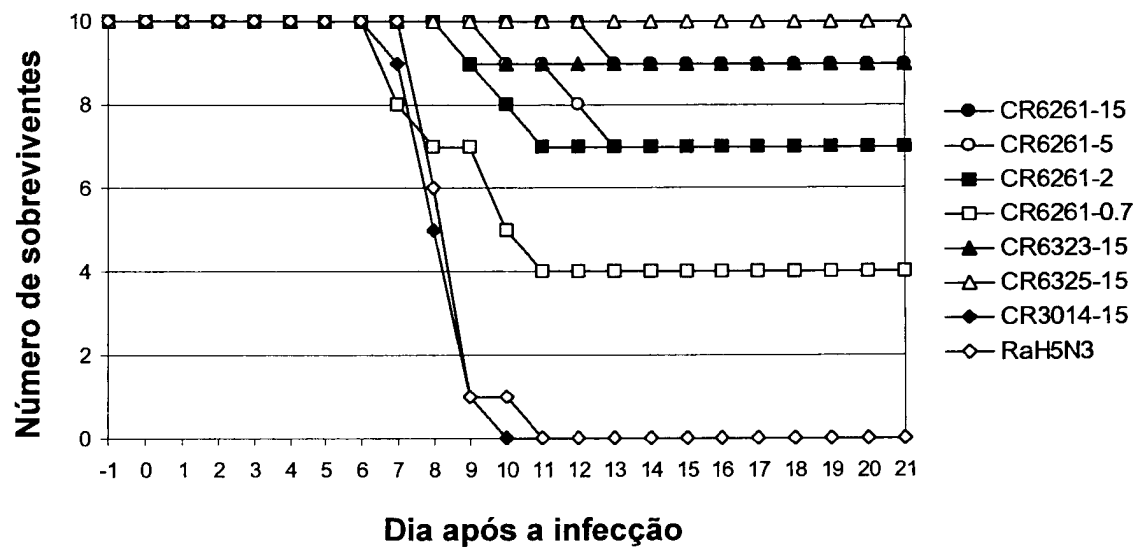
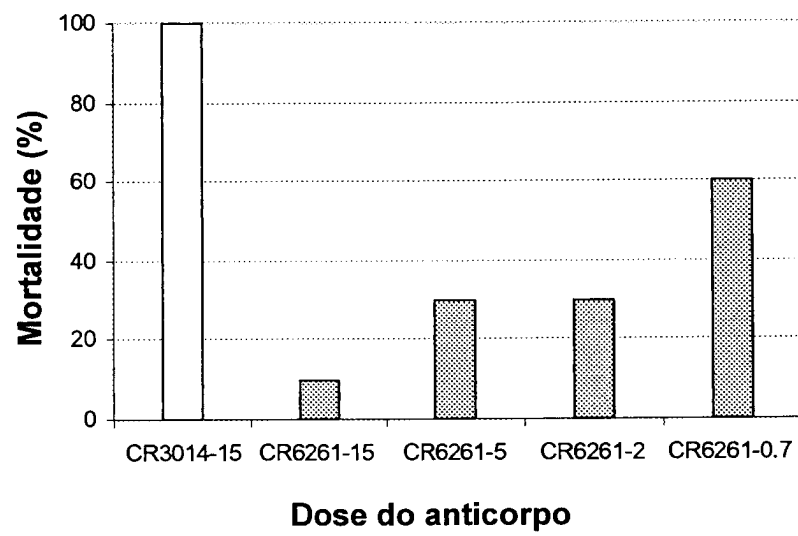


FIG 4

**FIG 5**

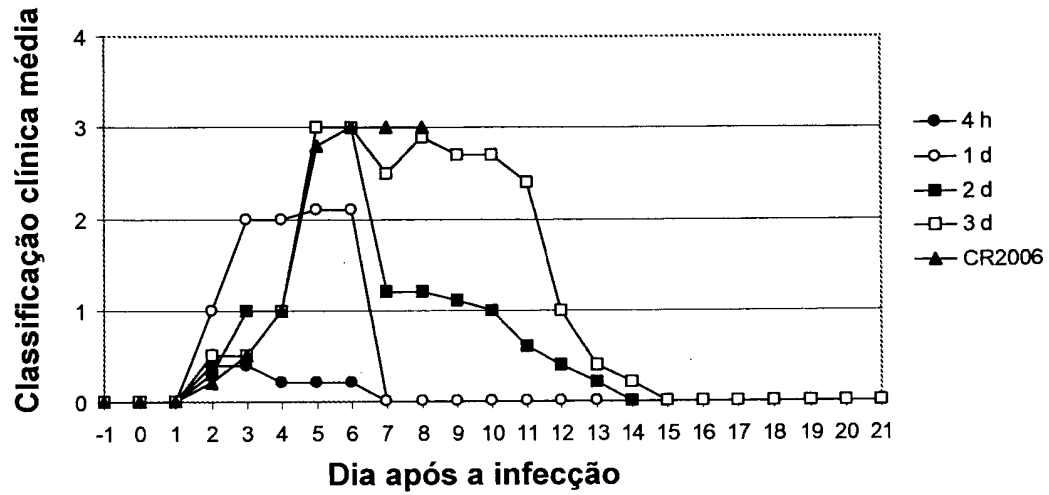


FIG 6

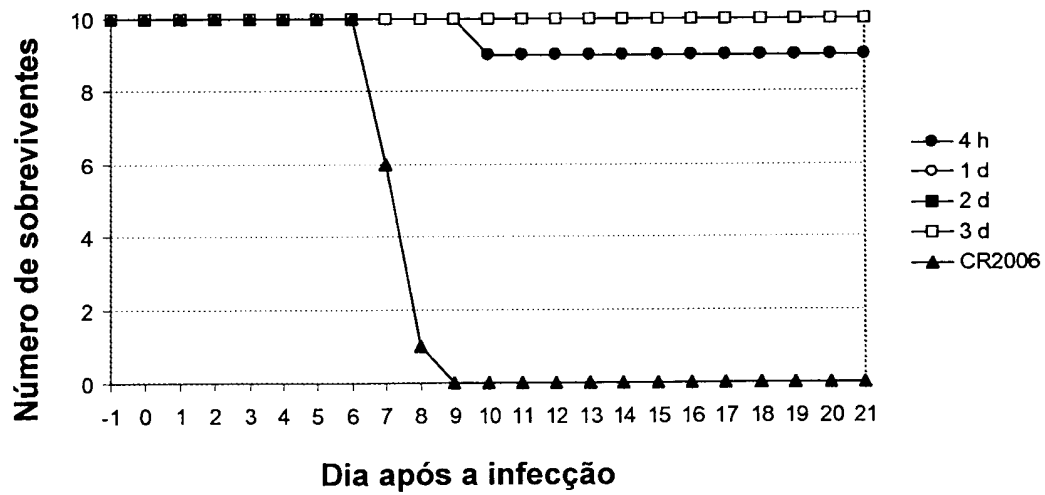


FIG 7

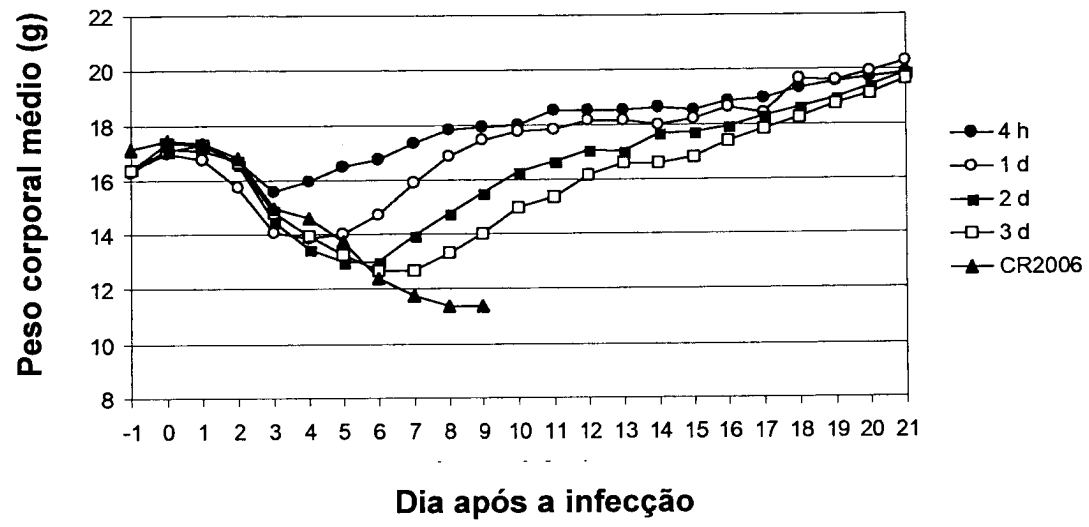


FIG 8

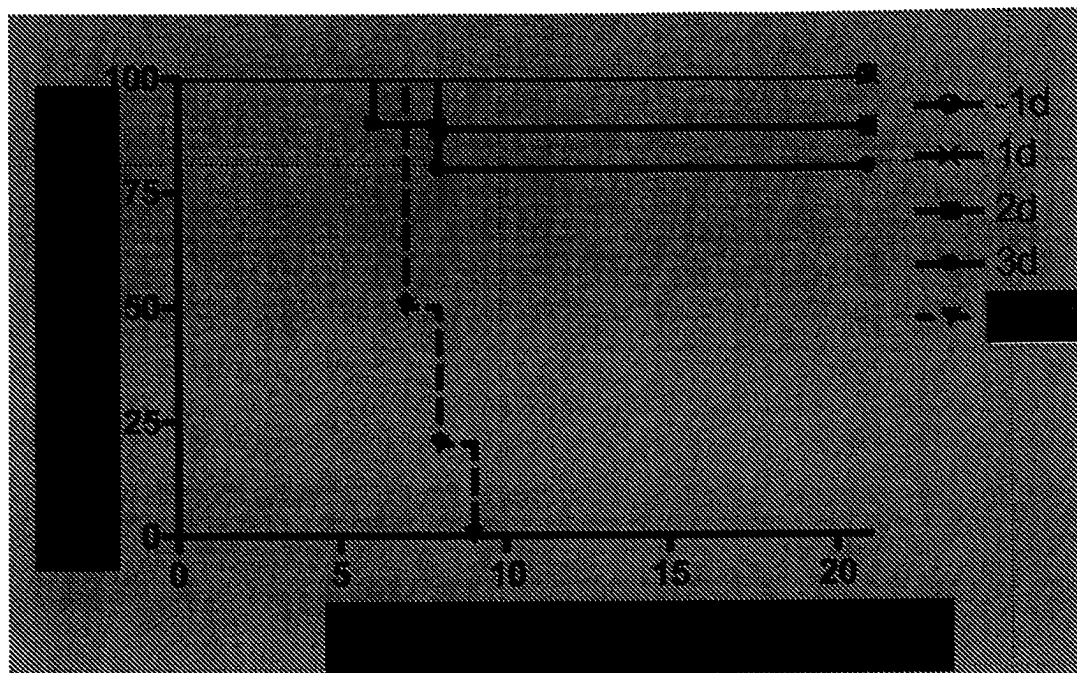


FIG 9

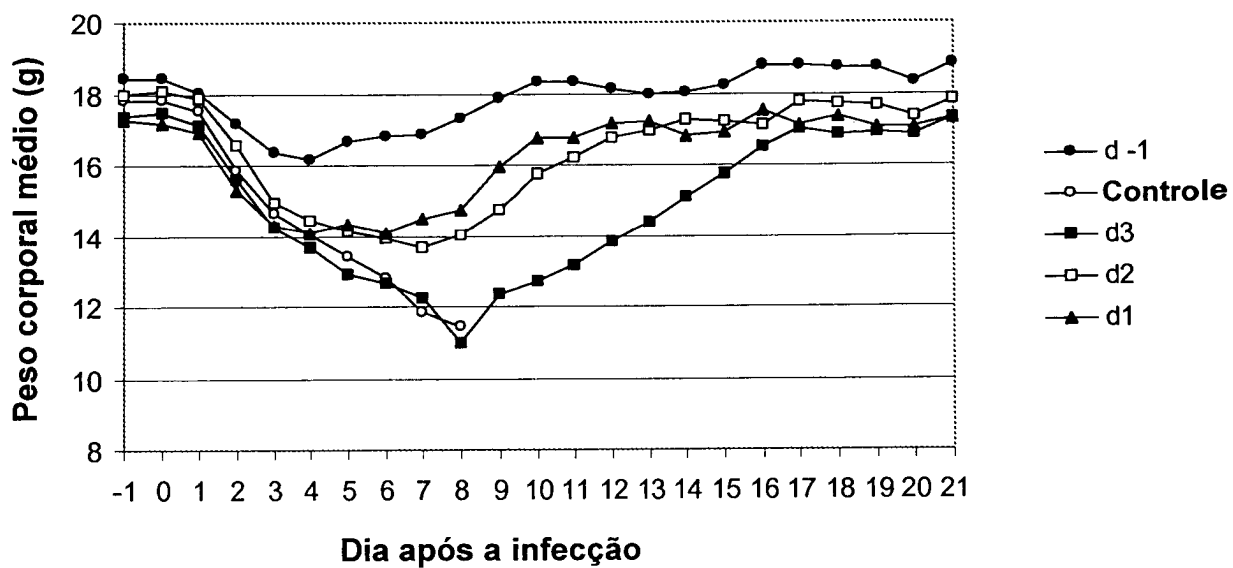


FIG 10