



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) BR 122020023189-0 B1



(22) Data do Depósito: 06/02/2009

(45) Data de Concessão: 01/02/2022

(54) Título: USO DE UMA COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA COMPREENDENDO UM ANTICORPO ESPECÍFICO PARA IFNAR1

(51) Int.Cl.: C12P 21/08.

(30) Prioridade Unionista: 02/05/2008 US 61/049,970; 07/03/2008 US 61/034,618; 08/02/2008 US 61/006,962.

(73) Titular(es): ASTRAZENECA AB.

(72) Inventor(es): ANTHONY COYLE; PETER KIENER; HERREN WU; RICARDO CIBOTTI.

(86) Pedido PCT: PCT US2009033358 de 06/02/2009

(87) Publicação PCT: WO 2009/100309 de 13/08/2009

(85) Data do Início da Fase Nacional: 13/11/2020

(62) Pedido Original do Dividido: PI0907735-9 - 06/02/2009

(57) Resumo: A invenção fornece anticorpos anti-IFNAR1 com menor afinidade para receptores e/ou ligantes de Fc e métodos de preparar e usar tais anticorpos.

USO DE UMA COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA COMPREENDENDO UM ANTICORPO ESPECÍFICO PARA IFNAR1

Dividido do pedido PI0907735-9 depositado em 06/02/2009

[001] Este pedido reivindica o benefício sob 35 U.S. C. § 119(e) dos pedidos provisórios U.S. 61/006.962 depositado em 8 de fevereiro de 2008, 61/034.618 depositado em 7 de março de 2007, e 61/049.970 depositado em 2 de maio de 2008, cujas revelações são aqui incorporadas pela referência.

1. CAMPO DA INVENÇÃO

[002] A presente invenção diz respeito a anticorpos isolados e composições específicas para o receptor do interferon alfa 1 (IFNAR1) com menor afinidade para ligantes de Fc. A invenção também compreende ácidos nucleicos que codificam tais anticorpos, ácidos nucleicos complementares, vetores, células hospedeiras, e métodos de preparar e usar estes, incluindo composições, formulações, administrações e dispositivos terapêuticos.

2. FUNDAMENTOS DA INVENÇÃO

2.1 Interferons:

[003] Interferons do tipo I (IFN) (IFN α , IFN β , IFN ω , IFN τ) são uma família de citocinas estruturalmente relacionadas com efeitos antivirais, antitumor e imunomodulatórios (Hardy et al. (2001) Blood 97:473; Cutrone e Langer (2001) J. Biol. Chem. 276:17140). O locus de IFN α humano inclui duas subfamílias. A primeira subfamília consiste em 14 genes não alélicos e 4 pseudogenes com pelo menos 80 % de homologia. A segunda subfamília, toda ou omega (ω), contém 5 pseudogenes e 1 gene funcional que exibe 70 % de homologia com os genes IFN α (Weissmann e Weber (1986) Prog. Nucl. Acid Res. Mol. Biol, 33:251-300). Os subtipos de IFN α apresentam diferentes atividades específicas, mas possuem o mesmo espectro biológico (Streuli et al. (1981) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78:2848) e apresentam o mesmo receptor celular (Agnet M. et al. em "Interferon 5" Ed. I. Gresser p. 1-22, Academic Press, London 1983). Subtipos de interferon alfa foram

identificados com a nomenclatura a seguir: IFN α 1, 2a, 2b, 4, 4b, 5, 6, 7, 8, 10, 14, 16, 17, e 21.

[004] O interferon β (IFN β) é codificado por um gene único, que apresenta aproximadamente 50 % de homologia com os genes de IFN α .

[005] Interferon γ , que é produzido por linfócitos ativados, não possui nenhuma homologia com os interferons alfa/beta e não reage com seu receptor.

2.1.1 Receptores de interferon:

[006] Todos os interferons humanos do tipo I ligam-se a um receptor de superfície celular (receptor de IFN alfa, IFNAR) que consistem de duas proteínas transmembranas, IFNAR1 e IFNAR2 (Uze et. al. (1990) Cell 60:225; Novick et al. (1994) Cell 77:391). IFNAR1 é essencial para ligação de alta afinidade e especificidade diferencial do complexo IFNAR (Cutrone et al. 2001 J. Bio Chem 276(20):17140-8) Embora diferenças funcionais para cada um dos subtipos de IFN tipo I não tenham sido identificadas, sabe-se que cada um pode exibir interações diferentes com os componentes do receptor IFNAR que levam a resultados de sinalização potencialmente diversos (Cook et al. (1996) J. Biol. Chem. 271 :13448). Em particular, estudos que utilizam formas mutantes de IFNAR1 e IFNAR2 sugeriram que interferons alfa e beta sinalizam diferentemente por meio do receptor interagindo de forma diferencial com as respectivas cadeias (Lewerenz et al. (1998) J. Mol. Biol. 282:585).

2.1.2 Função de interferons:

[007] Estudos anteriores de IFNs tipo I focaram na defesa inata contra infecção virais (Haller et al. (1981) J. Exp. Med. 154:199; Lindenmann et al. (1981) Methods Enzymol. 78:181). Estudos mais recentes, entretanto, implicam IFNs tipo I como potentes citocinas imunorregulatórias na resposta imune adaptativa. Especificamente, IFNs tipo I mostraram facilitar a diferenciação de células nativas T ao longo da via Th1 (Brinkmann et al.

(1993) J. Exp. Med. 178:1655), melhorar produção de anticorpo (Finkelman et al. (1991) J. Exp. Med. 174: 1179) e auxiliar a atividade funcional e sobrevivência de células T de memória (Santini et al. (2000) J. Exp. Med. 191 :1777; Tough et al. (1996) Science 272:1947).

[008] Trabalho recente de inúmeros de grupos sugere que IFN α pode melhorar a maturação ou ativação de células dendríticas (DCs) (Santini, et al. (2000) J. Exp. Med. 191 :1777; Luft et al. (1998) J. Immunol. 161 :1947; Luft et al. (2002) Int. Immunol. 14:367; Radvanyi et al. (1999) Scand. J. Immunol. 50:499). Além do mais, maior expressão de interferons do tipo I foi descrita em numerosas doenças autoimunes (Foulis et al. (1987) Lancet 2:1423; Hooks et al. (1982) Arthritis Rheum. 25:396; Hertzog et al. (1988) Clin. Immunol. Immunopathol. 48:192; Hopkins e Meager (1988) Clin. Exp. Immunol. 73:88; Arvin e Miller (1984) Arthritis Rheum. 27:582). Os exemplos mais estudados destes são diabetes mellitus dependente de insulina (IDDM) (Foulis (1987)) e lúpus eritematoso sistêmico (SLE) (Hooks (1982)), que estão associados com níveis elevados de IFN α , e artrite reumatóide (RA) (Hertzog (1988), Hopkins e Meager (1988), Arvin e Miller (1984)) no qual IFN β pode desempenhar um papel mais significativo.

[009] Além disso, relatou-se que a administração de interferon α exacerba doença de base em pacientes com psoríase e esclerose múltipla e induz uma síndrome do tipo SLE em pacientes sem um histórico prévio de doença autoimune. Observa-se também que o interferon α induz glomerulonefrite em camundongos normais e acelera o início da doença autoimune espontânea de camundongos NZB/W. Adicionalmente, terapia com IFN α mostrou, em alguns casos, levar a efeitos colaterais indesejados, incluindo febre e distúrbios neurológicos. Consequentemente, existem situações patológicas nas quais a inibição da atividade de IFN tipo I pode ser benéfica ao paciente e existe uma necessidade de agentes eficientes em inibir a atividade de IFN tipo I.

2.1.3 Funções efectoras do anticorpo:

[0010] A região Fc de um anticorpo interage com inúmeros ligantes (também referido aqui como “ligantes de Fc” que inclui, mas sem limitação, agentes que se ligam especificamente à região Fc de anticorpos, tais como receptores Fc e Clq) incluindo receptores Fc e Clq, que transmitem um arranjo de recursos funcionais importantes referidos como funções efectoras. Os receptores Fc medeiam a comunicação entre anticorpos e o braço celular do sistema imune (Raghavan et al, 1996, *Annu Rev Cell Dev Biol* 12:181-220; Ravetch et al, 2001, *Annu Rev Immunol* 19:275-290). Em humanos, esta família de proteína inclui FcγRI (CD64), incluindo as isoformas FcγRIA, FcγRIB, e FcγRIC; FcγRII (CD32), incluindo as isoformas FcγRIIA, FcγRIIB, e FcγRIIC; e FcγRIII (CD 16), incluindo as isoformas FcγRIIIA e FcγRIIB (Jefferis et al., 2002, *Immunol Lett* 82:57-65). Estes receptores apresentam tipicamente um domínio extracelular que medeia a ligação a Fc, uma membrana que percorre a região, e um domínio intracelular que pode mediar algum evento de sinalização na célula. Estes receptores são expressos em uma variedade de células imunes, incluindo monócitos, macrófagos, neutrófilos, células dendríticas, eosinófilos, mastócitos, plaquetas, células B, linfócitos granulares grandes, células de Langerhans, células exterminadoras naturais (NK) e células T. A formação do complexo Fc/FcγR recruta estas células efectoras para os sítios de ligação de antígeno, resultando tipicamente em eventos de sinalização nas células e respostas imunes subsequentes importantes, tais como a liberação de mediadores de inflamação, ativação de célula B, endocitose, fagocitose, e ataque citotóxico. A capacidade de mediar funções efectoras citotóxicas e fagocíticas é um mecanismo potencial pelo qual anticorpos destroem células alvo. A reação mediada por célula, em que células citotóxicas não específicas que expressam FcγRs reconhecem a ligação do anticorpo em uma célula alvo e causam subsequentemente a lise da célula alvo, é referida como citotoxicidade mediada por célula dependente de

anticorpo (ADCC) (Raghavan et al, 1996, Annu Rev Cell Dev Biol 12:181-220; Ghetie et al, 2000, Annu Rev Immunol 18:739-766; Ravetch et al., 2001, Annu Rev Immunol 19:275-290). A reação mediada por célula, em que células citotóxicas não específicas que expressam FcγRs reconhecem a ligação de anticorpo em uma célula alvo e subsequentemente causam fagocitose da célula alvo, é referida como fagocitose mediada por célula dependente de anticorpo (ADCP). Além do mais, um sítio que se sobrepõe na região Fc da molécula também controla a ativação de uma função citotóxica independente de célula mediada por complemento, de outra forma conhecida como citotoxicidade dependente de complemento (CDC).

2.1.4 Os diferentes tipos de FcγR humano:

[0011] FcγR humanos são divididos em três classes humanas: FcγRI (CD64), FcγRII (CD32) e FcγRIII (CD 16). FcγRI é um receptor de alta afinidade (K_a : 10^{-8} - 10^{-9} M⁻¹) e se liga tanto a complexos imunes quanto a moléculas de IgG monoméricas, enquanto os receptores Fc, FcγRII e FcγRIII, exibem menos afinidades ($<10^{-7}$ M⁻¹ e $2-3 \times 10^{-7}$, respectivamente) (Gessner J.E. et al., 1998, Annu Hematology 76:231-48). A sinalização por meio dos FcγRs é tanto por meio de um motivo de ativação de imunorreceptor a base de tirosina (ITAM), quanto de motivo inibitório de imunorreceptor a base de tirosina (ITIM), para todos os receptores transmembranas (Presta 2006, Adv Drug Deliv Rev 58:640-656).

[0012] A glicoproteína extracelular FcγRI DE 72 kDa é expressa principalmente em células mielóides tais como monócitos, macrófagos, células progenitoras CD4+, e pode elicitar as resposta de ADCC, endocitose, e fagocitose (Siberil et al. 2006, J Immunol Lett 106:111-118).

[0013] O grupo FcγRII de 40 kDa de receptores (isoformas A, B e C) exhibe domínios extracelulares, mas não contém domínios de transdução de sinal ativo. Estes receptores propagam sinais por meio de fosforilação de um domínio de cauda citoplasmática (Amigorena S. et al., 1992 Science.

256:1808-12). O Fc γ RIIA é expresso principalmente em monócitos, macrófagos, neutrófilos, e plaquetas, ao passo que o receptor Fc γ RIIC foi identificado apenas em células NK. Estes dois receptores mostraram iniciar ADCC, endocitose, fagocitose e liberação do mediador inflamatório (Cassel et al. 1993. *Mol Immunol* 30:451-60). Ao contrário, os receptores Fc γ RIIB (tipos B1 e B2) são expressos em células B, mastócitos, basófilos, monócitos, macrófagos e células dendríticas e mostraram regular negativamente a resposta imune ativada pelas isoformas A e C.

[0014] O Fc γ RIIA de 50 kDa, expresso em células NK, monócitos, macrófagos e um subconjunto de linfócitos T, onde ativa ADCC, fagocitose, endocitose e liberação de citocina (Gessner et al). As isoformas Fc γ RIIB são um glicosil-fosfatidilinositol (GPI) ancorado em proteína de membrana periférica envolvida na desgranulação e a produção de intermediários de oxigênio reativo (Salmon J.E. et al. 1995 *J Clin Invest* 95:2877-85).

[0015] As moléculas de IgG também exibem especificidade de isotipo diferencial para Fc γ Rs. Moléculas de IgG3 se ligam fortemente a todas as isoformas Fc γ R. IgG1, a mais prevalente das isoformas no sangue, se liga a todos os Fc γ Rs, embora com uma afinidade menor para as isoformas Fc γ RIIA/B. IgG4 é um aglutinante intermediário para Fc γ RI e um aglutinante fraco para Fc γ RIIB. Finalmente, IgG2 se liga apenas fracamente a uma forma alélica de Fc γ RIIA (Fc γ RIIA-H131) (Siberil et al. 2006, *J Immunol Lett* 106:111- 118).

2.1.5 Complemento

[0016] A cascata inflamatória do complemento é uma parte da resposta imune inata e é fundamental para a capacidade de um indivíduo evitar a infecção. Um outro ligante de Fc importante é a proteína Clq do complemento. O Fc que se liga à Clq medeia um processo denominado citotoxicidade dependente de complemento (CDC) (revisado em Ward et al., 1995, *Ther Immunol* 2:77-94). Clq é capaz de se ligar a seis anticorpos,

embora a ligação a duas IgGs seja suficiente para ativar a cascata de complemento. Clq forma um complexo com as serina proteases C1r e C1s para formar o complexo C1 da via do complemento.

2.1.6 Regiões e resíduos de aminoácido de IgG envolvidos na ligação de FcγR

[0017] O mapeamento de sítios de ligação IgG humana para diferenciar FcγR foi estudado extensivamente. Estes estudos, que baseiam-se em moléculas de IgG geneticamente alteradas, identificaram um pequeno intervalo contínuo de resíduos de aminoácido (234-238) da parte N-terminal do domínio CH2 que está envolvido diretamente na ligação de todos os FcγRs. Adicionalmente, resíduos 268, 297, 327 e 329 podem afetar a ligação de um subconjunto de FcγRs. Também, resíduos múltiplos localizados nos domínios CH2 e CH3 também contribuem para a ligação de FcγR (Canfield SM. et al., 1991 J Exp Med 173:1483-91, Chappel MS. Et al. 1991, Proc Nat Acad Sci USA 88:9036-40, Gergely J. et al. 1990 FASEB J 4:3275-83).

2.2 Anticorpo terapêutico relacionado à toxicidade

[0018] Em muitas circunstâncias, a ligação e estímulo de funções efetoras mediadas pela região Fc de imunoglobulinas são altamente benéficos, entretanto, em certos exemplos, pode ser mais vantajoso diminuir ou eliminar a função efetora. Isto é particularmente verdadeiro para aqueles anticorpos projetados para distribuir um medicamento (por exemplo, toxinas e isótopos) na célula alvo onde as funções efetoras mediadas por Fc/FcγR conduzem células imunes saudáveis na proximidade da virulência mortal, resultando na depleção de tecido linfóide normal junto com as células alvos (Hutchins et al, 1995, PNAS USA 92:11980-11984; White et al, 2001, Annu Rev Med 52: 125-145). Nestes casos, o uso de anticorpos que recruta fracamente o complemento ou células efetoras seria de grande benefício (ver, por exemplo, Wu et al., 2000, Cell Immunol 200:16-26; Shields et al., 2001, J. Biol Chem 276:6591-6604; U.S. 6.194.551; U.S. 5.885.573 e publicação PCT WO 04/029207).

[0019] Em outros exemplos, por exemplo, onde bloquear a interação de um receptor amplamente expresso com seu ligante cognato é o objetivo, seria vantajoso diminuir ou eliminar toda a função efetora do anticorpo para reduzir a toxicidade indesejada. Também, no exemplo onde um anticorpo terapêutico exibiu ligação inadequada através inúmeros tecidos humanos seria prudente limitar o alvejamento da função efetora a um conjunto diverso de tecidos para limitar a toxicidade. Embora existam certas subclasses de imunoglobulinas humanas que necessitam de funções efetoras específicas, não existem imunoglobulinas de ocorrência natural conhecidas que necessitam de todas as funções efetoras. Uma abordagem alternativa seria modificar por engenharia ou mutar os resíduos importantes na região Fc, que são responsáveis pela função efetora. Por exemplo, ver publicações PCT WO2006076594, WO199958572, US20060134709, WO2006047350, WO2006053301, e U.S. 5.624.821, cada uma das quais são aqui incorporadas pela referência e na sua íntegra.

[0020] O uso de anticorpos monoclonais no tratamento de muitos estágios da doença foi bem documentado. Com a miríade de funções efetoras que um anticorpo pode ativar, uma das exigências dos anticorpos terapêuticos é que eles são alvejados especificamente para um alvo de interesse. Por exemplo, mas sem limitação, a especificidade de um tecido alvo é analisada examinando a imunoistoquímica (IHC) de um tecido de interesse. É importante que o terapêutico apenas se ligue aos tecidos que contém um alvo de interesse. Não fazer isso pode resultar em maior toxicidade do anticorpo terapêutico, em virtude da ativação inadequada da função efetora elicitada no sítio não alvejado. Se a função efetora puder ser diminuído ou removido, o perigo da ampla ligação do terapêutico poderia ser evitado. Com todas estas considerações, existe uma necessidade não apropriada de anticorpos com afinidade reduzida ou removida de pelo menos um ligante de Fc responsável por facilitar a função efetora. Tais anticorpos seriam de benefício particular

para uso no tratamento de condições crônicas inflamatórias e autoimunes.

[0021] A citação ou discussão de uma referência aqui pode não ser interpretada como uma admissão, de maneira tal que seja a técnica anterior da presente invenção.

3. DESCRIÇÃO RESUMIDA DAS FIGURAS

[0022] Com o propósito de ilustrar a invenção, são representadas nos desenhos certas modalidades da invenção. Entretanto, a invenção não é limitada aos arranjos e instrumentalidades das modalidades representadas nos desenhos.

[0023] Figura 1A. Alinhamento de sequência de ácido nucleico (SEQ ID No:7) e aminoácido (SEQ ID No:8) de 3F11 VH com as regiões CDR é indicado pela linha acima.

[0024] Figura 1B. Alinhamento de sequência de ácido nucleico (SEQ ID No:9) e aminoácido (SEQ ID No: 10) de 3F11 VK com as regiões CDR esboçadas é indicado pela linha acima.

[0025] Figura 2A. Alinhamento de sequência de ácido nucleico (SEQ ID No : 17) e aminoácido (SEQ ID No : 18) de 4G5 VH com as regiões CDR esboçadas é indicado pela linha acima.

[0026] Figura 2B. Alinhamento de sequência de ácido nucleico (SEQ ID No : 19) e aminoácido (SEQ ID No : 20) de 4G5 VK com as regiões CDR esboçadas é indicado pela linha acima.

[0027] Figura 3A. Alinhamento de sequência de ácido nucleico (SEQ ID No:27) e aminoácido (SEQ ID No:28) de 11E2 VH com as regiões CDR esboçadas é indicado pela linha acima.

[0028] Figura 3B. Alinhamento de sequência de ácido nucleico (SEQ ID No:29) e aminoácido (SEQ ID No:30) de 11E2 VK com as regiões CDR esboçadas é indicado pela linha acima.

[0029] Figura 4A. Alinhamento de sequência de ácido nucleico (SEQ ID No: 37) e aminoácido (SEQ ID No: 38) de 9D4 VH com as regiões CDR

esboçadas é indicado pela linha acima.

[0030] Figura 4B. Alinhamento de sequência de ácido nucleico (SEQ ID No:39) e aminoácido (SEQ ID No:40) de 9D4 VK com as regiões CDR esboçadas é indicado pela linha acima.

[0031] Figura 5. Alinhamento de sequência de aminoácido de regiões constantes de cadeia pesada para 9D4. As setas indicam substituições de aminoácidos (não modificados para modificados) para aumentar estabilidade e diminuir afinidade em pelo menos um ligante de Fc.

[0032] Figura 6A. Perfil de coloração imunoistoquímica de tecido cerebral humano tratado com vários anticorpos anti-IFNAR1. O anticorpo 9D4 exibe um menor perfil de coloração quando incubado com tecido cerebral humano, comparado aos anticorpos 4G5 e MDX- 1333.

[0033] Figura 6B. Perfil de coloração imunoistoquímica de monócitos humanos tratados com vários anticorpos anti-IFNAR1. Como um controle positivo, vários anticorpos anti-IFNAR1 foram testados para reatividade a monócitos humanos.

[0034] Figura 7. O anticorpo 9D4 anti-IFNAR1 inibe a sinalização de IFN α em um ensaio de ativação STAT a base de célula. O tratamento com anticorpo 9D4 inibe a fosforilação em tirosina STAT 1/3/4 em resposta ao estímulo com interferon alfa, da maneira determinada por análise Western Blot com anticorpos STAT disponíveis comercialmente.

[0035] Figura 8. Anticorpos anti-IFNAR1 bloqueiam a sinalização de várias concentrações de célula pDC derivada de IFNs tipo I. São apresentados os valores IC50 para anticorpo 9D4 que bloqueia a sinalização de IFN em um ensaio de gene repórter com luciferase, utilizando sobrenadantes de IFN tipo I purificados de 3 doadores independentes. São incluídas as quantidades relativas de IFN α , IFN β , e IFN ω em cada sobrenadante de interferon tipo I modificado.

[0036] Figura 9 A, B, C. Anticorpos anti-IFNAR1 9D4, 9D4-DM

(duplo mutante), e 9D4-TM (triplo mutante) exibem características de ligação similares. São apresentados dados que representam o anticorpo 9D4 não modificado ao longo de 2 anticorpos modificados, 9D4-DM e 9D4-TM. Os anticorpos modificados exibem características de ligação de IFNAR1 similares ao anticorpo não modificado.

[0037] Figura 10A. O anticorpo 9D4 anti-IFNAR1 se liga ao receptor interferon alfa solúvel (sIFN α R1). São apresentados dados de ligação em equilíbrio que demonstram ligação dose dependente de 9D4 ao receptor interferon alfa solúvel.

[0038] Figura 10B. Determinação do K_d de 9D4 on PBMCs de humanos. É apresentado a determinação da constante de dissociação de 9D4 medida pela ligação aos PBMCs de humanos.

[0039] Figura 11. Anticorpos anti-IFNAR1 inibem a sinalização induzida por IFN α em um ensaio de gene repórter com luciferase. Anticorpos anti-IFNAR1, incluindo anticorpos modificados e não modificados, demonstram valores de IC₅₀ similares para bloquear a sinalização de INF de leucócito em um sistema de ensaio de gene repórter com luciferase.

[0040] Figura 12A. Determinação do ponto isoelétrico de anticorpos 9D4 (não modificado) e anticorpos 9D4 modificados. É apresentado um gel IEF que documenta os valores PI relativos para os anticorpos 9D4 WT (não modificados), 9D4-DM e 9D4-TM.

[0041] Figura 12B. Determinação das temperaturas de fusão térmica de anticorpos 9D4 (não modificados) e anticorpos 9D4 modificados. É aqui apresentado é uma cura de fusão que documenta as temperaturas de fusão relativas (T_m) para os anticorpos 9D4, 9D4-DM, e 9D4-TM.

[0042] Figura 13. Tratamento profilático com anticorpos anti-IFNAR bloqueia proteinúria induzida por Adv-IFN α . Os camundongos tratados com vetor controle, Adv-IFN α , Adv-IFN α + pré-tratamento isotipo controle, e pré-tratamento Adv-IFN α + anti-IFNAR foram analisados por proteinúria por 9

semanas. Os camundongos pré-tratados com anti-IFNAR não exibiram proteinúria após desafio com IFN α .

[0043] Figura 14. Tratamento profilático com anticorpos anti-IFNAR bloqueia a regulação positiva de genes responsivos de IFN α (IFIT1, IFI44, CXCL1 1, IFI202b, CXCL 19, CXCL9) no sangue. Os camundongos pré-tratados com anticorpos anti-IFNAR não exibem genes responsivos IFN α regulados positivamente selecionados mediante desafio com IFN alfa codificado por adenovírus, comparados aos camundongos pré-tratados com vírus controle, PBS, ou IgG isotipo controle. São apresentadas a expressão relativa de seis genes conhecidos por serem responsivos à IFN α em amostras de sangue obtidas de camundongos com 3 semanas após a indução com IFN α por infecção com Adv-IFN α

[0044] Figura 15 A, B. Tratamento profilático com anticorpos anti-IFNAR bloqueia a produção de autoanticorpos induzidos por IFN α . Os camundongos pré-tratados com anticorpos anti-IFNAR não exibem elevada produção de autoanticorpo mediante desafio com IFN α codificado por adenovírus comparados aos camundongos pré-tratados com vírus controle, PBS ou IgG isotipo controle. São apresentadas as concentrações de anti-DNAds e anti-SSA/Ro em amostras de sangue obtidas de camundongos com 6 semanas após a indução com IFN α por infecção com Adv-IFN α .

[0045] Figura 16 A, B. Tratamento profilático com anticorpos anti-IFNAR bloqueia a regulação positiva de citocinas no rim. Camundongos pré-tratados com anticorpos anti-IFNAR não exibem citocinas reguladas positivamente no rim mediante desafio com IFN α 5 codificada por adenovírus, comparados aos camundongos pré-tratados com vírus controle, PBS ou IgG isotipo controle. São apresentadas as medições de níveis de IP-10, e IL- 18 em amostras de rim obtidas de camundongos com 6 semanas após a indução com IFN α por infecção com Adv-IFN α 5.

[0046] Figura 17. Tratamento profilático com anticorpos anti-IFNAR

bloqueia a produção de autoanticorpo de IFN. São aqui apresentados as titulações relativas de anticorpos de antígeno anti-nuclear (ANA) de soro de camundongo. Os camundongos pré-tratados com anticorpos anti-IFNAR exibiram menores títulos de ANA após desafio com IFN do que camundongos pré-tratados com vírus controle, PBS ou isotipo controle.

[0047] Figura 18. Anticorpo mediou a inibição de desenvolvimento de célula dendrítica mediada por plasma de SLE. São apresentados os resultados de 5 experimentos individuais nos quais IFN derivados de pacientes com SLE foi incubado na presença de anticorpo 9D4 anti-IFNAR1, e subsequentemente adicionado a monócitos humanos. A presença de anticorpo 9D4 anti-IFNAR1 inibiu a capacidade de IFN derivado de pacientes com SLE para induzir os marcadores de célula dendrítica CD38 e CD 123 na diferenciação de monócitos.

[0048] Figura 19. Anticorpos anti-IFNAR1 suprimem a expressão de CD38, CD123 e CD86 em monócitos estimulados com interferon de leucócito. Da maneira medida por supressão percentual de expressão controle estimulada, anticorpos anti-IFNAR1 9D4, 9D4-DM e 9D4-TM exibiram perfis de inibição similares para a expressão de CD38, CD123 e CD86 na diferenciação de monócitos.

[0049] Figura 20. Anticorpos modificados anti-IFNAR1 exibem menor ligação ao receptor Fc FcγRI comparados aos anticorpos não modificados anti-IFNAR1. Anticorpos anti-IFNAR1 9D4 (não modificado), 9D4-DM (modificado) e 9D4-TM (modificado) foram analisados quanto a capacidade de se ligar ao FcγRI ligado em placa em um experimento de ELISA. Como um controle positivo para receptor de ligação Fc, um anticorpo não relacionado não modificado foi usado (anticorpo controle).

[0050] Figura 21, A, B, C. Anticorpos modificados anti-IFNAR1 exibiram menor ligação ao receptor Fc FcγRIIIA comparados aos anticorpos anti-IFNAR1 não modificados. Placas ligadas ao anticorpo 9D4 anti-IFNAR1

não modificado (A) e anticorpos modificados anti-IFNAR1 9D4-DM (B) e 9D4-TM(C) foram analisadas quanto a capacidade de se ligar a Fc γ RIIIA livre em um formato experimental de ELISA.

[0051] Figura 22, A, B, C. Anticorpos modificados anti-IFNAR1 exibiram menor ligação ao receptor Fc Fc γ RIIIA. O anticorpo 9D4 anti-IFNAR1 livre não modificado (A) e anticorpos modificados anti-IFNAR1 9D4-DM(B) e 9D4-TM(C) foram analisados quanto a capacidade de se ligar à placa ligada a Fc γ RIIIA em um formato experimental de ELISA.

[0052] Figura 23 A-E. Neutralização de subtipos de IFN no soro de pacientes com SLE. Da maneira medida por ensaio repórter, anticorpos anti-IFNAR1 MDX-1333, 9D4-WT e 9D4-TM inibiram a sinalização mediada por IFN de α 10 (A), interferon de leucócito (B), α 2b (C), ω (D) e β (E).

[0053] Figura 24. Anticorpos anti-IFNAR1 neutralizam interferon tipo I de pacientes com SLE. Por ensaio repórter, o anticorpo anti-IFNAR1 9D4 inibiu a sinalização mediada por interferon tipo I comparado a um anticorpo controle não relacionado.

[0054] Figura 25 A-D. Anticorpos anti-IFNAR suprimem a população pDC induzida por IFN α em PBMCs. Anticorpos anti-IFNAR bloquearam a elevação de células pDC medidas por expressão de epítipo de superfície celular, induzida por expressão induzida por adenovírus ectópicos de interferon alfa no baço (A), linfonodos (B), sangue periférico (C) e medula óssea (D).

[0055] Figura 26. A análise de ensaio de anticorpos anti-IFNAR1 9D4-WT, 9D4-DM, e 9D4-TM para o receptor Fc Fc γ RI foi determinada por análise BIACore. Resumidamente, os anticorpo anti- IFNAR1 foram imobilizados e Fc γ RI livre foi adicionado para medir afinidade. Da maneira demonstrada pela investigação, os anticorpos modificados, 9D4-DM e 9D4-TM, exibiram menores afinidades com o Fc γ RI livre comparado com o anticorpo 9D4-WT não modificado.

[0056] Figura 27 A-C. Análise de ligação de anticorpos anti-IFNAR1 9D4-WT, 9D4-DM, e 9D4-TM com o receptor Fc FcγRI foi determinada por análise BiaCore. Resumidamente, anticorpos anti-IFNAR1 livres passaram por FcγRI imobilizado para medir a afinidade. Da maneira demonstrada pela investigação, os anticorpos modificados 9D4-DM (B), e 9D4-TM (C) exibiram menores afinidades com o FcγRI ligado comparado ao anticorpo 9D4-WT não modificado (A).

[0057] Figura 28. Os anticorpos anti-IFNAR inibem a indução do gene responsivo a IFNα no rim. Resumidamente, no modelo de camundongo com lúpus acelerado, o tratamento com anticorpos anti-IFNAR bloqueia a indução no rim de seis genes (ICAM1, VCAM1, CXCL9, CXCL10, e IFIT1) mediada pela expressão ectopicamente de IFNα comparado aos camundongos controle, da maneira medida por um ensaio Taqman.

[0058] Figura 29. Os anticorpos anti-IFNAR inibem a produção de anticorpos anti- DNAs no modelo de camundongo com lúpus acelerado. Resumidamente, os camundongos que expressam ectopicamente IFNα e são tratados com anticorpos anti-IFNAR não acumulam anticorpos anti-DNAs no mesmo nível dos camundongos similarmente infectados e tratados com um anticorpo IgG controle.

[0059] Figura 30. Os anticorpos anti-IFNAR são capazes de reduzir proteinúria em um ajuste terapêutico do modelo de camundongo com lúpus acelerado. (A) Resumidamente, os camundongos que expressam ectopicamente IFNα desenvolveram sintomas semelhantes a lúpus, tal como proteinúria. Em um estudo terapêutico, os anticorpos anti-IFNAR foram administrados aos camundongos uma vez que uma classificação limite de proteinúria foi atingida. Os anticorpos anti- IFNAR, PBS ou IgG controle foram administrados semi-semanalmente por um período de 5 semanas. O grupo tratado com anticorpo anti-IFNAR exibiu menor gravidade de proteinúria durante o experimento, comparado aos grupos tratados com PBS

sozinho ou com IgG.

[0060] Figura 31. Os anticorpos anti-IFNAR são capazes de aumentar a sobrevivência em um ajuste terapêutico do modelo de lúpus acelerado. (A) Resumidamente, camundongos que expressam ectopicamente IFN α tiveram uma menor taxa de sobrevivência em cerca de 8 semanas após o desenvolvimento dos sintomas semelhantes a lúpus tal como proteinúria. No estudo terapêutico, os anticorpos anti-IFNAR foram administrados aos camundongos uma vez que uma classificação limite de proteinúria foi atingida. Os anticorpos anti-IFNAR, PBS, ou IgG controle foram administrados semi-semanalmente por um período de 5 semanas. Aos as cinco semanas, o tratamento com parou e a mortalidade identificada para todos os três grupos de tratamento. O grupo tratado com anticorpo anti- IFNAR exibiu uma taxa de mortalidade muito menor do que o PBS sozinho, ou grupos IgG controle, em que ambos exibiram mortalidade completa em 9 semanas.

[0061] Figura 32. Representação dos conteúdos de unidade assimétrica dos cristais de Fc- TM que compreende mutações L234F/L235E/P331S. A mutação P331 é indicada em vermelho. Um íon de zinco é quelado por dois resíduos de histidina espacialmente próximos. Os resíduos de carboidrato anexados ao 297 foram modelados de acordo com sua densidade eletrônica.

[0062] Figura 33. As imagens cinéticas demonstram a internalização de 9D4-TM. As células THP-I foram coradas com CFSE 1 μ M em uma incubadora de CO₂ a 37 °C por 10 minutos seguido por 1 μ g/mL de Alexa647-9D4-TM no gelo por 1 hora. Após remoção dos componentes não ligados as células foram incubadas a 37 °C pelo tempo indicado (0, 15, 30 e 60 minutos) e as imagens de células foram obtidas.

[0063] Figura 34. O anticorpo anti-IFNAR1, 9D4-TM não exhibe atividade CDC em um ensaio *in vitro*. São apresentados neste painel os resultados de um ensaio CDC para determinar a capacidade do anticorpo

9D4-TM elicitar a atividade CDC. Da maneira apresentada, o anticorpo 9D4-TM não exibe nenhuma atividade CDC comparada ao anticorpo controle positivo. A atividade CDC também não foi detectável para um anticorpo controle não relacionado, R347. Resumidamente, as células que expressam antígeno IFNAR1 foram incubadas tanto com o anticorpo controle positivo, 9D4-TM, quanto R347. Após uma série de lavagens, soro humano preparado recentemente foi adicionado. A citotoxicidade dependente de complemento (CDC) foi medida usando um ensaio de liberação de LDH.

4. TERMINOLOGIA

[0064] Pretende-se que os termos "interferon alfa", "IFN α ", "IFNa", "IFNA" e "IFN alfa" sejam usados indiferentemente e refiram-se a proteínas de IFN alfa codificadas por um gene funcional do locus do gene interferon alfa com 75 % ou mais de identidade de sequência com IFN alfa 1 (número de acesso no GenBank NP 076918 ou proteína codificada pelo número de acesso no GenBank NM_024013). Exemplos de subtipos de IFN alfa incluem IFN alfa 1, alfa 2a, alfa 2b, alfa 4, alfa 4b alfa 5, alfa 6, alfa 7, alfa 8, alfa 10, alfa 13, alfa 14, alfa 16, alfa 17 e alfa 21. Pretende-se que os termos "interferon alfa", "IFN α " e "IFN alfa" incluam formas recombinantes dos vários subtipos de IFN alfa, bem como preparações de ocorrência natural que compreendem proteínas de IFN alfa, tais como IFN de leucócito e IFN de linfoblastóide.

[0065] Os termos "Receptor 1 do interferon alfa", "IFNAR1", "IFNAR-I" e "antígeno de IFNAR-I" são usados indiferentemente e incluem variantes, isoformas, espécies homólogas de IFNAR-I de humanos, e análogos com pelo menos um epítipo comum à IFNAR-I. Dessa maneira, anticorpos humanos da invenção, em certas modalidades, podem reagir de maneira cruzada com IFNAR-I de espécies sem ser humana, ou outras proteínas que são estruturalmente relacionadas a IFNAR-I humano (por exemplo, homólogos de IFNAR-I humano). Em outras modalidades, os anticorpos podem ser completamente específicos para IFNAR-I humano e não exibem espécies ou

outros tipos de reatividade cruzada. A sequência completa de cDNA de IFNAR-I humano apresenta o número de acesso no Genbank NM 000629.

[0066] Da maneira aqui usada, pretende-se que o termo "modificações de sequência conservativa" inclua modificações de aminoácidos que não afetem alterem as características de ligação do anticorpo que contém a sequência de aminoácidos. Tais modificações conservativas incluem substituições, adições e deleções de aminoácidos. As modificações podem ser introduzidas em um anticorpo da invenção por técnicas padrões conhecidas na técnica, tais como mutagênese sítio direcionada e mutagênese mediada por PCR. As substituições conservativas de aminoácidos são aquelas nas quais o resíduo de aminoácido é substituído com um resíduo de aminoácido com uma cadeia lateral similar. Por exemplo, um ou mais aminoácidos de uma polaridade similar agem como equivalentes funcionais e resultam em uma alteração silenciosa na sequência de aminoácidos do peptídeo. Substituições que são de carga neutra e que substituem um resíduo por um resíduo menor também podem ser consideradas "substituições conservativas" mesmo se os resíduos estiverem em grupos diferentes (por exemplo, substituição de fenilalanina pela isoleucina menor). Famílias de resíduos de aminoácidos com cadeias laterais similares foram definidas na técnica. Vários exemplos não limitantes de famílias de substituições conservativas de aminoácidos são mostrados na tabela 1.

Tabela 1: Famílias de substituições conservativas de aminoácidos

Família	Aminoácidos
Não polar	Trp, Phe, Met, Leu, Ile, Val, Ala, Pro
Polar não carregada	Gly, Ser, Thr, Asn, Gln, Tyr, Cys
Acídica/carregada negativamente	Asp, Glu
Básica/carregada positivamente	Arg, Lys, His
Beta-ramificada	Thr, Val, Ile
Resíduos que influenciam a orientação da cadeia	Gly, Pro
Aromático	Trp, Tyr, Phe, His

5. DESCRIÇÃO DETALHADA

[0067] Ao contrário dos preceitos prévios, os inventores observaram que anticorpos anti-IFNAR1 com função efetora reduzida ou removida são

desejáveis para o tratamento de doenças crônicas autoimunes e/ou inflamatórias. Previamente, anticorpos direcionados contra IFNAR1 foram desenvolvidos entendendo-se que a função efetora desempenharia um papel na mediação do tratamento ou pelo menos na moderação de um estado de doença crônica autoimune e/ou inflamatória (ver, por exemplo, publicação U.S. 20060029601 ou publicação PCT WO06002177). Com este conceito, muitos dos preceitos prévios direcionaram os versados na técnica a identificar anticorpos anti-IFNAR1 com função efetora forte e a melhorar adicionalmente a função efetora aumentando a afinidade do anticorpo para receptores Fc (por exemplo, FcRn, FcγRIIIa, FcγRIIb) e/ou a proteína Clq do complemento. Sabe-se que estes anticorpos anti-IFNAR1 melhorados por função efetora resultantes são vantajosos no tratamento do estado das doenças.

[0068] Ao contrário deste entendimento prévio, a presente invenção descreve anticorpos anti-IFNAR1 com função efetora reduzida ou removida (tais como ADCC e/ou CDC). Por meio de estudos de reatividade cruzada de tecido, observou-se surpreendentemente que anticorpos anti-IFNAR1 com função efetora forte ou melhor exibiram uma tendência para toxicidade indesejada em virtude da prevalência da coloração de anti-IFNAR1 em tecidos não alvos. Esta toxicidade resultaria da ativação não específica de ADCC e/ou CDC em sítios não apropriados. Para reduzir ou eliminar esta toxicidade indesejada, o inventores reconheceram a necessidade de reduzir a função efetora de polipeptídeos compreendendo uma região Fc.

[0069] Dessa maneira, um aspecto da invenção inclui anticorpos modificados ou outros polipeptídeos compreendendo a região Fc de um anticorpo, compreendendo a adição, substituição ou deleção de pelo menos um resíduo de aminoácido na região Fc que resulta na afinidade reduzida ou removida para pelo menos um ligante de Fc (aqui referido como "anticorpos modificados da invenção", "anticorpos modificados" ou "anticorpos da

invenção"). A região Fc interage com inúmeros ligantes incluindo, mas sem limitação, receptores Fc (por exemplo, FcRn, FcγRIIIa, FcγRIIb), a proteína Clq do complemento e outras moléculas, tais como proteínas A e G. Estas interações são essenciais para uma variedade de funções efetoras e eventos de sinalização à jusante incluindo, mas sem limitação, citotoxicidade mediada por célula dependente de anticorpo (ADCC) e citotoxicidade dependente de complemento (CDC). Dessa maneira, em certas modalidades, os anticorpos modificados da invenção apresentam afinidade reduzida ou removida para um ligante de Fc responsável para facilitar a função efetora comparada a um anticorpo com a mesma sequência de aminoácidos como o anticorpo da invenção, mas sem compreender a adição, substituição ou deleção de pelo menos um resíduo de aminoácido na região Fc (também aqui referido como um "anticorpo não modificado"). Em certas modalidades, os anticorpos da invenção compreendem pelo menos uma ou mais das propriedades a seguir: função efetora reduzida ou removida (ADCC e/ou CDC), ligação reduzida ou removida dos receptores Fc, ou toxicidades reduzidas ou removidas. Mais especificamente, as modalidades da invenção fornecem anticorpos anti-IFNAR1 com menor afinidade para receptores Fc (por exemplo, FcRn, FcγRIIIa, FcγRIIb) e/ou a proteína Clq do complemento.

[0070] Em uma modalidade, os anticorpos da invenção compreendem uma região Fc compreendendo pelo menos uma adição, substituição ou deleção de um resíduo de aminoácido selecionado das posições que consistem em: 234, 235, e 331, em que o sistema de numeração da região constante é aquele do índice EU da maneira apresentada em Kabat et al. (1991, NIH Publication 91-3242, National Technical Information Service, Springfield, VA). Em uma modalidade específica, os anticorpos da invenção compreendem uma região Fc compreendendo pelo menos uma substituição de aminoácido selecionada do grupo que consiste em: L234F, L235E, e P331S, em que a primeira letra e número representam o aminoácido não modificado e

sua posição e a segunda letra representa o aminoácido substituído na dita posição.

[0071] Em uma outra modalidade, os anticorpos da invenção compreendem adicionalmente uma região Fc compreendendo pelo menos uma adição, substituição ou deleção de um resíduo de aminoácido que está correlacionado com maior estabilidade do anticorpo. Em uma modalidade, a adição, substituição ou deleção de um resíduo de aminoácido está na posição 228 da região Fc, em que o sistema de numeração da região constante é aquele do índice EU da maneira apresentada em Kabat et al.. Em uma modalidade específica, os anticorpos da invenção compreendem uma região Fc compreendendo uma substituição de aminoácido na posição 228, em que a substituição é um resíduo de serina. Em uma outra modalidade específica, os anticorpos da invenção do subtipo IgG4 compreendem uma substituição de aminoácido de serina na posição 228 da região Fc. Em outras modalidades, os anticorpos da invenção já compreendem um resíduo de serina na posição 228 da região Fc; em tais modalidades, nenhuma modificação é exigida. Em modalidades alternativas, os anticorpos da invenção não exigem a modificação de resíduo 228 da região Fc ou já compreendem serina na dita posição.

[0072] Em uma outra modalidade, os anticorpos da invenção podem ser de qualquer classe (por exemplo, mas sem limitação, IgG, IgM e IgE). Em certas modalidades, os anticorpos da invenção são elementos da classe IgG de anticorpos. Em uma modalidade específica, os anticorpos da invenção são da subclasse IgG1. Em uma outra modalidade específica, os anticorpos da invenção são da subclasse IgG1 e compreendem as seguintes substituições de aminoácidos: 234F, 235E e 33 IS da região Fc. Em modalidades de substituição, os anticorpos da invenção são da subclasse IgG4. Em uma modalidade específica, os anticorpos da invenção são da subclasse IgG4 e compreendem as seguintes substituições de aminoácidos: S228P e L235E da

região Fc.

[0073] Em certas modalidades, os anticorpos modificados da presente invenção podem ser produzidos combinando um domínio variável, ou fragmento deste, com um Fc domínio compreendendo uma ou mais das substituições de aminoácidos aqui reveladas. Em outras modalidades, anticorpos modificados da invenção podem ser produzidos modificando um anticorpo contendo domínio Fc pela introdução de uma ou mais das substituições de resíduos de aminoácidos no domínio Fc.

5.1 ligação reduzida para ligantes de Fc

[0074] Os versados na técnica entenderão que anticorpos da invenção podem apresentar propriedades de ligação Fc γ R e/ou Clq alteradas (com relação a um anticorpo não modificado) (exemplos de propriedades de ligação incluem, mas sem limitação, especificidade de ligação, constante de dissociação de equilíbrio (K_D), taxas de dissociação e associação (K_{off} e K_{on} respectivamente), afinidade e/ou avides de ligação) e que certas alterações são mais ou menos desejáveis. É conhecido na técnica que a constante de dissociação de equilíbrio (K_D) é definida como k_{off}/k_{on} . Os versados na técnica podem determinar qual parâmetro cinético é mais importante para uma dada aplicação de anticorpo. Por exemplo, uma modificação que reduz a ligação a um ou mais reguladores positivos (por exemplo, Fc γ RIIA) e/ou melhora a ligação a um receptor Fc inibitório (por exemplo, Fc γ RIIB) seria adequada para reduzir atividade ADCC. Dessa maneira, a razão de afinidades de ligação (por exemplo, constantes de dissociação de equilíbrio (K_D)) pode indicar se a atividade ADCC de um anticorpo da invenção é maior ou menor. Adicionalmente, uma modificação que reduz a ligação a Clq seria adequada para reduzir ou eliminar a atividade CDC.

[0075] As afinidades e propriedades de ligação de uma região Fc com seu ligante podem ser determinadas por uma variedade de métodos de ensaio *in vitro* (ensaios que baseiam-se na bioquímica ou imunologia) conhecidos na

técnica para determinar interações Fc-FcγR, isto é, ligação específica de uma região Fc a um FcγR incluindo, mas sem limitação, métodos de equilíbrio (por exemplo, ensaio imunoabsorvente ligado à enzima (ELISA) ou radioimunoensaio (RIA)), ou cinética (por exemplo, análise BIACORE®) e outros métodos, tais como ensaios de ligação indireta, ensaios de inibição competitiva, transferência de energia de ressonância por fluorescência (FRET), eletroforese em gel e cromatografia (por exemplo, filtração em gel). Estes e outros métodos podem utilizar uma marca em um ou mais dos componentes que estão sendo examinados e/ou empregar uma variedade de métodos de detecção incluindo, mas sem limitação, marcas cromogênicas, fluorescentes, luminescentes ou isotópicas. Uma descrição detalhada de afinidades e cinética de ligação pode ser encontrada em Paul, W.E., ed., *Fundamental Immunology*, 4th Ed., Lippincott-Raven, Philadelphia (1999).

[0076] Em uma modalidade, os anticorpos da invenção exibem menor afinidade de ligação com um ou mais receptores Fc incluindo, mas sem limitação, FcγRI (CD64), incluindo as isoformas FcγRIA, FcγRIB, e FcγRIC; FcγRII (CD32 incluindo as isoformas FcγRIIA, FcγRIIB, e FcγRIIC); e FcγRIII (CD 16, incluindo as isoformas FcγRIIIA e FcγRIIB) comparado a um anticorpo não modificado. Em certas modalidades, os anticorpos da invenção não compreendem um aumento concomitante na ligação do receptor FcγRIIB comparado a um anticorpo não modificado (por exemplo, contendo uma região Fc tipo selvagem).

[0077] Em uma modalidade, os anticorpos da invenção exibem menos afinidades com FcγRI com relação a um anticorpo não modificado. Em uma outra modalidade, os anticorpos da invenção exibem afinidades com receptor FcγRI que são pelo menos 2 vezes, ou pelo menos 3 vezes, ou pelo menos 5 vezes, ou pelo menos 7 vezes, ou pelo menos 10 vezes, ou pelo menos 20 vezes, ou pelo menos 30 vezes, ou pelo menos 40 vezes, ou pelo menos 50 vezes, ou pelo menos 60 vezes, ou pelo menos 70 vezes, ou pelo menos 80

vezes, ou pelo menos 90 vezes, ou pelo menos 100 vezes, ou pelo menos 200 vezes menores do que com um anticorpo não modificado.

[0078] Em uma outra modalidade, os anticorpos da invenção exibem afinidade com receptor FcγRI que são pelo menos 90 %, pelo menos 80 %, pelo menos 70 %, pelo menos 60 %, pelo menos 50 %, pelo menos 40 %, pelo menos 30 %, pelo menos 20 %, pelo menos 10 %, ou pelo menos 5 % menores do que com um anticorpo não modificado.

[0079] Em uma modalidade, os anticorpos da invenção exibem menor afinidade com o receptor FcγRIIIA com relação a um anticorpo não modificado. Em uma outra modalidade, os anticorpos da invenção exibem afinidades com receptor FcγRIIIA que são pelo menos 2 vezes, ou pelo menos 3 vezes, ou pelo menos 5 vezes, ou pelo menos 7 vezes, ou pelo menos 10 vezes, ou pelo menos 20 vezes, ou pelo menos 30 vezes, ou pelo menos 40 vezes, ou pelo menos 50 vezes, ou pelo menos 60 vezes, ou pelo menos 70 vezes, ou pelo menos 80 vezes, ou pelo menos 90 vezes, ou pelo menos 100 vezes, ou pelo menos 200 vezes menores do que com um anticorpo não modificado.

[0080] Em uma outra modalidade, os anticorpos da invenção exibem afinidades com receptor FcγRIIIA que são pelo menos 90 %, pelo menos 80 %, pelo menos 70 %, pelo menos 60 %, pelo menos 50 %, pelo menos 40 %, pelo menos 30 %, pelo menos 20 %, pelo menos 10 %, ou pelo menos 5 % menores do que com um anticorpo não modificado.

[0081] Entende-se na técnica que o variante alélico F158V do receptor FcγRIIIA apresenta características de ligação alteradas para anticorpos. Em uma modalidade, os anticorpos da invenção se ligam com menores afinidades a FcγRIIIA (F158V) com relação a um anticorpo não modificado. Em uma outra modalidade, os anticorpos da invenção exibem afinidades com receptor FcγRIIIA (F158V) que são pelo menos 2 vezes, ou pelo menos 3 vezes, ou pelo menos 5 vezes, ou pelo menos 7 vezes, ou pelo

menos 10 vezes, ou pelo menos 20 vezes, ou pelo menos 30 vezes, ou pelo menos 40 vezes, ou pelo menos 50 vezes, ou pelo menos 60 vezes, ou pelo menos 70 vezes, ou pelo menos 80 vezes, ou pelo menos 90 vezes, ou pelo menos 100 vezes, ou pelo menos 200 vezes menores do que com aquele de um anticorpo não modificado. Em uma outra modalidade, os anticorpos da invenção exibem afinidades com o receptor FcγRIIIA (F158V) que são pelo menos 90 %, pelo menos 80 %, pelo menos 70 %, pelo menos 60 %, pelo menos 50 %, pelo menos 40 %, pelo menos 30 %, pelo menos 20 %, pelo menos 10 %, ou pelo menos 5 % menores do que com um anticorpo não modificado.

[0082] Em uma outra modalidade, os anticorpos da invenção exibem maiores afinidades com o receptor FcγRIIB comparadas ao anticorpo não modificado. Em uma outra modalidade, os anticorpos da invenção exibem afinidades com o receptor FcγRIIB que não são mudadas ou maiores em pelo menos pelo menos 2 vezes, ou pelo menos 3 vezes, ou pelo menos 5 vezes, ou pelo menos 7 vezes, ou pelo menos 10 vezes, ou pelo menos 20 vezes, ou pelo menos 30 vezes, ou pelo menos 40 vezes, ou pelo menos 50 vezes, ou pelo menos 60 vezes, ou pelo menos 70 vezes, ou pelo menos 80 vezes, ou pelo menos 90 vezes, ou pelo menos 100 vezes, ou pelo menos 200 vezes do que aquele de um anticorpo não modificado. Em uma outra modalidade, os anticorpos da invenção exibem afinidades com o receptor FcγRIIB que são maiores em pelo menos 5 %, pelo menos 10 %, pelo menos 20 %, pelo menos 30 %, pelo menos 40 %, pelo menos 50 %, pelo menos 60 %, pelo menos 70 %, pelo menos 80 %, pelo menos 90 %, ou pelo menos 95 % do que um anticorpo não modificado.

[0083] Em uma outra modalidade, os anticorpos da invenção exibem afinidades com os receptores FcγRI, FcγRIIIA, ou FcγRIIIA (F158V) que são entre cerca de 100 nM a cerca de 100 μM, ou cerca de 100 nM a cerca de 10 μM, ou cerca de 100 nM a cerca de 1 μM, ou cerca de 1 nM a cerca de 100

μM , ou cerca de cerca de 10 nM a cerca de 100 μM , ou cerca de 1 μM a cerca de 100 μM , ou cerca de 10 μM a cerca de 100 μM . Em certas modalidades, os anticorpos da invenção exibem afinidades com os receptores $\text{Fc}\gamma\text{RI}$, $\text{Fc}\gamma\text{RIIIA}$, ou $\text{Fc}\gamma\text{RIIIA}$ (F158V) que são maiores do que 1 μM , maiores do que 5 μM , maiores do que 10 μM , maiores do que 25 μM , maiores do que 50 μM , ou maiores do que 100 μM .

[0084] Em uma outra modalidade, os anticorpos da invenção exibem afinidades com o receptor $\text{Fc}\gamma\text{RIIB}$ que são entre cerca de 100 nM a cerca de 100 μM , ou cerca de 100 nM a cerca de 10 μM , ou cerca de 100 nM a cerca de 1 μM , ou cerca de 1 nM a cerca de 100 μM , ou cerca de 10 nM a cerca de 100 μM , ou cerca de 1 μM a cerca de 100 μM , ou cerca de 10 μM a cerca de 100 μM . Em certas modalidades, os anticorpos da invenção exibem afinidades com os receptores $\text{Fc}\gamma\text{RI}$, $\text{Fc}\gamma\text{RIIIA}$, ou $\text{Fc}\gamma\text{RIIIA}$ (F158V) que são menores do que 100 μM , menores do que 50 μM , menores do que 10 μM , menores do que 5 μM , menores do que 2,5 μM , menores do que 1 μM , ou menores do que 100 nM, ou menores do que 10 nM.

[0085] Em uma outra modalidade, os anticorpos da invenção exibem afinidades com o receptor $\text{Fc}\gamma\text{RIIB}$ que são entre cerca de 100 nM a cerca de 100 μM , ou cerca de 100 nM a cerca de 10 μM , ou cerca de 100 nM a cerca de 1 μM , ou cerca de 1 nM a cerca de 100 μM , ou cerca de 10 nM a cerca de 100 μM , ou cerca de 1 μM a cerca de 100 μM , ou cerca de 10 μM a cerca de 100 μM . Em certas modalidades, os anticorpos da invenção exibem afinidades com os receptores $\text{Fc}\gamma\text{RI}$, $\text{Fc}\gamma\text{RIIIA}$, ou $\text{Fc}\gamma\text{RIIIA}$ (F158V) que são menores do que 100 μM , menores do que 50 μM , menores do que 10 μM , menores do que 5 μM , menores do que 2,5 μM , menores do que 1 μM , ou menores do que 100 nM, ou menores do que 10 nM.

5.2 Menor atividade ADCC

[0086] É bem conhecido na técnica que anticorpos são capazes de direcionar o ataque e destruição de antígeno alvo por meio de processos

múltiplos, conhecidos coletivamente na técnica como funções efetoras do anticorpo. Um destes processos, conhecido como "citotoxicidade mediada por célula dependente de anticorpo" ou "ADCC", refere-se a uma forma de citotoxicidade na qual a Ig secretada ligada nos receptores Fc (FcRs) presentes em certas células citotóxicas (por exemplo, células exterminadoras naturais (NK), neutrófilos e macrófagos) permite que estas células citotóxicas efetoras se liguem especificamente a uma célula alvo que carrega o antígeno e, subsequentemente, mate a célula alvo com citotoxinas. Anticorpos IgG específicos de alta afinidade direcionados na superfície de célula alvos "armam" as células citotóxicas e são exigidos para tal extermínio. A lise da célula alvo é extracelular, exige contato célula a célula direto e não envolve o complemento. Um outro processo incluído pelo termo função efetora é citotoxicidade dependente de complemento (daqui por diante referido como "CDC") que refere-se a um evento bioquímico de destruição de célula alvo mediada por anticorpo pelo sistema complemento. O sistema complemento é um sistema complexo de proteínas observado no plasma sanguíneo normal que combina com anticorpos para destruir bactérias patogênicas e outras células estrangeiras.

[0087] A capacidade de qualquer anticorpo particular mediar a lise da célula alvo por ADCC pode ser ensaiada. Para avaliar a atividade ADCC, um anticorpo de interesse é adicionado à células alvo em combinação com células efetoras imunes, que podem ser ativadas pelos complexos antígeno-anticorpo que resultam em citólise da célula alvo. Citólise é em geral detectada pela liberação da marca (por exemplo, substratos radioativos, corantes fluorescentes ou proteínas intracelulares naturais) das células lisadas. As células efetoras usadas para tais ensaios incluem células mononucleares do sangue periférico (PBMC) e células exterminadoras naturais (NK). Exemplos específicos de ensaios de ADCC *in vitro* são descritos em Wisecarver et al, 1985 79:277-282; Bruggemann et al, 1987, J Exp Med 166:1351-1361;

Wilkinson et al., 2001, J Immunol Methods 258:183-191; Patel et al., 1995 J Immunol Methods 184:29-38. Alternativamente, ou adicionalmente, a atividade ADCC do anticorpo de interesse pode ser avaliada *in vivo*, por exemplo, em um modelo animal tal como aquele revelado em Clynes et al., 1998, PNAS USA 95:652-656.

[0088] Observa-se que os anticorpos da invenção são caracterizados por ensaios funcionais *in vitro* para determinar uma ou mais funções celulares efetoras mediadas por FcγR. Em certas modalidades, os anticorpos da invenção apresentam propriedades de ligação similares e funções celulares efetoras em modelos *in vivo* (tais como aqueles aqui descritos e revelados) como aqueles em ensaios *in vitro*. Entretanto, a presente invenção não exclui anticorpos da invenção que não exibem o fenótipo desejado em ensaios *in vitro*, mas exibem o fenótipo desejado *in vivo*.

[0089] Em uma modalidade, os anticorpos da invenção exibem menos atividades ADCC comparada a um anticorpo não modificado. Em uma outra modalidade, os anticorpos da invenção exibem atividades ADCC que são pelo menos 2 vezes, ou pelo menos 3 vezes, ou pelo menos 5 vezes ou pelo menos 10 vezes ou pelo menos 50 vezes ou pelo menos 100 vezes menores do que com aquele de um anticorpo não modificado. Ainda em uma outra modalidade, os anticorpos da invenção exibem atividades ADCC que são reduzidas em pelo menos 10 %, ou pelo menos 20 %, ou em pelo menos 30 %, ou em pelo menos 40 %, ou em pelo menos 50 %, ou em pelo menos 60 %, ou em pelo menos 70 %, ou em pelo menos 80 %, ou em pelo menos 90 %, ou em pelo menos 100 %, ou em pelo menos 200 %, ou em pelo menos 300 %, ou em pelo menos 400 %, ou em pelo menos 500 % com relação a um anticorpo não modificado. Em certas modalidades, os anticorpos da invenção não apresentam nenhuma atividade ADCC detectável. Em modalidades específicas, a redução e/ou remoção de atividade ADCC pode ser atribuída aos anticorpos de menor afinidade da invenção que exibem ligantes de e/ou

receptores de Fc.

5.3 Menor atividade CDC

[0090] A via de ativação do complemento é iniciada pela ligação do primeiro componente do sistema complemento (Clq) a uma molécula, um anticorpo, por exemplo, complexado com um antígeno cognato. Para avaliar a ativação do complemento, pode ser realizado um ensaio CDC, por exemplo, como descrito em Gazzano-Santoro et al, 1996, J. Immunol. Methods, 202:163.

[0091] Em uma modalidade, os anticorpos da invenção exibem menores afinidades com Clq com relação a um anticorpo não modificado. Em uma outra modalidade, os anticorpos da invenção exibem afinidades com receptor Clq que são pelo menos 2 vezes, ou pelo menos 3 vezes, ou pelo menos 5 vezes, ou pelo menos 7 vezes, ou pelo menos 10 vezes, ou pelo menos 20 vezes, ou pelo menos 30 vezes, ou pelo menos 40 vezes, ou pelo menos 50 vezes, ou pelo menos 60 vezes, ou pelo menos 70 vezes, ou pelo menos 80 vezes, ou pelo menos 90 vezes, ou pelo menos 100 vezes, ou pelo menos 200 vezes menores do que com um anticorpo não modificado.

[0092] Em uma outra modalidade, os anticorpos da invenção exibem afinidades com Clq que são pelo menos 90 %, pelo menos 80 %, pelo menos 70 %, pelo menos 60 %, pelo menos 50 %, pelo menos 40 %, pelo menos 30 %, pelo menos 20 %, pelo menos 10 %, ou pelo menos 5 % menores do que com um anticorpo não modificado.

[0093] Em uma outra modalidade, os anticorpos da invenção exibem afinidades com Clq que são entre cerca de 100 nM a cerca de 100 µM, ou cerca de 100 nM a cerca de 10 µM, ou cerca de 100 nM a cerca de 1 µM, ou cerca de 1 nM a cerca de 100 µM, ou cerca de 10 nM a cerca de 100 µM, ou cerca de 1 µM a cerca de 100 µM, ou cerca de 10 µM a cerca de 100 µM. Em certas modalidades, os anticorpos da invenção exibem afinidades com Clq que são maiores do que 1 µM, maiores do que 5 µM, maiores do que 10 µM,

maiores do que 25 μ M, maiores do que 50 μ M, ou maiores do que 100 μ M.

[0094] Em uma modalidade, os anticorpos da invenção exibem menores atividades CDC comparadas a um anticorpo não modificado. Em uma outra modalidade, os anticorpos da invenção exibem atividades CDC que são pelo menos 2 vezes, ou pelo menos 3 vezes, ou pelo menos 5 vezes ou pelo menos 10 vezes ou pelo menos 50 vezes ou pelo menos 100 vezes menores do que com aquele de um anticorpo não modificado. Ainda em uma outra modalidade, os anticorpos da invenção exibem atividades CDC que são reduzidas em pelo menos 10 %, ou pelo menos 20 %, ou em pelo menos 30 %, ou em pelo menos 40 %, ou em pelo menos 50 %, ou em pelo menos 60 %, ou em pelo menos 70 %, ou em pelo menos 80 %, ou em pelo menos 90 %, ou em pelo menos 100 %, ou em pelo menos 200 %, ou em pelo menos 300 %, ou em pelo menos 400 %, ou em pelo menos 500 % com relação a um anticorpo não modificado. Em certas modalidades, os anticorpos da invenção não exibem atividades CDC detectáveis. Em modalidades específicas, a redução e/ou remoção de atividade CDC pode ser atribuída aos anticorpos de menor afinidade da invenção que exibem ligantes de e/ou receptores Fc.

5.4 Anticorpo relacionado à menor toxicidade

[0095] Entende-se na técnica que terapias biológicas podem ter questões de toxicidade adversa associadas com a natureza do complexo de direcionar o sistema imune para reconhecer e atacar células e/ou alvos não desejados. Quando o reconhecimento e/ou o alvejamento para atacar não ocorre onde o tratamento é exigido, consequências tal como a toxicidade adversa podem ocorrer. Por exemplo, coloração de anticorpo de tecidos não alvejados pode ser indicativa de questões de toxicidade potencial.

[0096] Em uma modalidade, os anticorpos da invenção exibem menos coloração de tecidos não alvejados comparado a um anticorpo não modificado. Em uma outra modalidade, os anticorpos da invenção exibem menos coloração de tecidos não alvejados que são pelo menos 2 vezes, ou

pelo menos 3 vezes, ou pelo menos 5 vezes, ou pelo menos 7 vezes, ou pelo menos 10 vezes, ou pelo menos 20 vezes, ou pelo menos 30 vezes, ou pelo menos 40 vezes, ou pelo menos 50 vezes, ou pelo menos 60 vezes, ou pelo menos 70 vezes, ou pelo menos 80 vezes, ou pelo menos 90 vezes, ou pelo menos 100 vezes, ou pelo menos 200 vezes menos do que com aquele de um anticorpo não modificado. Em uma outra modalidade, os anticorpos da invenção exibem menos coloração de tecidos não alvejados que são menores em pelo menos 10 %, ou pelo menos 20 %, ou em pelo menos 30 %, ou em pelo menos 40 %, ou em pelo menos 50 %, ou em pelo menos 60 %, ou em pelo menos 70 %, ou em pelo menos 80 %, ou em pelo menos 90 %, ou em pelo menos 100 %, ou em pelo menos 200 %, ou em pelo menos 300 %, ou em pelo menos 400 %, ou em pelo menos 500 % com relação a um anticorpo não modificado.

[0097] Em uma modalidade, os anticorpos da invenção exibem um anticorpo menor relacionado à toxicidade comparado a um anticorpo não modificado. Em uma outra modalidade, os anticorpos da invenção exibem toxicidades que são pelo menos 2 vezes, ou pelo menos 3 vezes, ou pelo menos 5 vezes, ou pelo menos 7 vezes, ou pelo menos 10 vezes, ou pelo menos 20 vezes, ou pelo menos 30 vezes, ou pelo menos 40 vezes, ou pelo menos 50 vezes, ou pelo menos 60 vezes, ou pelo menos 70 vezes, ou pelo menos 80 vezes, ou pelo menos 90 vezes, ou pelo menos 100 vezes, ou pelo menos 200 vezes menores do que com aquele de um anticorpo não modificado. Em uma outra modalidade, os anticorpos da invenção exibem toxicidades que são reduzidas em pelo menos 10 %, ou pelo menos 20 %, ou em pelo menos 30 %, ou em pelo menos 40 %, ou em pelo menos 50 %, ou em pelo menos 60 %, ou em pelo menos 70 %, ou em pelo menos 80 %, ou em pelo menos 90 %, ou em pelo menos 100 %, ou em pelo menos 200 %, ou em pelo menos 300 %, ou em pelo menos 400 %, ou em pelo menos 500 % com relação a um anticorpo não modificado.

5.5 Internalização de anticorpos

[0098] Os anticorpos da invenção podem se ligar a antígenos de superfície celular que podem internalizar, carregando adicionalmente os anticorpos na célula. Uma vez dentro da célula, os anticorpos podem ser liberados no citoplasma, alvejados em um compartimento específico, ou reciclados na superfície celular. Em algumas modalidades, os anticorpos da invenção se ligam a um antígeno de superfície celular que internaliza. Em outras modalidades, os anticorpos da invenção podem ser alvejados em organelas ou compartimentos específicos da célula. Ainda em outras modalidades, os anticorpos da invenção podem ser reciclados na superfície celular ou periférica após internalização. Em uma modalidade específica, o anticorpo da invenção é específica para IFNAR1 .

[0099] A internalização de anticorpos pode ser medida por técnicas aceitas na tecnologia tais como aquelas apresentadas no exemplo 34. Em algumas modalidades, o grau de internalização é representado como um percentual de anticorpo total ligado nas células. Em outras modalidades, o grau de internalização de anticorpo é representado como uma comparação a um anticorpo controle não específico. Em outras modalidades, o grau de internalização de anticorpo é representado como uma comparação a um anticorpo que se liga a um antígeno de superfície celular que não internaliza. Ainda em outras modalidades, o grau de internalização de anticorpo está correlacionado à degradação do anticorpo. Ainda em outras modalidades, o grau de internalização de anticorpo é representado como uma razão de coloração citoplasmática versus superfície celular.

[00100] Em uma modalidade, os anticorpos da invenção, uma vez ligados, internalizam nas células em que a internalização é pelo menos cerca de 10 %, pelo menos cerca de 20 %, pelo menos cerca de 30 %, pelo menos cerca de 40 %, pelo menos cerca de 50 %, pelo menos cerca de 60 %, pelo menos cerca de 70 %, pelo menos cerca de 80 %, ou pelo menos cerca de 90

%, pelo menos cerca de 100 %, pelo menos cerca de 110 %, pelo menos cerca de 130 %, pelo menos cerca de 140 %, pelo menos cerca de 150 %, pelo menos cerca de 160 %, ou pelo menos cerca de 170 % maior que um anticorpo controle não específico.

[00101] Em uma outra modalidade, os anticorpos da invenção, uma vez ligados, internalizam nas células em que a internalização é 1-10 %, 10-20 %, 20 - 30 %, 30- 40 %, 40- 50 %, 50-60 %, 60-70 %, 70-80 %, 80-90 %, 90-100 %, 100-110 %, 110-120 %, 120-130 %, 130-140 %, 140- 150 %, 150-160 %, 160-170 % maior que um anticorpo controle não específico.

[00102] Em uma outra modalidade, os anticorpos da invenção, uma vez ligados, internalizam nas células em que a internalização é 1-10 %, 10-20 %, 20 - 30 %, 30- 40 %, 40- 50 %, 50-60 %, 60-70 %, 70-80 %, 80-90 %, 90-100 %, 100-110 %, 110-120 %, 120-130 %, 130-140 %, 140- 150 %, 150-160 %, 160-170 % maior que anticorpos controle da maneira determinada pelo ensaio de internalização usando um anticorpo secundário.

5.6 Estrutura tridimensional de uma região Fc humana

[00103] A presente invenção também fornecem formas cristalinas de uma região Fc de IgG humana, em que a região Fc humana, designada como Fc-TM, compreende substituições de aminoácidos de L234F, L235E e P331S numeradas pelo índice EU da maneira apresentada em Kabat e exibe função efetora reduzida ou removida (ADCC e/ou CDC), ligação reduzida ou removida dos receptores Fc, e/ou toxicidades reduzidas ou removidas. Em certas modalidades, os cristais são caracterizados por um grupo espacial ortorrômbico C222₁ com unidade celular de a=50,18, b=147,30 e c=75,47. Em certas modalidades, os cristais são de qualidade de difração para permitir a determinação da estrutura de difração de raios-X tridimensional do(s) polipeptídeo(s) cristalino(s) em alta resolução, preferivelmente em uma resolução maior do que cerca de 3 Å, tipicamente na faixa de cerca de 2 Å a cerca de 3 Å.

[00104] A presente invenção fornece adicionalmente as estruturas tridimensionais de alta resolução e as coordenadas da estrutura atômica dos cristais Fc-TM. Os métodos específicos usados para obter cristais e coordenadas de estrutura são fornecidos no exemplos, *infra*.

[00105] As coordenadas de estrutura atômica de Fc-TM cristalino, obtidas da forma C222₁ do cristal na resolução 2,3 Å, são listadas na tabela 6. Todos os resíduos nas posições 236 a 445 podem ser rastreados na densidade eletrônica e nenhuma densidade eletrônica foi observada para resíduos de dobradiça antes da posição 236, incluindo as mutações L234F e L235E. A densidade eletrônica na posição 331 corresponde a serina.

[00106] A estrutura tridimensional completa de Fc-TM foi muito similar a estruturas previamente relatadas de regiões Fc humana não ligadas (Deisenhofer, (1981). Biochemistry, 20, 2361-2370; Krapp et al, (2003). J. Mol. Biol. 325, 979-989; Matsumiya et al, (2007). J. Mol. Biol. 368, 767-779; Oganessian et al, (2007) Molecular Immunology, December 11, 2007, para impressão). Quando considerado individualmente, os domínios Fc-TM C_H2 e C_H3 mostraram melhor conservação e rigidez estrutural quando comparados com outras estruturas Fc humanas não ligadas, não mutadas.

[00107] A informação da estrutura pode ser usada em uma variedade de computação ou métodos que baseiam-se em computador para selecionar, projetar ou identificar anticorpos anti-IFNAR que alteram propriedades biológicas. Por exemplo, os cristais e coordenadas de estrutura obtidas destes podem ser usados para selecionar, projetar ou identificar adições, substituições ou deleções de aminoácido na região Fc que resultam em ligação reduzida ou removida dos receptores Fc, função efetora reduzida ou removida (ADCC e/ou CDC), ou toxicidades reduzidas ou removidas.

[00108] Uma vez que um anticorpo foi projetado ou selecionado pelos métodos anteriores, sua função efetora, ligação aos receptores Fc, ou toxicidades, podem ser testadas e otimizadas por quaisquer métodos

conhecidos pelos versados na técnica. Os métodos exemplares são descritos nas seções 5.1-5.4 anteriores.

[00109] A presente invenção também inclui anticorpos anti-IFNAR1 que são projetados ou selecionados pelo uso da informação da estrutura de Fc-TM e que exibem as atividades biológicas desejadas. Em algumas modalidades, tais anticorpos compreendem uma região Fc com as mutações de L234F, L235E, e P331S. Em algumas modalidades, tais anticorpos compreendem uma região Fc com uma ou mais adição, substituição ou deleção de um resíduo de aminoácido sem ser resíduos de aminoácidos 234, 235, e 331.

5.7 Anticorpos anti-IFNAR1

[00110] Em uma modalidade, os anticorpos da invenção são específicos para IFNAR1 (isto é, se ligam especificamente). Tais anticorpos também podem ser aqui referidos como "anticorpos anti-IFNAR1 da invenção". Em uma outra modalidade, os anticorpos da invenção são específicos para IFNAR1 humano. Em uma outra modalidade, os anticorpos anti-IFNAR1 da invenção podem reagir de maneira cruzada com IFNAR1 de espécies sem ser a espécie humana, ou outras proteínas que são estruturalmente relacionadas a IFNAR1 humano (por exemplo, homólogos de IFNAR1 humano). Em outras modalidades, os anticorpos anti-IFNAR1 da invenção podem ser específicos apenas para IFNAR1 humano e não exibem espécies ou outros tipos de reatividade cruzada.

[00111] Em uma modalidade, os anticorpos anti-IFNAR1 da invenção exibem menores afinidades de ligação com ligantes de Fc e apresentam pelo menos uma das propriedades a seguir: função efetora reduzida ou removida (ADCC e/ou CDC), ligação reduzida ou removida aos ligantes de Fc, ou toxicidades reduzidas ou removidas comparadas a um anticorpo não modificado.

[00112] Em uma modalidade, anticorpos anti-IFNAR1 da invenção

compreendem a adição, substituição ou deleção de pelo menos um resíduo de aminoácido selecionado do grupo que consiste em: L234F, L235E, e P331S. Em uma modalidade específica, os anticorpos anti-IFNAR1 da invenção compreendem as substituições de aminoácidos: L234F, L235E e P331S da região Fc. Em uma modalidade específica, um anticorpo anti-IFNAR1 da invenção é um anticorpo de isotipo IgG.

[00113] Em uma outra modalidade, anticorpos anti-IFNAR1 da invenção são da subclasse IgG4. Ainda em uma outra modalidade, anticorpos IgG4 anti-IFNAR1 da invenção compreendem a substituição de aminoácido L235E da região Fc. Em uma outra modalidade, os anticorpos IgG4 anti-IFNAR1 da invenção também compreendem uma mudança de aminoácido que está correlacionada com maior estabilidade. Em uma modalidade específica, anticorpos IgG4 anti-IFNAR1 da invenção compreendem adicionalmente a substituição de aminoácido S228P da região Fc.

[00114] Em uma outra modalidade, anticorpos anti-IFNAR1 da invenção exibem afinidades de ligação reduzidas ou removidas para receptores Fc (por exemplo, mas sem limitação, Fc γ RI (CD64), incluindo as isoformas Fc γ RIA, Fc γ RIB, e Fc γ RIC; Fc γ RII (CD32), incluindo as isoformas Fc γ RIIA, Fc γ RIIB, e Fc γ RIIC; e Fc γ RIII (CD 16), incluindo as isoformas Fc γ RIIIA e Fc γ RIIB) comparados a um anticorpo não modificado. Em uma modalidade específica, os anticorpos anti-IFNAR1 da invenção exibem menos afinidades com Fc γ RI com relação a um anticorpo não modificado. Em uma outra modalidade específica, os anticorpos anti-IFNAR1 da invenção exibem menores afinidades com o receptor Fc γ RIIIA com relação a um anticorpo não modificado. Em uma outra modalidade específica, os anticorpos anti-IFNAR1 da invenção se ligam com menores afinidades ao alelo F158V de Fc γ RIIIA com relação a um anticorpo não modificado.

[00115] Em uma outra modalidade, anticorpos anti-IFNAR1 da invenção exibem afinidades de ligação reduzidas ou removidas com Clq

comparados a um anticorpo não modificado. Em uma modalidade específica, os anticorpos anti-IFNAR1 da invenção exibem menos afinidades com FcγRI com relação a um anticorpo não modificado.

[00116] Em uma modalidade, anticorpos anti-IFNAR1 da invenção exibem função efetora reduzida ou removida. Em uma modalidade específica, anticorpos anti-IFNAR1 da invenção exibem atividade ADCC e/ou CDC reduzida ou removida. Em uma outra modalidade específica, os anticorpos anti-IFNAR1 da invenção exibem toxicidade reduzida ou removida.

5.7.1 Sequências de anticorpo anti-IFNAR1

[00117] Em uma modalidade, as sequências de aminoácidos das regiões variáveis de cadeia pesada e/ou regiões variáveis de cadeia leve dos anticorpos anti-IFNAR1 da invenção são aqui fornecidas como figuras IA, 2A, 3A, 4A e figuras IB, 2B, 3B, 4B, respectivamente. Em uma outra modalidade, a sequência de polinucleotídeos que codifica regiões variáveis de cadeia pesada e variáveis de cadeia leve dos anticorpos anti-IFNAR1 da invenção é aqui fornecida como figuras IA, 2A, 3A, 4A e figuras IB, 2B, 3B, 4B, respectivamente.

[00118] Em uma outra modalidade, sequências selecionadas de anticorpos anti-IFNAR1 da invenção podem ser observadas em patente U.S. 5.919.453, pedidos de patente U.S.: 10/831.459, 10/182.058, 11/157.494 e 11/521.102 cada um das quais são aqui incorporados pela referência e na sua íntegra para todos os propósitos. Em uma modalidade alternativa, as sequências dos anticorpos anti-IFNAR1 da invenção não compreendem as sequências observadas na patente U.S. 5.919.453, pedidos de patente U.S.: 10/831.459, 10/182.058, 11/157.494 e 11/521.102.

[00119] Em outras modalidades, os anticorpos da invenção são revelado nos pedidos de patente U.S. 60/842.925, depositado em 8 de setembro de 2006, 60/866.917; depositado em 22 de novembro de 2006; 60/911.397, depositado em 12 de abril de 2007; 60/915.309, depositado em

22 de maio de 2007; pedido de patente U.S. 11/852.106, depositado em 7 de setembro de 2007; e pedido PCT US2007/07791, depositado em 7 de setembro de 2007, cada um dos quais são aqui incorporados na sua íntegra para todos os propósitos.

[00120] Em uma modalidade, anticorpos anti-IFNAR1 da invenção também incluem anticorpos que compreendem uma sequência de aminoácidos de uma cadeia pesada variável e/ou cadeia leve variável que é pelo menos 45 %, pelo menos 50 %, pelo menos 55 %, pelo menos 60 %, pelo menos 65 %, pelo menos 70 %, pelo menos 75 %, pelo menos 80 %, pelo menos 85 %, pelo menos 90 %, pelo menos 95 %, ou pelo menos 99 % idêntica à sequência de aminoácidos da cadeia pesada e/ou cadeia leve variáveis dos anticorpos 3F11, 11E2, 4G5 e 9D4s (ver figuras 1-4 para sequências).

[00121] Será entendido que a complementaridade que determina números de resíduos de regiões (CDRs) aqui referidos são aqueles de Kabat et al. (1991, publicação NIH 91-3242, National Technical Information Service, Springfield, VA). Especificamente, resíduos 24-34 (CDR1), 50-56 (CDR2) e 89-97 (CDR3) no domínio variável de cadeia leve e 31-35 (CDR1), 50-65 (CDR2) e 95-102 (CDR3) no domínio variável de cadeia pesada. Note que CDRs variam consideravelmente de anticorpo para anticorpo (e por definição não exibirão homologia com as sequências consensuais Kabat). O alinhamento máximo de resíduos de estrutura exige frequentemente a inserção de resíduos "espaçadores" no sistema de numeração a serem usados na região Fv. Será entendido que as CDRs aqui referidas são aquelas de Kabat et al. supra. Além do mais, a identidade de certos resíduos individuais em qualquer número do sítio Kabat dado pode variar de cadeia de anticorpo para cadeia de anticorpo em virtude das interespecies ou divergência alélica.

[00122] Em uma modalidade, os anticorpos anti-IFNAR1 da invenção compreendem pelo menos uma CDR VH com uma sequência de aminoácidos de qualquer uma das CDRs VH listadas na tabela 2. Em uma outra

modalidade, os anticorpos anti-IFNAR1 da invenção compreendem pelo menos uma CDR VL com uma sequência de aminoácidos de qualquer uma das CDRs VL listadas na tabela 2. Em outras modalidades, os anticorpos anti-IFNAR1 da invenção compreendem uma ou mais das CDRs VH e uma ou mais das CDRs VL listadas na tabela 2. Ainda em outras modalidades, os anticorpos anti-IFNAR1 da invenção compreendem qualquer combinação das CDRs VH e CDRs VL listadas na tabela 2. Em uma outra modalidade, os anticorpos anti-IFNAR1 da invenção podem compreender pelo menos 1, ou pelo menos 2, ou pelo menos 3, ou pelo menos 4, ou pelo menos 5, ou pelo menos 6 CDRs selecionadas da tabela 2. Em uma outra modalidade, anticorpos anti-IFNAR1 da invenção podem compreender um domínio VH e/ou um domínio VL, cada um compreendendo 1, 2 ou 3 CDRs. Em uma outra modalidade, os anticorpos anti-IFNAR1 da invenção podem compreender um VH que compreendem adicionalmente 1, 2, ou 3 CDRs de cadeia pesada (CDRH#) listadas na tabela 2. Em uma outra modalidade, os anticorpos anti-IFNAR1 da invenção podem compreender um VL que compreende adicionalmente 1, 2, ou 3 CDRs de cadeia leve (CDRL#) listadas na tabela 2.

[00123] Em uma modalidade específica, os anticorpos anti-IFNAR1 da invenção compreendem as CDRs de anticorpo 3F11 (ver, por exemplo, tabela 2). Em uma outra modalidade específica, os anticorpos anti-IFNAR1 da invenção compreendem as CDRs de anticorpo 4G5 (ver, por exemplo, tabela 2). Em uma outra modalidade específica, os anticorpos anti-IFNAR1 da invenção compreendem as CDRs de anticorpo 11E2 (ver, por exemplo, tabela 2). Ainda em uma outra modalidade específica, os anticorpos anti-IFNAR1 da invenção compreendem as CDRs de anticorpo 9D4 (ver, por exemplo, tabela 2).

Tabela 2. Sequências CDR de anticorpo anti-IFNAR1

Anticorpo	CDR	Sequência	Seq ID No:
3F11	CDRL1	RASQGIYSVLA	1

3F11	CDRL2	DASRLES	2
3F11	CDRL3	QQFNSYIT	3
3F11	CDRH1	GYFWS	4
3F11	CDRH2	EIDHSGKTNYNPSLKS	5
3F11	CDRH3	ESKYYFGLDV	6
4G5	CDRL1	RATQDISIALV	11
4G5	CDRL2	DASGLGS	12
4G5	CDRL3	QQFNSYPYT	13
4G5	CDRH1	NYYSWS	14
4G5	CDRH2	EILSGSTNYNPSLKS	15
4G5	CDRH3	ESKWGYFDS	16
11E2	CDRL1	RASQSVSSSFFA	21
11E2	CDRL2	GASSRAT	22
11E2	CDRL3	QQYYDSSAIT	23
11E2	CDRH1	NYWIA	24
11E2	CDRH2	IYPGDSDIRYSPSFQG	25
11E2	CDRH3	HDIEGFDY	26
9D4	CDRL1	RASQSVSSSFFA	31
9D4	CDRL2	GASSRAT	32
9D4	CDRL3	QQYDSSAIT	33
9D4	CDRH1	NYWIA	34
9D4	CDRH2	IYPGDSDIRYSPSFQG	35
9D4	CDRH3	HDIEGFDY	36

[00124] Em uma modalidade, anticorpos anti-IFNAR1 da invenção compreendem uma sequência de aminoácidos de uma cadeia pesada variável e/ou cadeia leve variável que compreende pelo menos 1, pelo menos 2, pelo menos 3, pelo menos 4, pelo menos 5, pelo menos 10, pelo menos 15, ou pelo menos 20 substituições, adições, ou deleções de aminoácidos comparados à variáveis de cadeia pesada e/ou cadeia leve representadas nas figuras 1, 2, 3 ou 4. Em uma outra modalidade, anticorpos anti-IFNAR1 da invenção compreendem uma ou mais CDRs com pelo menos 1, pelo menos 2, pelo menos 3, pelo menos 4, pelo menos 5, ou pelo menos 10 substituições, deleções, ou adições de aminoácidos de uma ou mais CDRs listadas na tabela 2.

[00125] Em uma outra modalidade, anticorpos anti-IFNAR1 da invenção compreendem anticorpos codificados por uma sequência de polinucleotídeos que hibridiza a sequência de nucleotídeos representada nas figuras 1, 2, 3, ou 4 em condições severas. Em uma outra modalidade, anticorpos anti-IFNAR1 da invenção compreendem uma ou mais CDRs

codificadas por uma sequência de nucleotídeos que hibridiza em condições severas a sequência de nucleotídeos de uma ou mais CDRs listadas nas figuras 1, 2, 3, ou 4. Condições severas de hibridização incluem, mas sem limitação, hibridização de DNA ligado em filtro em cloreto de sódio/citrato de sódio 6X (SSC) em cerca de 45 °C após uma ou mais lavagens em SSC/SDS a 0,1 % 0,2X em cerca de 50-65 °C, condições altamente severas tal como hibridização de DNA ligado em filtro em SSC 6X em cerca de 45 °C após uma ou mais lavagens em SSC/SDS a 0,2 % 0,1X em cerca de 60 °C, ou quaisquer outras condições severas de hibridização conhecidas pelos versados na técnica (ver, por exemplo, Ausubel, F. M. et al, eds. 1989 Current Protocols in Molecular Biology, vol. 1, Green Publishing Associates, Inc. e John Wiley e Sons, Inc., NY at pages 6.3.1 to 6.3.6 e 2.10.3). Em uma outra modalidade, anticorpos anti-IFNAR1 da invenção incluem, mas sem limitação, anticorpos codificados por uma sequência de polinucleotídeos que é pelo menos 70 %, pelo menos 80 %, pelo menos 85 %, pelo menos 90 %, pelo menos 95 %, pelo menos 96 %, pelo menos 97 %, pelo menos 98 %, ou pelo menos 99 % idêntica a uma sequência de polinucleotídeos que codifica anticorpos 3F11, 11E2, 4G5 ou 9D4 (ver figuras 1-4).

5.7.2 Afinidade de ligação de anti-IFNAR1

[00126] Em certas modalidades, os anticorpos anti-IFNAR1 da invenção exibem uma alta afinidade de ligação com IFNAR1. Em uma modalidade específica, anticorpos anti-IFNAR1 da invenção exibem taxa de associação (k_{on}) de pelo menos $10^5 M^{-1}s^{-1}$, pelo menos $5 \times 10^5 M^{-1}s^{-1}$, pelo menos $10^6 M^{-1}s^{-1}$, pelo menos $5 \times 10^6 M^{-1}s^{-1}$, pelo menos $10^7 M^{-1}s^{-1}$, pelo menos $5 \times 10^7 M^{-1}s^{-1}$, ou pelo menos $10^8 M^{-1}s^{-1}$. Em uma outra modalidade, anticorpos anti-IFNAR1 da invenção exibem uma k_{on} de pelo menos $2 \times 10^5 M^{-1}s^{-1}$, pelo menos $5 \times 10^5 M^{-1}s^{-1}$, pelo menos $10^6 M^{-1}s^{-1}$, pelo menos $5 \times 10^6 M^{-1}s^{-1}$, pelo menos $10^7 M^{-1}s^{-1}$, pelo menos $5 \times 10^6 M^{-1}s^{-1}$ ou pelo menos $10^8 M^{-1}s^{-1}$.

[00127] Em uma outra modalidade, anticorpos anti-IFNAR1 da

invenção exibem uma taxa de dissociação (k_{off}) menor do que 10^{-1}s^{-1} , menor do que $5 \times 10^{-1}\text{s}^{-1}$, menor do que 10^{-2}s^{-1} , menor do que $5 \times 10^{-2}\text{s}^{-1}$, menor do que 10^{-3}s^{-1} , menor do que $5 \times 10^{-3}\text{s}^{-1}$, menor do que 10^{-4}s^{-1} , menor do que 10^{-4}s^{-1} , menor do que 10^{-5}s^{-1} , menor do que $5 \times 10^{-5}\text{s}^{-1}$, menor do que 10^{-6}s^{-1} , menor do que $5 \times 10^{-6}\text{s}^{-1}$, menor do que 10^{-7}s^{-1} , menor do que $5 \times 10^{-7}\text{s}^{-1}$, menor do que 10^{-8}s^{-1} , menor do que $5 \times 10^{-8}\text{s}^{-1}$, menor do que 10^{-9}s^{-1} , menor do que $5 \times 10^{-9}\text{s}^{-1}$, ou menor do que 10^{-10}s^{-1} . Em uma outra modalidade, anticorpos anti-IFNAR1 da invenção exibem uma k_{off} , menor do que $5 \times 10^{-4}\text{s}^{-1}$, menor do que 10^{-5}s^{-1} , menor do que $5 \times 10^{-5}\text{s}^{-1}$, menor do que 10^{-6}s^{-1} , menor do que $5 \times 10^{-6}\text{s}^{-1}$, menor do que 10^{-7}s^{-1} , menor do que $5 \times 10^{-7}\text{s}^{-1}$, menor do que 10^{-8}s^{-1} , menor do que $5 \times 10^{-8}\text{s}^{-1}$, menor do que 10^{-9}s^{-1} , menor do que $5 \times 10^{-9}\text{s}^{-1}$ ou menor do que 10^{-10}s^{-1} .

[00128] Em uma outra modalidade, anticorpos anti-IFNAR1 da invenção exibem uma constante de afinidade ou K_a ($k_{\text{on}}/k_{\text{off}}$) de pelo menos 10^2M^{-1} , pelo menos $5 \times 10^2\text{M}^{-1}$, pelo menos 10^3M^{-1} , pelo menos $5 \times 10^3\text{M}^{-1}$, pelo menos 10^4M^{-1} , pelo menos $5 \times 10^4\text{M}^{-1}$, pelo menos 10^5M^{-1} , pelo menos $5 \times 10^5\text{M}^{-1}$, pelo menos 10^6M^{-1} , pelo menos $5 \times 10^6\text{M}^{-1}$, pelo menos 10^7M^{-1} , pelo menos $5 \times 10^7\text{M}^{-1}$, pelo menos 10^8M^{-1} , pelo menos $5 \times 10^8\text{M}^{-1}$, pelo menos 10^9M^{-1} , pelo menos $5 \times 10^9\text{M}^{-1}$, pelo menos 10^{10}M^{-1} , pelo menos $5 \times 10^{10}\text{M}^{-1}$, pelo menos 10^{11}M^{-1} , pelo menos $5 \times 10^{11}\text{M}^{-1}$, pelo menos 10^{12}M^{-1} , pelo menos $5 \times 10^{12}\text{M}^{-1}$, pelo menos 10^{13}M^{-1} , pelo menos $5 \times 10^{13}\text{M}^{-1}$, pelo menos 10^{14}M^{-1} , pelo menos $5 \times 10^{14}\text{M}^{-1}$, pelo menos 10^{15}M^{-1} ou pelo menos $5 \times 10^{15}\text{M}^{-1}$.

[00129] Em uma outra modalidade, anticorpos anti-IFNAR1 da invenção exibem uma constante de dissociação ou K_d ($k_{\text{off}}/k_{\text{on}}$) menor do que 10^{-2}M , menor do que $5 \times 10^{-2}\text{M}$, menor do que 10^{-3}M , menor do que $5 \times 10^{-3}\text{M}$, menor do que 10^{-4}M , menor do que $5 \times 10^{-4}\text{M}$, menor do que 10^{-5}M , menor do que $5 \times 10^{-5}\text{M}$, menor do que 10^{-6}M , menor do que $5 \times 10^{-6}\text{M}$, menor do que 10^{-7}M , menor do que $5 \times 10^{-7}\text{M}$, menor do que 10^{-8}M , menor do que $5 \times 10^{-8}\text{M}$, menor do que 10^{-9}M , menor do que $5 \times 10^{-9}\text{M}$, menor do que 10^{-10}M , menor do que $5 \times 10^{-10}\text{M}$, menor do que 10^{-11}M , menor do que $5 \times 10^{-11}\text{M}$, menor do que

10^{-12}M , menor do que $5 \times 10^{-12}\text{M}$, menor do que 10^{-13}M , menor do que $5 \times 10^{-13}\text{M}$, menor do que 10^{-14}M , menor do que $5 \times 10^{-14}\text{M}$, menor do que 10^{-15}M ou menor que $5 \times 10^{-15}\text{M}$.

5.7.3 Especificidade do subtipo interferon alfa

[00130] Em uma modalidade, os anticorpos anti-IFNAR1 da invenção exibem a capacidade de bloquear a ligação a IFNAR1 e/ou neutralizar a atividade biológica de um ou mais interferon tipo I (IFN) incluindo, mas sem limitação, IFN α , IFN β , e IFN ω . A ligação de subtipos de IFN α pode ser determinada por ensaios de competição de rotina, tal como aquele descrito em Antibodies: A Laboratory Manual, CSHL. Em uma outra modalidade, os anticorpos anti-IFNAR1 da invenção exibem a capacidade de bloquear a ligação a IFNAR1 e/ou neutralizar a atividade biológica, incluindo, mas sem limitação, de IFN α , IFN β , e IFN ω . Em uma outra modalidade, os anticorpos anti-IFNAR1 da invenção exibem a capacidade de bloquear a ligação a IFNAR1 e/ou neutralizar a atividade biológica de um ou mais subtipos de IFN α incluindo, mas sem limitação, subtipos de IFN α 1, 2a, 2b, 4, 4b, 5, 6, 7, 8, 10, 14, 16, 17, e 21. Em uma outra modalidade, os anticorpos anti-IFNAR1 da invenção exibem a capacidade de bloquear a ligação a IFNAR1 e/ou neutralizar a atividade biológica de todos os subtipos de IFN α . Neste contexto, anticorpos anti-IFNAR1 da invenção exibem a capacidade de bloquear a ligação e/ou neutralizar a atividade biológica de IFN α de subtipos IFN α 1, 2a, 2b, 4, 4b, 5, 6, 7, 8, 10, 14, 16, 17, e 21. Em uma modalidade, anticorpos anti-IFNAR1 da invenção não exibem a capacidade de bloquear a ligação a IFNAR1 e/ou neutralizar a atividade biológica de um ou mais subtipos de IFN α incluindo, mas sem limitação, subtipos de IFN α 1, 2a, 2b, 4, 4b, 5, 6, 7, 8, 10, 14, 16, 17, e 21. Em uma modalidade específica, anticorpos anti-IFNAR1 da invenção exibem a capacidade de bloquear a ligação a IFNAR1 e/ou neutralizar a atividade biológica de todos os subtipos de IFN α , exceto IFN α 21.

[00131] Em uma outra modalidade, os anticorpos anti-IFNAR1 da invenção exibem a capacidade de bloquear a ligação a IFNAR1 e/ou neutralizar a atividade biológica de pelo menos 1, pelo menos 2, pelo menos 3, pelo menos 4, pelo menos 5, pelo menos 6, pelo menos 7, pelo menos 8, pelo menos 9, pelo menos 10, pelo menos 11, pelo menos 12, ou pelo menos 13 dos seguintes subtipos de IFN α : 1, 2a, 2b, 4, 4b, 5, 6, 7, 8, 10, 14, 16, 17, e 21. Em uma modalidade alternativa, os anticorpos anti-IFNAR1 da invenção não exibem a capacidade de bloquear a ligação a IFNAR1 e/ou neutralizar a atividade biológica de pelo menos 1, pelo menos 2, pelo menos 3, pelo menos 4, pelo menos 5, pelo menos 6, pelo menos 7, pelo menos 8, pelo menos 9, pelo menos 10, pelo menos 11, pelo menos 12, ou pelo menos 13 dos seguintes subtipos de IFN α : 1, 2a, 2b, 4, 4b, 5, 6, 7, 8, 10, 14, 16, 17, e 21.

[00132] Em outras modalidades, os anticorpos anti-IFNAR1 da invenção exibem a capacidade de bloquear a ligação a IFNAR1 e/ou neutralizar a atividade biológica de interferons como os do tipo I de ocorrência não natural. Tais interferons como os do tipo I de ocorrência não natural, ou interferons como os do tipo I híbridos representam moléculas que foram alteradas de suas estruturas de ocorrência natural por técnicas recombinantes ou sintéticas. Interferons híbridos, da maneira descrita em patente U.S. 7.232.563, representam uma substituição molecular de vários segmentos de uma estrutura de interferon de ocorrência natural para criar uma molécula que tem maior eficácia e/ou menor toxicidade.

[00133] Em outras modalidades, os anticorpos anti-IFNAR1 da invenção exibem a capacidade de bloquear a ligação a IFNAR1 e/ou neutralizar a atividade biológica de interferons do tipo I mutados. Interferons do tipo I mutados são descritos em patentes U.S. 6.299.870 e 6.300.474 que são incorporadas pela referência na sua íntegra.

[00134] Ainda em outras modalidades, os anticorpos anti-IFNAR1 da invenção exibem a capacidade de bloquear a ligação a IFNAR1 e/ou

neutralizar a atividade biológica de interferons como os do tipo I derivado de outra espécie animal. Tais interferons como os do tipo I são isolados de galinha, gato, camundongo, rato, coelho, ovelha, cavalo ou outra espécie animal. Em modalidades específicas, interferons humanos do tipo I são isolados de células derivadas de galinha, gato, camundongo, rato, coelho, ovelha, cavalo ou outra espécie animal. Em outras modalidades, interferons humanos do tipo I transmitem diferentes padrões de glicosilação quando derivados de galinha, gato, camundongo, rato, coelho, ovelha, cavalo ou outra espécie animal. Discussão adicional de interferons de outra espécie animal pode ser encontrada em publicação WIPO WO06099451 A3, que é aqui incorporada pela referência.

[00135] Com o propósito da presente invenção, a capacidade de anticorpos anti-IFNAR1 da invenção neutralizarem a atividade de IFN α pode ser monitorada, por exemplo, em um ensaio de ativação do receptor quinase (KIRA), da maneira descrita em WO 95/14930, publicado em 1 de junho de 1995, medindo a capacidade de um anticorpo candidato reduzir a fosforilação de tirosina (resultante da ligação do ligante) do complexo do receptor IFNAR1/R2.

[00136] Alternativamente, ou opcionalmente, com o propósito da presente invenção, a capacidade de anticorpos anti-IFNAR1 da invenção neutralizarem a eliciação de uma resposta celular por IFN α pode ser testada monitorando a neutralização da atividade antiviral de IFN α , da maneira descrita por Kawade, J. Interferon Res. 1 :61 70 (1980), ou Kawade e Watanabe, J. Interferon Res. 4:571 584 (1984), ou Yousefi, et al, Am. J. Clin. Pathol. 83: 735 740 (1985), ou testando a capacidade de anticorpos anti-IFNAR1 da invenção neutralizarem a capacidade de IFN α ativar a ligação da molécula de sinalização, fator 3 estimulado por interferon (ISGF3) para um oligonucleotídeo derivado do elemento de resposta estimulada por interferon (ISRE), em um ensaio de deslocamento de mobilidade eletroforética, da

maneira descrita por Kurabayashi et al., *Mol. Cell Biol*, 15: 6386 (1995).

[00137] Em uma modalidade, anticorpos anti-IFNAR1 da invenção exibem a capacidade de inibir pelo menos uma função mediada por IFN α do receptor IFNAR1. Em uma modalidade, os anticorpos anti-IFNAR1 da invenção inibem a atividade do receptor IFNAR1 em resposta a IFN α ou subtipos deste em pelo menos cerca de 60 %, pelo menos cerca de 70 %, pelo menos cerca de 75 %, pelo menos cerca de 80 %, pelo menos cerca de 85 %, pelo menos cerca de 90 %, pelo menos cerca de 95 %, ou pelo menos cerca de 99 %. Em uma outra modalidade, os anticorpos anti-IFNAR1 da invenção inibem a atividade do receptor IFNAR1 em resposta a IFN α ou subtipos deste, da maneira medida pelo ensaio KIRA descrito anteriormente, em pelo menos cerca de 60 %, pelo menos cerca de 70 %, pelo menos cerca de 75 %, pelo menos cerca de 80 %, pelo menos cerca de 85 %, pelo menos cerca de 90 %, pelo menos cerca de 95 %, ou pelo menos cerca de 99 %. Em uma outra modalidade, os anticorpos anti-IFNAR1 da invenção inibem a atividade do receptor IFNAR1 em resposta a IFN α ou subtipos deste da maneira medida pela ligação da molécula de sinalização, fator 3 estimulado por interferon (ISGF3) para um oligonucleotídeo derivado do elemento de resposta estimulada por interferon (ISRE), em um ensaio de deslocamento de mobilidade eletroforética, da maneira descrita por Kurabayashi et al., *Mol. Cell Biol*, 15: 6386 (1995), em pelo menos cerca de 60 %, pelo menos cerca de 70 %, pelo menos cerca de 75 %, pelo menos cerca de 80 %, pelo menos cerca de 85 %, pelo menos cerca de 90 %, pelo menos cerca de 95 %, ou pelo menos cerca de 99 %. Em uma outra modalidade, os anticorpos anti-IFNAR1 da invenção inibem a atividade do receptor IFNAR1 em resposta a IFN α ou subtipos deste da maneira medida por um ensaio conhecido na técnica em pelo menos cerca de 60 %, pelo menos cerca de 70 %, pelo menos cerca de 75 %, pelo menos cerca de 80 %, pelo menos cerca de 85 %, pelo menos cerca de 90 %, pelo menos cerca de 95 %, ou pelo menos cerca de 99 %.

[00138] Em uma outra modalidade, anticorpos anti-IFNAR1 da invenção exibem a capacidade de neutralizar as propriedades antivirais de IFN α ou subtipos deste. Em uma modalidade, os anticorpos anti-IFNAR1 da invenção neutralizam pelo menos cerca de 60 %, pelo menos cerca de 70 %, pelo menos cerca de 75 %, pelo menos cerca de 80 %, pelo menos cerca de 85 %, pelo menos cerca de 90 %, pelo menos cerca de 95 %, ou pelo menos cerca de 99 % da atividade antiviral de IFN α ou subtipos deste, da maneira determinada pelo ensaio antiviral de Kawade (1980), ou Yousefi (1985). Em uma modalidade alternativa, anticorpos anti-IFNAR1 da invenção não neutralizam as propriedades antivirais de IFN α ou subtipos deste.

[00139] Com o propósito da presente invenção, a capacidade de anticorpos anti-IFNAR1 da invenção para bloquear a ligação de IFN α ou subtipos deste com IFNAR1 pode ser determinada por um ensaio de competição de rotina tal como aquele descrito em Anticorpos: UM Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Ed Harlow e David Lane (1988). Em uma modalidade, os anticorpos anti-IFNAR1 da invenção exibem a capacidade de bloquear ou inibir a ligação dos seguintes subtipos de IFN α : 1, 2, 4, 5, 8, 10, e 21 to IFNAR1. Em uma outra modalidade, os anticorpos anti-IFNAR1 da invenção exibem a capacidade de bloquear inibir a ligação de: pelo menos 1, pelo menos 2, pelo menos 3, pelo menos 4, pelo menos 5, pelo menos 6, ou pelo menos 7 dos seguintes subtipos de IFN α : 1, 2, 4, 5, 8, 10, e 21 to IFNAR1.

[00140] Anticorpos da invenção pode agir em IFNAR para regular genes responsivos de IFN-I. Genes responsivos de IFN-I foram identificados em pedidos de patente U.S. intitulado "IFN alfa-induced Pharmacodynamic Markers" com os seguintes números de série: 60/873.008, depositado em 6 de dezembro de 2006; 60/907.762, depositado em 16 de abril de 2007; 60/924.584, depositado em 21 de maio de 2007; 60/960.187, depositado em 19 de setembro de 2007; 60/966.176, depositado em 5 de novembro de 2007 e

pedido PCT número de série PCT/US2007/02494, depositado em 6 de dezembro de 2007, cada um das quais são aqui incorporados pela referência e na sua íntegra.

5.7.4 Anticorpos

[00141] Anticorpos da invenção podem incluir anticorpos monoclonais, anticorpos multiespecíficos, anticorpos humanos, anticorpos humanizados, anticorpos camelizados, anticorpos quiméricos, Fvs de cadeia única (scFv), Fvs ligado a dissulfeto (sdFv), e anticorpos anti-idiotípicos (anti-Id), e fragmentos de ligação de epítipo de quaisquer dos anteriores. Em particular, anticorpos incluem moléculas de imunoglobulina e fragmentos imunologicamente ativos de moléculas de imunoglobulina, isto é, moléculas que contêm um sítio de ligação de antígeno, estes fragmentos podem ou não estar fundidos a um outro domínio de imunoglobulina, incluindo mas sem limitação, uma região Fc ou fragmento deste. Da maneira aqui definida, as palavras "anticorpo" e "anticorpos" incluem especificamente anticorpos modificados aqui descritos. Moléculas de imunoglobulina podem ser de qualquer tipo (por exemplo, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA e IgY), classe (por exemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 e IgA2) ou subclasse. Anticorpos da invenção podem ser de qualquer isotipo. Em uma modalidade, os anticorpos da invenção são do isotipo IgG1, IgG2, IgG3 ou IgG4. Anticorpos da invenção podem ser anticorpos de comprimento total que compreendem regiões variáveis e constantes, ou podem ser fragmentos de ligação de antígeno destes, tal como um anticorpo de cadeia única.

[00142] O termo "fragmento de ligação de antígeno" de um anticorpo (ou simplesmente "fragmento de anticorpo"), da maneira aqui usada, refere-se a um ou mais fragmentos de um anticorpo que mantém a capacidade de se ligar especificamente a um antígeno (por exemplo, IFNAR1). Observa-se que a função de ligação do antígeno de um anticorpo pode ser realizada por fragmentos de um anticorpo de comprimento total. Exemplos de fragmentos

de ligação incluídos no termo "fragmento de ligação de antígeno" de um anticorpo incluem (i) um fragmento Fab, um fragmento monovalente que consiste nos domínios V_L , V_H , C_L e C_H domínios; (ii) um fragmento $F(ab')_2$, um fragmento bivalente que compreende dois fragmentos Fab ligados por uma ponte de dissulfeto na região da dobradiça; (iii) um fragmento Fd que consiste nos domínios V_H e C_H ; (iv) um fragmento Fv que consiste nos domínios V_L e V_H de um braço único de um anticorpo, (v) um fragmento dAb (Ward et al., (1989) Nature 341 :544-546), que consiste em um domínio V_H ; e (vi) uma região de determinação de complementaridade isolada (CDR). Além do mais, embora os dois domínios do fragmento Fv, V_L e V_H sejam codificados por genes separados, eles podem ser unidos, usando métodos recombinantes, por um ligador sintético que capacita-os a serem preparados como uma cadeia protéica única, na qual as regiões V_L e V_H pareiam para formar moléculas monovalentes (conhecidas como Fv de cadeia única (scFv); ver, por exemplo, Bird et al. (1988) Science 242:423-426; e Huston et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883;. Pretende-se também que tais anticorpos de cadeia única estejam incluídos no termo "fragmento de ligação de antígeno" de um anticorpo. Estes fragmentos de anticorpo são obtidos usando técnicas convencionais conhecidas pelos versados na técnica, e os fragmentos são selecionados por utilidade da mesma maneira como são os anticorpos intactos.

[00143] Em outras modalidades, a invenção fornece proteínas de fusão (daqui por diante referidas como "proteínas de fusão da invenção") que compreendem uma região Fc modificada com afinidade reduzida ou removida com um ligante de Fc responsável para facilitar a função efetora, comparada a uma região Fc com a mesma sequência de aminoácidos como a proteína de fusão da invenção, mas que não compreendem a adição, substituição ou deleção de pelo menos um resíduo de aminoácido na região Fc.

[00144] Em algumas modalidades, proteínas de fusão da invenção

podem compreender um peptídeo, polipeptídeo, andaime de proteína, scFv, dsFv, diacopo, Tandab, ou um anticorpo mimético fundido a uma região Fc modificada. Em algumas modalidades, proteínas de fusão da invenção compreendem uma região ligadora que conecta o peptídeo, polipeptídeo, andaime de proteína, scFv, dsFv, diacopo, Tandab, ou um anticorpo mimético à região Fc modificada. O uso de ligadores de peptídeo de ocorrência natural, bem como artificiais para conectar polipeptídeos nos polipeptídeos de fusão ligados inéditos é bem conhecido na literatura (Hallewell et al. (1989), J. Biol. Chem. 264, 5260-5268; Alfthan et al. (1995), Protein Eng. 8, 725-731; Robinson & Sauer (1996), Biochemistry 35, 109-116; Khandekar et al. (1997), J. Biol. Chem. 272, 32190-32197; Fares et al. (1998), Endocrinology 139, 2459-2464; Smallshaw et al. (1999), Protein Eng. 12, 623-630; patente U.S. 5.856.456).

[00145] Em uma modalidade, proteínas de fusão da invenção compreendem uma região Fc compreendendo pelo menos uma adição, substituição ou deleção de um resíduo de aminoácido selecionado do grupo que consiste em: 234, 235, e 331, em que o sistema de numeração da região constante é aquele do índice EU da maneira apresentada em Kabat et al. (1991, NIH Publication 91- 3242, National Technical Information Service, Springfield, VA). Em uma modalidade específica, proteínas de fusão da invenção compreendem uma região Fc compreendendo pelo menos um resíduo de aminoácido selecionado do grupo que consiste em: L234F, L235E, e P331S.

[00146] Em uma outra modalidade, proteínas de fusão da invenção compreendem adicionalmente uma região Fc compreendendo pelo menos uma adição, substituição ou deleção de um resíduo de aminoácido que está correlacionado com maior estabilidade da proteína de fusão. Em uma modalidade, a adição, substituição ou deleção de um resíduo de aminoácido está na posição 228 da região Fc, em que o sistema de numeração da região

constante é aquele do índice EU da maneira apresentada em Kabat et al. (supra). Em uma modalidade específica, proteínas de fusão da invenção compreendem uma região Fc compreendendo uma substituição de aminoácido na posição 228, em que a substituição é um resíduo de serina.

[00147] Em algumas modalidades, os anticorpos ou proteínas de fusão da presente invenção compreendem um ou mais glicoformas modificadas por engenharia, isto é, uma composição de carboidrato que é covalentemente anexada a uma molécula compreendendo uma região Fc. Glicoformas modificadas por engenharia podem ser usadas para uma variedade de propósitos incluindo, mas sem limitação, reduzir a função efetora. Glicoformas modificadas por engenharia podem ser geradas por qualquer método conhecido pelos versados na técnica, por exemplo, usando modificadas por engenharia ou variantes, co-expressando com uma ou mais enzimas, por exemplo DI N-acetilglicosaminiltransferase III (GnTII 1), expressando uma molécula compreendendo uma região Fc em vários organismos ou linhagens celulares de vários organismos, ou modificando carboidrato(s) após a molécula que compreende região Fc ter sido expressa. Métodos para gerar glicoformas modificadas por engenharia são conhecidos na técnica e incluem, mas sem limitação, aqueles descritos em Umana et al, 1999, Nat. Biotechnol 17:176-180; Davies et al, 20017 Biotechnol Bioeng 74:288-294; Shields et al, 2002, J Biol Chem 277:26733-26740; Shinkawa et al., 2003, J Biol Chem 278:3466-3473) patente U.S. 6.602.684; U.S. Ser. No. 10/277.370; U.S. Ser. No. 10/113.929; PCT WO 00/61739A1; PCT WO 01/292246A1; PCT WO 02/311140A1; PCT WO 02/30954A1; tecnologia Potillegent™ (Biowa, Inc. Princeton, N. J.); tecnologia geneticamente modificada de glicosilação Glyco MAb™ (GLYCART biotechnology AG, Zurich, Suíça); cada um dos quais é aqui incorporado pela referência na sua íntegra. Ver, por exemplo, WO 00061739; EA01229125; U.S. 20030115614; Okazaki et al., 2004, JMB, 336: 1239- 49 cada um dos quais é aqui

incorporado pela referência na sua íntegra.

5.7.5 Conjugados de anticorpo

[00148] A presente invenção inclui o uso de anticorpos, ou fragmentos destes, conjugados ou fundidos a uma ou mais frações incluindo, mas sem limitação, peptídeos, polipeptídeos, proteínas, proteínas de fusão, ácido nucleico moléculas, moléculas pequenas, agentes miméticos, medicamentos sintéticos, moléculas inorgânicas e moléculas orgânicas.

[00149] A presente invenção inclui o uso de anticorpos, ou fragmentos destes, fundidos recombinantemente ou conjugados quimicamente (incluindo tanto conjugações covalentes quanto não covalentes) a uma proteína ou polipeptídeo heterólogos (ou fragmento deste, a um polipeptídeo com pelo menos 10, pelo menos 20, pelo menos 30, pelo menos 40, pelo menos 50, pelo menos 60, pelo menos 70, pelo menos 80, pelo menos 90 ou pelo menos 100 aminoácidos) para gerar proteínas de fusão. A fusão não necessariamente precisa ser direta, mas pode ocorrer por meio de sequências ligadoras. Por exemplo, anticorpos podem ser usados para alvejar polipeptídeos heterólogos parátipos celulares particulares, tanto *in vitro* quanto *in vivo*, fundindo ou conjugando os anticorpos nos anticorpos específicos para receptores de superfície celular e particulares. Anticorpos fundidos ou conjugados aos polipeptídeos heterólogos também podem ser usados em imunoensaios e métodos de purificação *in vitro* usando métodos conhecidos na técnica. Ver, por exemplo, publicação internacional WO 93/21232; patente Européia EP 439,095; Naramura et al., 1994, Immunol. Lett. 39:91-99; patente U.S. 5.474.981; Gillies et al., 1992, PNAS 89:1428-1432; e Fell et al., 1991, J. Immunol. 146:2446-2452, que são incorporadas pela referência na sua íntegra.

[00150] Proteínas de fusão adicionais podem ser geradas por meio de técnicas de embaralhamento de gene, embaralhamento de motivo, embaralhamento de exon, e/ou embaralhamento de códon (coletivamente

referidos como "Embaralhamento de DNA"). Embaralhamento de DNA pode ser empregado para alterar as atividades de anticorpos da invenção ou fragmentos destes (por exemplo, anticorpos, ou fragmentos destes, com maiores afinidades e menores taxas de dissociação). Ver, em geral, patentes U.S. 5.605.793; 5.811.238; 5.,830.721; 5.834.252; e 5.837.458, e Patten et al, 1997, Curr. Opinion Biotechnol. 8:724-33; Harayama, 1998, Trends Biotechnol. 16(2):76-82; Hansson, et al., 1999, J. Mol. Biol. 287:265-76; e Lorenzo e Blasco, 1998, Biotechniques 24(2):308-313 (cada uma destas patentes e publicações são aqui incorporadas pela referência na sua íntegra). Anticorpos, ou fragmentos destes, ou os anticorpos codificados, ou fragmentos destes, podem ser modificados sendo submetidos a mutagênese aleatória por PCR tendendo ao erro, inserção aleatória de nucleotídeo ou outros métodos anteriores de recombinação. Uma ou mais porções de um polinucleotídeo que codifica um anticorpo ou fragmento de anticorpo, cujas porções se ligam especificamente à IFNAR1, podem ser recombinadas com um ou mais componentes, motivos, seções, partes, domínios, fragmentos, etc. de uma ou mais moléculas heterólogas.

[00151] Além disso, os anticorpos, ou fragmentos destes, podem ser fundidos às sequências marcadoras, tal como um peptídeo para facilitar a purificação. Em outras modalidades, a sequência marcadora de aminoácidos é um peptídeo hexa-histidina, tal como a etiqueta fornecida em um vetor pQE (QIAGEN, Inc., 9259 Eton Avenue, Chatsworth, Calif, 91311), entre outros, muitos dos quais são comercialmente disponíveis. Da maneira descrita em Gentz et al., 1989, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:821-824, por exemplo, hexa-histidina fornece purificação conveniente da proteína de fusão. Outras etiquetas de peptídeo usadas para a purificação incluem, mas sem limitação, a etiqueta hemaglutinina "HA", que corresponde a um epítipo derivado da proteína hemaglutinina de influenza (Wilson et al., 1984, Cell 37:767) e a etiqueta "Flag".

[00152] Em outras modalidades, anticorpos da presente invenção ou fragmentos, análogos ou derivados destes, conjugaram em um agente diagnóstico ou detectável. Tais anticorpos podem ser usados para monitorar ou diagnosticar o desenvolvimento ou progressão de um distúrbio inflamatório como parte de um procedimento de teste clínico, tal como determinar a eficácia de uma terapia particular. Tal diagnóstico e detecção podem ser realizados acoplando o anticorpo às substâncias detectáveis incluindo, mas sem limitação, várias enzimas, tais como, mas sem limitação, peroxidase do rábano silvestre, fosfatase alcalina, beta-galactosidase, ou acetilcolinesterase; grupos prostéticos tais como, mas sem limitação, estreptavidina/biotina e avidina/biotina; materiais fluorescentes tais como, mas sem limitação, umbeliferona, fluoresceína, isotiocinato de fluoresceína, rodamina, diclorotriazinilamina fluoresceína, cloreto de dansila ou ficoeritrina; materiais luminescentes tal como, mas sem limitação, luminol; materiais bioluminescentes tais como, mas sem limitação, luciferase, luciferina e aequorina; materiais radioativos tais como, mas sem limitação, iodo (^{131}I , ^{125}I , ^{123}I , ^{121}I), carbono (^{14}C), enxofre (^{35}S), trítio (^3H), índio (^{115}In , ^{113}In , ^{112}In , ^{111}In), e tecnécio (^{99}Tc), tálio (^{201}Tl), gálio (^{68}Ga , ^{67}Ga), paládio (^{103}Pd), molibdênio (^{99}Mo), xenônio (^{133}Xe), flúor (^{18}F), ^{153}Sm , ^{177}Lu , ^{159}Gd , ^{149}Pm , ^{140}La , ^{175}Yb , ^{166}Ho , ^{90}Y , ^{47}Sc , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{142}Pr , ^{105}Rh , ^{97}Ru , ^{68}Ge , ^{57}Co , ^{65}Zn , ^{85}Sr , ^{32}P , ^{153}Gd , ^{169}Yb , ^{51}Cr , ^{54}Mn , ^{75}Se , ^{113}Sn , e ^{117}Sn ; metais que emitem pósitron usando várias tomografias de emissão de pósitron, íons metálicos paramagnéticos não radioativos, e moléculas que são radiomarcadas ou conjugadas em radioisótopos específicos.

[00153] Técnicas para conjugar frações terapêuticas dos anticorpos são bem conhecidas, ver, por exemplo, Arnon et al, "Monoclonal Antibodies Form Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy", em Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy, Reisfeld et al. (eds.), pp. 243-56. (Alan R. Liss, Inc. 1985); Hellstrom et al., "Antibodies For Drug Delivery", em Controlled Drug

Delivery (2nd Ed.), Robinson et al. (eds.), pp. 623-53 (Marcel Dekker, Inc. 1987); Thorpe, "Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review", em *Monoclonal Antibodies 84: Biological And Clinical Applications*, Pinchera et al. (eds.), pp. 475-506 (1985); "Analysis, Results, And Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy", em *Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy*, Baldwin et al. (eds.), pp. 303-16 (Academic Press 1985), e Thorpe et al., 1982, *Immunol. Rev.* 62:119-58.

[00154] Alternativamente, um anticorpo pode ser conjugado em um segundo anticorpo para formar um anticorpo heteroconjugado da maneira descrita por Segal na patente U.S. 4,676,980, que é aqui incorporada pela referência na sua íntegra.

[00155] A fração terapêutica ou medicamento conjugado a um anticorpo, ou fragmento deste que se liga especificamente a IFNAR1, pode ser escolhido para atingir o(s) efeito(s) profilático(s) ou terapêutico(s) desejado(s) para um distúrbio particular em um indivíduo. Um clínico ou outro médico pode considerar o seguinte quando decidir qual fração terapêutica ou medicamento para conjugar a um anticorpo ou fragmento deste que se liga especificamente a IFNAR1: a natureza da doença, a gravidade da doença e a condição do indivíduo.

5.7.6 Métodos de produzir Anticorpos

[00156] Os anticorpos, ou fragmentos destes, podem ser produzidos por qualquer método conhecido na técnica para a síntese de anticorpos, em particular, por síntese química ou por técnicas de expressão recombinante.

[00157] Anticorpos monoclonais podem ser preparados usando uma ampla variedade de técnicas conhecidas na tecnologia, incluindo o uso de tecnologias de hibridoma, recombinante e de exibição de fago, ou uma combinação destas. Por exemplo, anticorpos monoclonais podem ser produzidos usando técnicas de hibridoma incluindo aquelas conhecidas na

técnica e preceituadas, por exemplo, em Harlow et al, *Antibodies: A Laboratory Manual*, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. 1988); Hammerling, et al., em: *Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas* 563-681 (Elsevier, N.Y., 1981) (as ditas referências aqui incorporadas pela referência nas suas íntegras). O termo "anticorpo monoclonal", da maneira aqui usada, não é limitado aos anticorpos produzidos por meio de tecnologia de hibridoma. O termo "anticorpo monoclonal" refere-se a um anticorpo que deriva-se de um clone único, incluindo qualquer clone eucariótico, procariótico ou de fago, e não do método pelo qual é produzido.

[00158] Métodos para produzir e selecionar anticorpos específicos usando tecnologia de hibridoma são de rotina e conhecidos na tecnologia. Resumidamente, os camundongos podem ser imunizados com IFNAR1 e, uma vez que uma resposta imune é detectada, por exemplo, anticorpos específicos para IFNAR1 são detectados no soro do camundongo, o baço do camundongo é colhido e esplenócitos isolados. Os esplenócitos são então fundidos por técnicas bem conhecidas para quaisquer células de mieloma adequadas, por exemplo, células da linhagem celular SP20 disponível da ATCC. Hibridomas são selecionado e clonados por diluição limitada. Os clones de hibridoma são então ensaiados por métodos conhecidos na técnica para células que secretam anticorpos capazes de se ligar a um polipeptídeo da invenção. O fluido de ascite, que em geral contém altos níveis de anticorpos, pode ser gerado imunizando camundongos com clones de hibridoma positivos.

[00159] Dessa maneira, anticorpos monoclonais podem ser gerados cultivando uma célula de hibridoma que secreta um anticorpo da invenção, em que o hibridoma é gerado fundindo esplenócitos isolados de um camundongo imunizado com IFNAR1, com células de mieloma e então selecionando os hibridomas resultantes da fusão para clones de hibridoma que secretam um anticorpo capaz de se ligar a IFNAR1.

[00160] Fragmentos de anticorpo que reconhecem epítomos de IFNAR1 específicos podem ser gerados por qualquer técnica conhecida pelos versados na tecnologia. Por exemplo, fragmentos Fab e F(ab')₂ da invenção podem ser produzidos por clivagem proteolítica de moléculas de imunoglobulina, usando enzimas tal como papaína (para produzir fragmentos Fab) ou pepsina (para produzir fragmentos F(ab')₂). Os fragmentos F(ab')₂ contêm a região variável, a região constante de cadeia leve e o domínio CHI da cadeia pesada. Adicionalmente, os anticorpos da presente invenção também podem ser gerados usando vários métodos de exibição de fago conhecidos na técnica.

[00161] Nos métodos de exibição de fago, domínios de anticorpo funcional são exibidos na superfície de partículas de fago que carregam a sequência de polinucleotídeos que codifica-os. Em particular, sequências de DNA que codificam domínios VH e VL são amplificadas das bibliotecas de cDNA animal (por exemplo, bibliotecas de cDNA de tecido linfóide humano ou mutino). O DNA que codifica os domínios VH e VL é recombinado junto com um ligador de scFv por PCR e clonado em um vetor fagemídeo (por exemplo, p CANTAB 6 ou pComb 3 HSS). O vetor é eletroporado em *E. coli* e a *E. coli* é infectada com fago auxiliar. O fago usado nestes métodos são tipicamente fago filamentosos incluindo fd e M 13 e os domínios VH e VL são em geral fundidos recombinantemente tanto no gene III quanto no gene VIII do fago. O fago que expressa um domínio de ligação de antígeno que se liga ao epítopo IFNAR1 de interesse pode ser selecionado identificado com antígeno, por exemplo, usando antígeno marcado ou antígeno ligado ou capturado em uma superfície sólida ou microesférica. Exemplos de métodos de exibição de fago que podem ser usados para preparar os anticorpos da presente invenção incluem aqueles revelados em Brinkman et al, 1995, J. Immunol. Methods 182:41-50; Ames et al., 1995, J. Immunol. Methods 184:177-186; Kettleborough et al., 1994, Eur. J. Immunol. 24:952-958; Persic et al., 1997, Gene 187:9-18; Burton et al., 1994, Advances in Immunology 57:

191-280; pedido internacional PCT/GB91/01134; pedidos internacionais WO 90/02809, WO 91/10737, WO 92/01047, WO 92/18619, WO 93/11236, WO 95/15982, WO 95/20401, e W097/13844; e patentes U.S. 5.698.426, 5.223.409, 5.403.484, 5.580.717, 5.427.908, 5.750.753, 5.821.047, 5.571.698, 5.427.908, 5.516.637, 5.780.225, 5.658.727, 5.733.743 e 5.969.108; cada um dos quais é aqui incorporado pela referência na sua íntegra.

[00162] Da maneira descrita nas referências anteriores, após a seleção do fago, o anticorpo que codifica regiões do fago pode ser isolado e usado para gerar todos os anticorpos, incluindo anticorpos humanos, ou qualquer outro fragmento de ligação de antígeno desejado e expresso em qualquer hospedeiro desejado, incluindo células de mamífero, células de inseto, células de planta, levedura e bactérias, por exemplo, da maneira descrita a seguir. Técnicas para produzir recombinantemente fragmentos Fab, Fab' e fragmento F(ab')₂ também podem ser empregadas usando métodos conhecidos na técnica, tais como aqueles revelados em publicação internacional WO 92/22324; Mullinax et al., 1992, BioTechniques 12(6):864-869; Sawai et al., 1995, AJRI 34:26-34; e Better et al., 1988, Science 240:1041-1043 (as ditas referências aqui incorporadas pela referência na sua íntegra).

[00163] Para gerar anticorpos completos, oligoiniciadores de PCR incluindo sequências VH ou VL de nucleotídeos, um sítio de restrição e uma sequência que flanqueia para proteger o sítio de restrição podem ser usados para amplificar as sequências VH ou VL nos clones scFv. Utilizando de técnicas de clonagem conhecidas pelos versados na tecnologia, os domínios VH amplificados por PCR podem ser clonados nos vetores que expressam uma região constante VH, por exemplo, a região constante 4 gama humana, e os domínios VL amplificados por PCR podem ser clonados em vetores que expressam uma região constante VL, por exemplo, regiões constantes kapa ou lambda humanas. Em certas modalidades, os vetores para expressar os domínios VH ou VL compreendem um promotor alfa EF-I, um sinal de

secreção, um sítio de clonagem para o domínio variável, domínios constantes, e um marcador de seleção, tal como neomicina. Os domínios VH e VL também podem ser clonados em um vetor que expressa as regiões constantes necessárias. Os vetores de conversão de cadeia pesada e vetores de conversão de cadeia leve são então co-transfectados em linhagens celulares para gerar linhagens celulares estáveis ou transientes que expressam anticorpos de comprimento total, por exemplo, IgG, usando técnicas conhecidas pelos versados na tecnologia.

[00164] Para alguns usos, incluindo uso *in vivo* de anticorpos em humanos e ensaios de detecção *in vitro*, pode ser vantajoso usar anticorpos humanos ou quiméricos. Anticorpos completamente humanos são particularmente desejáveis para tratamento terapêutico de indivíduos humanos. Anticorpos humanos podem ser preparados por uma variedade de métodos conhecidos na técnica, incluindo métodos de exibição de fago descritos anteriormente usando bibliotecas de anticorpo derivadas de sequências de imunoglobulina humana. Ver também patentes U.S. 4.444.887 e 4.716.111; e publicações internacionais WO 98/46645, WO 98/50433, WO 98/24893, WO98/16654, WO 96/34096, WO 96/33735, e WO 91/10741; cada uma das quais é aqui incorporada pela referência na sua íntegra.

[00165] Um anticorpo quimérico é uma molécula na qual porções diferentes do anticorpo são derivadas de diferentes moléculas de imunoglobulina. Métodos para produzir anticorpos quiméricos são conhecidos na técnica. Ver, por exemplo, Morrison, 1985, Science 229:1202; Oi et al, 1986, BioTechniques 4:214; Gillies et al., 1989, J. Immunol. Methods 125:191-202; e patentes U.S. 5.807.715, 4.816.567, 4.816.397, e 6.311.415, que são aqui incorporadas pela referência na sua íntegra.

[00166] Um anticorpo humanizado é um anticorpo, ou fragmento deste, que é capaz de se ligar a um antígeno pré-determinado e que compreende uma região do arcabouço substancialmente com a sequência de

aminoácidos de uma imunoglobulina humana e uma CDR substancialmente com a sequência de aminoácidos de um imunoglobulina não humana. Um anticorpo humanizado compreende substancialmente todos de pelo menos um e, tipicamente, dois domínios variáveis (Fab, Fab', F(ab')₂, Fabc, Fv) em que todas, ou substancialmente todas, as regiões CDR correspondem àquelas de uma imunoglobulina não humana (isto é, anticorpo doador) e todas, ou substancialmente todas, as regiões do arcabouço são aquelas de uma sequência consensual de imunoglobulina humana. Em certos exemplos, um anticorpo humanizado também compreende pelo menos uma porção de uma região constante de imunoglobulina (Fc), tipicamente aquela de uma imunoglobulina humana. De maneira geral, o anticorpo conterá tanto a cadeia leve, bem como pelo menos o domínio variável de uma cadeia pesada. O anticorpo também pode incluir as regiões de dobradiça CH1, CH2, CH3, e CH4 da cadeia pesada. O anticorpo humanizado pode ser selecionado de qualquer classe de imunoglobulinas, incluindo IgM, IgG, IgD; IgA e IgE, e qualquer isotipo, incluindo IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4. Em geral, o domínio constante é um complemento que se fixa ao domínio constante onde é desejável que o anticorpo humanizado exiba: atividade citotóxica e a classe é tipicamente IgG₁. Onde tal atividade citotóxica não é desejável, o domínio constante pode ser da classe IgG₂. O anticorpo humanizado pode compreender sequências de mais de uma classe ou isotipo, e os versados na técnica sabem selecionar domínio constantes particulares para otimizar funções efetoras desejadas. As regiões do arcabouço e CDR de um anticorpo humanizado não precisam corresponder precisamente às sequências parentais, por exemplo, a CDR do doador ou o arcabouço consensual podem ser mutagenizados por substituição, inserção ou deleção de pelo menos um resíduo, de maneira tal que o resíduo de CDR ou do arcabouço neste sítio não corresponda nem ao consensual nem ao anticorpo indicado. Tais mutações, entretanto, não serão extensivas. Em geral, pelo menos 75 % dos resíduos do

anticorpo humanizado corresponderão àqueles da região mãe do arcabouço (FR) e sequências de CDR, mais frequentemente 90 %, e possivelmente maior do que 95 %. O anticorpo humanizado pode ser produzido usando uma variedade de técnicas conhecidas na tecnologia incluindo, mas sem limitação, enxerto de CDR (patente Européia EP 239.400; publicação internacional WO 91/09967; e patentes U.S. 5.225.539, 5.530.101, e 5.585.089), embutir ou recompor a superfície (patentes Européias EP 592.106 e EP 519.596; Padlan, 1991, *Molecular Immunology* 28(4/5):489-498; Studnicka et al, 1994, *Protein Engineering* 7(6):805-814; e Roguska et al., 1994, *PNAS* 91 :969-973), embaralhamento de cadeia (patente U.S. 5.565.332), e técnicas reveladas em, por exemplo, patentes U.S. 6.407.213, 5.766.886, WO 9317105, Tan et al., *J. Immunol.* 169:1119-25 (2002), Caldas et al., *Protein Eng.* 13(5):353-60 (2000), Morea et al., *Methods* 20(3):267-79 (2000), Baca et al., *J. Biol. Chem.* 272(16): 10678-84 (1997), Roguska et al., *Protein Eng.* 9(10):895-904 (1996), Couto et al., *Cancer Res.* 55 (23 Supp):5973s- 5977s (1995), Couto et al., *Cancer Res.* 55(8): 1717-22 (1995), Sandhu J S, *Gene* 150(2):409- 10 (1994), e Pedersen et al., *J. Mol. Biol.* 235(3):959-73 (1994). Frequentemente, os resíduos de estrutura nas regiões do arcabouço serão substituídas pelo resíduo correspondente do anticorpo do doador de CDR anticorpo para alterar ou melhorar a ligação de antígeno. Estas substituições do arcabouço são identificadas por métodos conhecidos na técnica, por exemplo, modelando as interações da CDR e resíduos de estrutura para identificar resíduos de estrutura importantes para ligação de antígeno, e comparação de sequência para identificar resíduos incomuns de estrutura em posições particulares. (Ver, por exemplo, Queen et al, patente U.S. 5.585.089; e Riechmann et al, 1988, *Nature* 332:323, que são aqui incorporadas pela referência na sua íntegra.)

5.7.7 Polinucleotídeos que codificam um Anticorpo

[00167] A invenção também inclui polinucleotídeos que hibridizam,

em condições de hibridização de alta, intermediária ou baixa severidade, por exemplo, da maneira definida anteriormente, polinucleotídeos que codificam um anticorpo da invenção.

[00168] Os polinucleotídeos podem ser obtidos, e a sequência de nucleotídeos dos polinucleotídeos determinada, por qualquer método conhecido na técnica. Uma vez que as sequências de aminoácidos dos anticorpos são conhecidas, as sequências de nucleotídeos que codificam estes anticorpos podem ser determinadas usando métodos conhecidos na técnica, isto é, códons de nucleotídeo conhecido para codificar aminoácidos particulares são montados de maneira uma tal para gerar um ácido nucleico que codifica o anticorpo ou fragmento deste da invenção. Um polinucleotídeo como este que codifica o anticorpo pode ser montado de oligonucleotídeos sintetizados quimicamente (por exemplo, da maneira descrita em Kutmejer et al., 1994, BioTechniques 17:242) que, resumidamente, envolve a síntese de sobreposição de oligonucleotídeos contendo porções da sequência que codificam o anticorpo, anelamento e ligação destes oligonucleotídeos, e a seguir amplificação dos oligonucleotídeos ligados por PCR.

[00169] Alternativamente, um polinucleotídeo que codifica um anticorpo pode ser gerado de ácido nucleico de uma fonte adequada. Se um clone contendo um ácido nucleico que codifica um anticorpo particular não estiver disponível, mas a sequência da molécula do anticorpo for conhecida, um ácido nucleico que codifica a imunoglobulina pode ser quimicamente sintetizado ou obtido de uma fonte adequada (por exemplo, uma biblioteca de cDNA de anticorpo, ou uma biblioteca de cDNA gerada deste, ou ácido nucleico, em geral poli A+RNA, isolado de qualquer tecido ou células que expressam o anticorpo, tais como células de hibridoma selecionadas para expressar um anticorpo da invenção) por amplificação de PCR usando oligoiniciadores sintéticos hibridizáveis nas extremidades 3' e 5' da sequência, ou por clonagem usando uma sonda de oligonucleotídeo específica para a

sequência de gene particular para identificar, por exemplo, um clone de cDNA de uma biblioteca de cDNA que codifica o anticorpo. Os ácidos nucleicos amplificados gerados por PCR podem então ser clonados em vetores de clonagem replicáveis, usando qualquer método conhecido na técnica.

[00170] Uma vez que a sequência de nucleotídeos do anticorpo é determinada, a sequência de nucleotídeos do anticorpo pode ser manipulada usando métodos conhecidos na técnica para a manipulação de sequências de nucleotídeos, por exemplo, técnicas do DNA recombinante, mutagênese sítio direcionada, PCR, etc. (ver, por exemplo, as técnicas descritas em Sambrook et al, 1990, *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, 2d Ed., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N.Y. e Ausubel et al., eds., 1998, *Current Protocols em Molecular Biology*, John Wiley & Sons, NY, que são ambas aqui incorporadas pela referência na sua íntegra) para gerar anticorpos com uma sequência diferente de aminoácidos, por exemplo, para criar substituições, deleções, e/ou inserções de aminoácidos.

[00171] Em uma modalidade específica, uma ou mais das CDRs são inseridas nas regiões do arcabouço usando técnicas de DNA recombinante de rotina. As regiões do arcabouço podem ser de ocorrência natural ou regiões do arcabouço consensuais e, em certos exemplos, regiões do arcabouço de humanos (ver, por exemplo, Chothia et al., 1998, *J. Mol. Biol.* 278: 457-479 para uma listagem de regiões do arcabouço de humanos). Opcionalmente, o polinucleotídeo gerado pela combinação das regiões do arcabouço e CDRs codifica um anticorpo que se liga especificamente a IFNAR1. Opcionalmente, uma ou mais substituições de aminoácidos podem ser preparadas nas regiões do arcabouço e, em certos exemplos, as substituições de aminoácidos melhoram a ligação do anticorpo com seu antígeno. Adicionalmente, tais métodos podem ser usados para preparar substituições ou deleções de aminoácidos de um ou mais resíduos de cisteína de região variável que

participam de uma ligação de dissulfeto entre cadeias para gerar moléculas do anticorpo que precisam de uma ou mais ligações de dissulfeto entre cadeias. Outras alterações no polinucleotídeo são incluídas pela presente invenção e pelos versados na técnica.

[00172] Em modalidades específicas, os anticorpos da invenção são codificados por sequências de polinucleotídeos exemplificadas nas figuras 1-4. Em outras modalidades específicas, polinucleotídeos da invenção codificam anticorpos que compreendem regiões constantes de cadeia leve e de cadeia pesada, que correspondem a SEQ ID Nos: 41 e 42 respectivamente. Ainda em outras modalidades específicas, os polinucleotídeos da invenção codificam anticorpos que compreendem regiões constantes de cadeia pesada que correspondem a SEQ ID No: 42 com uma tolerância para variação alélica, em que a variação tem pelo menos um ou mais resíduos selecionados do grupo que consiste em posições 214, 221, 356, e 358 da maneira definida pelo sistema de numeração de índice EU.

5.7.8 Expressão recombinante de um anticorpo

[00173] A expressão recombinante de um anticorpo da invenção, derivado, análogo ou fragmento deste, (por exemplo, uma cadeia pesada ou leve de um anticorpo da invenção, ou uma porção deste, ou um anticorpo de cadeia única da invenção) exige a construção de um vetor de expressão contendo um polinucleotídeo que codifica o anticorpo. Uma vez que o polinucleotídeo que codifica uma molécula do anticorpo ou uma cadeia pesada ou leve de um anticorpo, ou porção deste, (mas não necessariamente contendo o domínio variável de cadeia pesada ou leve) da invenção foi obtido, o vetor para a produção da molécula do anticorpo pode ser produzido por tecnologia do DNA recombinante usando técnicas conhecidas na tecnologia. Assim, métodos para preparar uma proteína que expressa um polinucleotídeo contendo um anticorpo que codifica sequência de nucleotídeos são aqui descritos. Métodos que são bem conhecidos pelos

versados na técnica podem ser usados para construir vetores de expressão contendo sequências que codificam anticorpo e sinais de controle transcricionais e translacionais apropriados. Estes métodos incluem, por exemplo, técnicas de DNA recombinante *in vitro*, técnicas sintéticas e recombinação genética *in vivo*. Assim, a invenção fornece vetores replicáveis que compreendem uma sequência de nucleotídeos que codifica uma molécula do anticorpo da invenção, uma cadeia pesada ou leve de um anticorpo, um domínio variável de cadeia pesada ou leve de um anticorpo ou uma porção deste, ou uma CDR de cadeia pesada ou leve, ligados operavelmente a um promotor. Tais vetores podem incluir a sequência de nucleotídeos que codifica a região constante da molécula do anticorpo (ver, por exemplo, publicação internacional WO 86/05807; publicação internacional WO 89/01036; e patente U.S. 5.122.464) e o domínio variável do anticorpo pode ser clonado em um vetor como este para a expressão de toda a cadeia pesada, de toda a cadeia leve, ou tanto das cadeias pesadas quanto leves.

[00174] O vetor de expressão é transferido para uma célula hospedeira por técnicas convencionais e as células transfectadas são então cultivadas por técnicas convencionais para produzir um anticorpo da invenção. Assim, a invenção inclui células hospedeiras contendo um polinucleotídeo que codifica um anticorpo da invenção ou fragmentos deste, ou uma cadeia pesada ou leve deste, ou porção deste, ou um anticorpo de cadeia única da invenção, ligado operavelmente a um promotor heterólogo. Em outras modalidades, para a expressão de anticorpos de cadeia dupla, os vetores que codificam tanto as cadeias leves quanto as pesadas podem ser co-expressos na célula hospedeira para a expressão da molécula inteira de imunoglobulina, da maneira detalhada a seguir.

[00175] Uma variedade de sistemas de vetor de expressão no hospedeiro pode ser utilizada para expressar as moléculas do anticorpo da invenção (ver, por exemplo, patente U.S. 5.807.715). Tais sistemas de

expressão no hospedeiro representam veículos pelos quais as sequências codificantes de interesse podem ser produzidas e, subsequentemente, purificadas, mas também representam células que, quando transformadas ou transfectadas com o nucleotídeo apropriado que codifica as sequências, podem expressar uma molécula do anticorpo da invenção *in situ*. Estes incluem, mas sem limitação, microrganismos tais como bactérias (por exemplo, *E. coli* e *B. subtilis*) transformadas com DNA de bacteriófago recombinante, vetores de expressão de DNA plasmidial ou DNA cosmidial contendo sequências que codificam anticorpo; levedura (por exemplo, *Saccharomyces* e *Pichia*) transformadas com vetores de expressão de levedura recombinante contendo sequências que codificam anticorpo; sistemas de célula de inseto infectadas com vetores de expressão de vírus recombinante (por exemplo, baculovírus) contendo sequências que codificam anticorpo; sistemas de célula de planta infectada com vetores de expressão de vírus recombinante (por exemplo, vírus do mosaico da couve flor, CaMV; vírus do mosaico do tabaco, TMV) ou transformadas com vetores de expressão de plasmídeo recombinante (por exemplo, plasmídeo Ti) contendo sequências que codificam anticorpo; ou sistemas de célula de mamífero (por exemplo, células COS, CHO, BHK, 293, NSO, e 3T3) que carregam constructos de expressão recombinante contendo promotores derivados do genoma de células de mamífero (por exemplo, promotor metalotioneína) ou de vírus de mamífero (por exemplo, o promotor tardio de adenovírus; o promotor 7,5 K do vírus vaccinia). Em certas modalidades, células bacterianas, tal como *Escherichia coli* e, em outras modalidades, células eucarióticas, especialmente para a expressão de toda a molécula recombinante do anticorpo, são usadas para a expressão de uma molécula recombinante do anticorpo. Por exemplo, células de mamífero, tais como células de ovário de hamster chinês (CHO), junto com um vetor tal como o elemento promotor de gene precoce intermediário principal do citomegalovírus humano, é um

sistema de expressão eficiente para anticorpos (Foecking et al, 1986, Gene 45:101; e Cockett et al., 1990, Bio/Technology 8:2). Em uma modalidade específica, a expressão de sequências de nucleotídeos que codificam anticorpos, ou fragmentos destes, que se ligam especificamente ao IFNAR1, é regulada por um promotor constitutivo, promotor indutível ou promotor específico de tecido.

[00176] Em sistemas bacterianos, inúmeros vetores de expressão podem ser vantajosamente selecionados dependendo do uso pretendido para a molécula do anticorpo que está sendo expressa. Por exemplo, quando uma grande quantidade de uma proteína como esta deve ser produzida, para a geração de composições farmacêuticas de uma molécula do anticorpo, vetores que direcionam a expressão de altos níveis de produtos de proteína de fusão que são facilmente purificados podem ser desejáveis. Tais vetores incluem, mas sem limitação, o vetor de expressão pUR278 de *E. coli* (Ruther et al., 1983, EMBO 12:1791), no qual a sequência que codifica o anticorpo pode estar ligada individualmente no vetor em sequência com a região que codifica lac Z, de maneira tal que uma proteína de fusão seja produzida; vetores pIN (Inouye & Inouye, 1985, Nucleic Acids Res. 13:3101-3109; Van Heeke & Schuster, 1989, J. Biol. Chem. 24:5503-5509) e vetores pGEX similares também podem ser usados para expressar polipeptídeos estrangeiros como proteínas de fusão com glutathione S-transferase (GST). Em general, tais proteínas de fusão são solúveis e podem facilmente ser purificadas de células lisadas por adsorção e ligação na matriz de microesferas de agarose glutathione seguido pela eluição na presença de glutathione livre. Os vetores pGEX são projetados para incluir trombina ou sítios de clivagem de fator Xa protease, de maneira tal que o produto de gene alvo clonado possa ser liberado da fração GST.

[00177] Em células hospedeiras de mamífero, inúmeros sistemas de expressão a base de vírus podem ser utilizados. Em casos onde um adenovírus

é usado como um vetor de expressão, a sequência que codifica o anticorpo de interesse pode estar ligada a um complexo controle de transcrição/tradução de adenovírus, por exemplo, o promotor tardio e sequência líder tripartida. Este gene quimérico pode ser então inserido no genoma de adenovírus por recombinação *in vitro* ou *in vivo*. A inserção em uma região não essencial do genoma viral (por exemplo, região E1 ou E3) resultará em um vírus recombinante que é viável e capaz de expressar a molécula do anticorpo em hospedeiros infectados (por exemplo, ver Logan & Shenk, 1984, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:355-359). Sinais de iniciação específicos também podem ser exigidos para tradução eficiente de sequência inserida que codifica os anticorpos. Estes sinais incluem o códon de início ATG e sequências adjacentes. Além do mais, o códon de início não tem que estar em fase com o quadro de leitura da sequência codificante desejada para assegurar a tradução do inserto completo. Estes sinais de controle translacionais exógenos e códons de início podem ser de uma variedade de origens, tanto natural quanto sintética. A eficácia da expressão pode ser melhorada pela inclusão de elementos melhoradores de transcrição apropriados, terminadores de transcrição, etc. (ver, por exemplo, Bittner et al, 1987, Methods in Enzymol. 153:516- 544).

[00178] Além do mais, uma cepa de célula hospedeira que pode ser escolhida modula a expressão das sequências inseridas, ou modifica e processa o produto do gene da maneira específica desejada. Tais modificações (por exemplo, glicosilação) e processamento (por exemplo, clivagem) de produtos protéicos podem ser importantes para a função da proteína. Diferentes células hospedeiras apresentam mecanismos característicos e específicos para o processamento e modificação pós-translacional de produtos de proteínas e gene. As linhagens celulares ou sistemas hospedeiros adequados podem ser escolhidos para assegurar a modificação e processamento corretos da proteína estrangeira expressa. Para esta finalidade,

células eucarióticas hospedeiras que possuem a maquinaria celular para processamento próprio do transcrito primário, glicosilação e fosforilação do produto do gene podem ser usadas. Tais células hospedeiras de mamífero incluem, mas sem limitação células CHO, VERY, BHK, HeLa, COS, MDCK, 293, 3T3, W138, BT483, Hs578T, HTB2, BT20 e T47D, NSO (uma linhagem celular de mieloma de murino que não produz endogenamente nenhuma cadeia de imunoglobulina), CRL7030 e HsS78Bst.

[00179] Para produção a longo prazo e de alto rendimento de proteínas recombinantes, a expressão estável é preferida. Por exemplo, linhagens celulares que expressam estavelmente a molécula do anticorpo podem ser geneticamente modificadas. Em vez de usar vetores de expressão que contêm origens virais de replicação, as células hospedeiras podem ser transformadas com DNA controlado por elementos controle de expressão apropriados (por exemplo, promotor, melhorador, sequências, terminadores de transcrição, sítios de poliadenilação, etc.), e um marcador selecionável. Seguindo a instrução do DNA estrangeiro, as células geneticamente modificadas podem crescer naturalmente por 1-2 dias em um meio enriquecido, e então são trocadas para um meio seletivo. O marcador selecionável no plasmídeo recombinante confere resistência para a seleção e permite que as células se integrem estavelmente no plasmídeo em seus cromossomos e cresça para formar focus que, por sua vez, podem ser clonados e expandidos em linhagens celulares. Este método pode ser vantajosamente usado em linhagens celulares geneticamente modificadas que expressam a molécula do anticorpo. Tais linhagens celulares geneticamente modificadas podem ser usadas particularmente na seleção e avaliação de composições que interagem direta ou indiretamente com a molécula do anticorpo.

[00180] Inúmeros sistemas de seleção podem ser usados incluindo, mas sem limitação, os genes timidina quinase do vírus herpes simplex (Wigler et al, 1977, Cell 11 :223), hipoxantineguanina fosforribosiltransferase

(Szybalska & Szybalski, 1992, Proc.Natl. Acad. Sci. USA 48:202) e adenina fosforribosiltransferase (Lo wy et al., 1980, Cell 22:8-17) que podem ser empregados em células tk, hgprt ou aprt, respectivamente. Também, a resistência a antimetabólito pode ser usada como a base de seleção para os genes a seguir: dhfr, que confere resistência a metotrexato (Wigler et al., 1980, Natl. Acad. Sci. USA 77:357; O'Hare et al., 1981, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78:1527); gpt, que confere resistência a ácido micofenólico (Mulligan & Berg, 1981, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78:2072); neo, que confere resistência ao aminoglicosídeo G-418 (Wu e Wu, 1991, Biotherapy 3:87-95; Tolstoshev, 1993, Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 32:573-596; Mulligan, 1993, Science 260:926-932; e Morgan e Anderson, 1993, Ann. Rev. Biochem. 62: 191-217; May, 1993, TIB TECH 11(5): 155-2 15); e hygromycin, que confere resistência a higromicina (Santerre et al., 1984, Gene 30: 147). Os métodos comumente conhecidos na técnica da tecnologia do DNA recombinante podem ser aplicados rotineiramente para selecionar o clone recombinante desejado, e tais métodos são descritos, por exemplo, em Ausubel et al. (eds.), Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, NY (1993); Kriegler, Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual, Stockton Press, NY (1990); e nos capítulos 12 e 13, Dracopoli et al. (eds), Current Protocols in Human Genetics, John Wiley & Sons, NY (1994); Colberre-Garapin et al., 1981, J. Mol. Biol. 150: 1, que são aqui incorporados pela referência na sua íntegra.

[00181] Os níveis de expressão de uma molécula do anticorpo podem ser aumentados por amplificação de vetor (para uma revisão, ver Bebbington e Hentschel, The use of vectors based on gene amplification for the expression of cloned genes in mammalian cells in DNA cloning, Vol.3. (Academic Press, New York, 1987)). Quando um marcador no sistema de vetor que expressa o anticorpo é amplificável, o aumento no nível de inibidor presente em cultura de célula hospedeira aumentará o número de cópias do

gene marcador. Uma vez que a região amplificada está associada ao gene do anticorpo, a produção do anticorpo também aumentará (Crouse et al, 1983, *Mol. Cell. Biol.* 3:257).

[00182] A célula hospedeira pode ser co-transfectada com dois vetores de expressão da invenção, o primeiro vetor que codifica um polipeptídeo de cadeia pesada e o segundo vetor que codifica um polipeptídeo de cadeia leve. Os dois vetores podem conter marcadores selecionáveis idênticos que possibilitam a expressão igual de polipeptídeos de cadeia pesada e leve. Alternativamente, um vetor único que pode ser usado codifica, e é capaz de expressar, tanto polipeptídeos de cadeia pesada quanto leve. Em tais situações, a cadeia leve pode ser substituída antes da cadeia pesada para evitar um excesso de cadeia pesada livre tóxica (Proudfoot, 1986, *Nature* 322:52; e Kohler, 1980, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:2 197). As sequências codificantes para as cadeias pesadas e leves podem compreender cDNA ou DNA genômico.

[00183] Uma vez que uma molécula do anticorpo da invenção foi produzido por expressão recombinante, ela pode ser purificada por qualquer método conhecido na técnica para purificação de uma molécula de imunoglobulina, por exemplo, por cromatografia (por exemplo, cromatografia de troca iônica, por afinidade, particularmente por afinidade com o antígeno específico após a proteína A, e tamanho de coluna), centrifugação, solubilidade diferencial, ou por qualquer outra técnica padrão para a purificação de proteínas. Adicionalmente, os anticorpos da presente invenção, ou fragmentos destes, podem ser fundidos nas sequências de polipeptídeos heterólogos aqui descritas ou conhecidas de outra forma na técnica para facilitar a purificação.

5.8 Produção escalonável de anticorpos

[00184] Na tentativa de obter grandes quantidades, os anticorpos da invenção podem ser produzidos por um processo escalonável (daqui por

diante referido como "processo escalonável da invenção"). Em algumas modalidades, os anticorpos podem ser produzidos por um processo escalonável da invenção no laboratório de pesquisa, que pode ser ampliado para produzir os anticorpos da invenção em biorreatores de escala analítica (por exemplo, mas sem limitação, biorreatores de 5L, 10L, 15L, 30L, ou 50L). Em outras modalidades, os anticorpos podem ser produzidos por um processo escalonável da invenção no laboratório de pesquisa, que pode ser ampliado para produzir os anticorpos da invenção em biorreatores em escala de produção (por exemplo, mas sem limitação, 75L, 100L, 150L, 300L, ou 500L). Em algumas modalidades, o processo escalonável da invenção resulta em menos ou nenhuma redução na eficácia da produção comparada ao processo de produção realizado no laboratório de pesquisa. Em outras modalidades, o processo escalonável da invenção produz anticorpos em eficácia de produção de cerca de 10 mg/L, cerca de 20 m/L, cerca de 30 mg/L, cerca de 50 mg/L, cerca de 75 mg/L, cerca de 100 mg/ L, cerca de 125 mg/L, cerca de 150 mg/L, cerca de 175 mg/L, cerca de 200 mg/L, cerca de 250 mg/L, cerca de 300 mg/L ou mais. Em outras modalidades, as proteínas de fusão podem ser produzidas por processos escalonáveis da invenção.

[00185] Em outras modalidades, o processo escalonável da invenção produz anticorpos em eficácia de produção de pelo menos cerca de 10 mg/L, pelo menos cerca de 20 m/L, pelo menos cerca de 30 mg/L, pelo menos cerca de 50 mg/L, pelo menos cerca de 75 mg/L, pelo menos cerca de 100 mg/L, pelo menos cerca de 125 mg/L, pelo menos cerca de 150 mg/L, pelo menos cerca de 175 mg/L, pelo menos cerca de 200 mg/L, pelo menos cerca de 250 mg/L, pelo menos cerca de 300 mg/L ou mais.

[00186] Em outras modalidades, o processo escalonável da invenção produz anticorpos em eficácia de produção de cerca de 10 mg/L a cerca de 300 mg/L, de cerca de 10 mg/L a cerca de 250 mg/L, de cerca de 10 mg/L a cerca de 200 mg/L, de cerca de 10 mg/L a cerca de 175 mg/L, de cerca de 10

mg/L a cerca de 150 mg/L, de cerca de 10 mg/L a cerca de 100 mg/L, de cerca de 20 mg/L a cerca de 300 mg/L, de cerca de 20 mg/L a cerca de 250 mg/L, de cerca de 20 mg/L a cerca de 200 mg/L, de 20 mg/L a cerca de 175 mg/L, de cerca de 20 mg/L a cerca de 150 mg/L, de cerca de 20 mg/L a cerca de 125 mg/L, de cerca de 20 mg/L a cerca de 100 mg/L, de cerca de 30 mg/L a cerca de 300 mg/L, de cerca de 30 mg/L a cerca de 250 mg/L, de cerca de 30 mg/L a cerca de 200 mg/L, de cerca de 30 mg/L a cerca de 175 mg/L, de cerca de 30 mg/L a cerca de 150 mg/L, de cerca de 30 mg/L a cerca de 125 mg/L, de cerca de 30 mg/L a cerca de 100 mg/L, de cerca de 50 mg/L a cerca de 300 mg/L, de cerca de 50 mg/L a cerca de 250 mg/L, de cerca de 50 mg/L a cerca de 200 mg/L, de 50 mg/L a cerca de 175 mg/L, de cerca de 50 mg/L a cerca de 150 mg/L, de cerca de 50 mg/L a cerca de 125 mg/L, ou de cerca de 50 mg/L a cerca de 100 mg/L.

5.8.1 Métodos adicionais de modificar anticorpos geneticamente

[00187] Em uma outra modalidade, uma região Fc da dobradiça de um anticorpo da invenção é mutada para diminuir a meia vida biológica do anticorpo. Mais especificamente, uma ou mais mutações de aminoácido são introduzidas na região de interface do domínio CH2-CH3 do fragmento da dobradiça Fc, de maneira tal que o anticorpo tenha danificado a ligação da proteína A estafilocócica (SpA) com relação à ligação de SpA do domínio da dobradiça de Fc nativo. Esta abordagem é descrita com mais detalhes na patente U.S. 6.165.745 por Ward et al.

[00188] Em uma outra modalidade, um anticorpo é modificado para aumentar sua meia vida biológica. Várias abordagens são possíveis. Por exemplo, uma ou mais das seguintes mutações podem ser introduzidas: T252L, T254S, T256F, da maneira descrita na patente U.S. 6.277.375. Em uma outra modalidade, uma ou mais das seguintes mutações pode ser introduzida: M252Y, S254T, T256E, da maneira descrita na patente U.S. 7.083.784. Alternativamente, para aumentar a meia vida biológica, o

anticorpo pode ser modificado na região CHI ou CL para conter um epítopo de ligação do receptor liberado obtido de duas espirais de um domínio CH2 de uma região Fc de uma IgG, da maneira descrita nas patentes U.S. 5.869.046 e 6.121.022 por Presta et al.

[00189] Em outras modalidades, uma região Fc é modificada substituindo pelo menos um resíduo de aminoácido por um resíduo diferente de aminoácido para reduzir a(s) função(s) efetora(s) do anticorpo. Por exemplo, um ou mais aminoácidos selecionados de resíduos de aminoácido 234, 235, 236, 237, 297, 318, 320 e 322 podem ser substituídos por um resíduo diferente de aminoácido, de maneira tal que o anticorpo tenha menor afinidade com um ligante efetor, mas mantenha a capacidade de ligação de antígeno do anticorpo pai. O ligante efetor, no qual a afinidade é reduzida, pode ser, por exemplo, um receptor Fc ou o componente C1 do complemento. Esta abordagem é descrita com mais detalhes nas patentes U.S. 5.624.821 e 5.648.260, ambas por Winter et al.

[00190] Em um outro exemplo, um ou mais aminoácidos selecionados de resíduos de aminoácido 329, 331 e 322 podem ser substituídos por um resíduo diferente de aminoácido, de maneira tal que o anticorpo tenham menos ligação Clq e/ou menor ou nenhuma citotoxicidade dependente de complemento (CDC). Esta abordagem é descrita com mais detalhes na patente U.S. 6.194.551 por Idusogie et al.

[00191] Em um outro exemplo, um ou mais resíduos de aminoácido nas posições de aminoácido 231 e 239 são modificados para reduzir por meio disso a capacidade do anticorpo fixar o complemento. Esta abordagem é descrita com mais detalhes na publicação PCT WO 94/29351 por Bodmer et al.

[00192] Ainda em uma outra modalidade, uma região Fc de um anticorpo da invenção é modificada adicionalmente para diminuir a capacidade do anticorpo mediar a citotoxicidade celular dependente de

anticorpo (ADCC) e/ou para aumentar a afinidade do anticorpo com um receptor Fc γ modificando um ou mais aminoácidos nas seguintes posições: 238, 239, 248, 249, 252, 254, 255, 256, 258, 265, 267, 268, 269, 270, 272, 276, 278, 280, 283, 285, 286, 289, 290, 292, 293, 294, 295, 296, 298, 301, 303, 305, 307, 309, 312, 315, 320, 322, 324, 326, 327, 329, 330, 333, 334, 335, 337, 338, 340, 360, 373, 376, 378, 382, 388, 389, 398, 414, 416, 419, 430, 434, 435, 437, 438 ou 439. Esta abordagem é descrita com mais detalhes na publicação PCT WO 00/42072 por Presta.

[00193] Uma outra modificação dos anticorpos aqui, que é contemplada pela invenção é peguilação. Um anticorpo pode ser peguilado, por exemplo, para aumentar a meia vida biológica (por exemplo, soro) do anticorpo. Para peguilar um anticorpo, o anticorpo, ou fragmento deste, é tipicamente reagido com polietileno glicol (PEG), tal como um éster reativo ou derivado de aldeído de PEG, em condições nas quais um ou mais grupos PEG se tornam anexados ao anticorpo ou fragmento de anticorpo. Em certos exemplos, a peguilação é realizada por meio de uma reação de acilação ou uma reação de alquilação com uma molécula reativa de PEG (ou um polímero solúvel em água reativo análogo). Da maneira aqui usada, pretende-se que o termo "polietileno glicol" é inclua quaisquer das formas de PEG que foram usadas para derivar outras proteínas, tal como mono (Cl-Cl0) alcóxi ou arilóxi-polietileno glicol ou polietileno glicol-maleimida. Em certas modalidades, o anticorpo a ser peguilado é um anticorpo aglicosilado. Métodos para peguilar proteínas são conhecidos na técnica e podem ser aplicados aos anticorpos da invenção. Ver, por exemplo, EP 0 154 316 por Nishimura et al. e EP 0 401 384 por Ishikawa et al.

[00194] Assim, em um outro aspecto da invenção, as características estruturais de anticorpos anti-IFNAR1, por exemplo, mas sem limitação, 3F11, 4G5, 11E2, e 9D4, são usadas para criar anticorpos anti-IFNAR1 estruturalmente relacionados que mantêm pelo menos uma propriedade

funcional de anticorpos da invenção, tal como ligação ao IFNAR1. Por exemplo, uma ou mais regiões CDR de 3F11, 4G5, 11E2, ou 9D4, ou mutações destas, podem ser combinadas de maneira recombinante com regiões conhecidas do arcabouço e/ou outras CDRs para criar anticorpos anti-IFNAR1 adicionais geneticamente modificados da invenção, da maneira discutida anteriormente. Outros tipos de modificações incluem aquelas descritas na seção anterior. O material de partida para o método geneticamente modificado é uma ou mais das sequências V_H e/ou V_L aqui fornecidas, ou uma ou mais CDR regiões destas. Para criar o anticorpo geneticamente modificado, não é necessário preparar realmente (isto é, expresso como uma proteína) um anticorpo com uma ou mais das sequências V_H e/ou V_L aqui fornecidas, ou uma ou mais regiões CDR destas. Particularmente, a informação contida na(s) sequência(s) é usada como o material de partida para criar uma "segunda geração" de sequência(s) derivada(s) da(s) sequência(s) original(s) e então a "segunda geração" da(s) sequência(s) é preparada e expressa como uma proteína.

5.9 Composições

[00195] Em um outro aspecto, a presente invenção fornece composições contendo uma ou alguma combinação de anticorpos monoclonais, ou proteínas de fusão compreendendo uma região Fc destes, da maneira aqui descrita, formuladas junto com um carreador. Tais composições podem incluir uma ou alguma combinação de (por exemplo, dois ou mais diferentes) anticorpos, proteínas de fusão, imunoconjugados ou moléculas biespecíficas da invenção. Em algumas modalidades, tais composições são fisiologicamente toleráveis e, como tal, são adequadas para administração a um indivíduo (também referida como uma "composição farmacêutica da invenção". Por exemplo, composições farmacêuticas da invenção podem compreender uma combinação de anticorpos (ou imunoconjugados ou biespecíficos) que se liga a diferentes epítomos no antígeno alvo ou que

apresentam atividades de complementaridade.

[00196] Em uma outra modalidade, composições da invenção podem incluir um ou mais sais farmaceuticamente aceitáveis. Exemplos de tais sais incluem sais de adição ácida e sais de adição básica. Sais de adição ácida incluem aqueles derivados de ácidos inorgânicos não tóxicos, tais como ácido clorídrico, nítrico, fosfórico, sulfúrico, hidrobromico, hidroiodico, fosforoso e similares, bem como de ácidos orgânicos não tóxicos tais como ácidos alifáticos mono- e dicarboxílicos, ácidos alcanóicos substituídos por fenila, ácidos hidróxi alcanóicos, ácidos aromáticos, ácidos sulfônicos alifáticos e aromáticos e similares. Sais de adição básica incluem aqueles derivados de metais alcalinos terrosos, tais como sódio, potássio, magnésio, cálcio e similares, bem como de aminas orgânicas não tóxicas, tais como N,N'-dibenziletlenodiamina, N-metilglucamina, cloroprocaína, colina, dietanolamina, etilenodiamina, procaína e similares.

[00197] Em uma outra modalidade, composições da invenção também podem incluir um antioxidante farmaceuticamente aceitável. Exemplos de antioxidantes farmaceuticamente aceitáveis incluem: (1) antioxidantes solúveis em água, tais como ácido ascórbico, cloridrato de cisteína, bissulfato de sódio, metabissulfito de sódio, sulfito de sódio e similares; (2) antioxidantes solúveis em óleo, tais como palmitato de ascorbila, hidroxianisol butilado (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT), lecitina, galato de propila, alfa-tocoferol e similares; e (3) agentes quelantes metálicos, tais como ácido cítrico, ácido etilenodiamina tetra-acético (EDTA), sorbitol, ácido tartárico, ácido fosfórico e similares.

[00198] Exemplos de carreadores aquosos e não aquosos adequados que podem ser empregados nas composições contempladas da invenção incluem água, etanol, polióis (tais como glicerol, propileno glicol, polietileno glicol e similares) e misturas adequadas destes, óleos vegetais, tal como óleo de oliva, e ésteres orgânicos injetáveis, tal como oleato de etila. A própria

fluidez pode ser mantida, por exemplo, pelo uso de materiais de revestimento, tal como lecitina, para a manutenção do tamanho de partícula exigido no caso de dispersões, e pelo uso de agentes tensoativos.

[00199] Em uma outra modalidade, composições da invenção também podem conter adjuvantes tais como conservantes, agentes de umectação, agentes de emulsificação e agentes de dispersão. A prevenção da presença de microrganismos pode ser assegurada tanto por procedimentos de esterilização quanto pela inclusão de vários agentes antibacterianos e antifúngicos, por exemplo, parabeno, clorobutanol, fenol, ácido sórbico e similares. É também desejável incluir agentes isotônicos, tais como açúcares, cloreto de sódio e similares nas composições. Além do mais, a absorção prolongada da forma farmacêutica injetável pode resultar da inclusão de agentes que retardam absorção, tais como monoestearato de alumínio e gelatina.

[00200] Carreadores farmacêuticamente aceitáveis incluem soluções ou dispersões aquosas estéreis e pós estéreis para a preparação improvisada de soluções ou dispersão injetáveis estéreis. O uso de tais meios e agentes para substâncias farmacêuticamente ativas é conhecido na técnica. Exceto que na medida que quaisquer meios ou agente convencionais são incompatíveis com o composto ativo, o uso destes nas composições farmacêuticas da invenção é contemplado. Compostos ativos suplementares também podem ser incorporados nas composições. Composições terapêuticas têm que ser tipicamente estéreis e estáveis nas condições de fabricação e armazenamento. A composição pode ser formulada como uma solução, microemulsão, lipossoma, ou outra estrutura ordenada adequada para concentração elevada de medicamento. O carreador pode ser um solvente ou meio de dispersão contendo, por exemplo, água, etanol, poliol (por exemplo, glicerol, propileno glicol, e polietileno glicol líquido e similares), e misturas adequadas destes. A própria fluidez pode ser mantida, por exemplo, pelo uso de um revestimento, tal como lecitina, para a manutenção do tamanho da partícula exigido no caso

de dispersão e pelo uso de agentes tensoativos. Em muitos casos, será adequado incluir agentes isotônicos, por exemplo, açúcares, poliálcoois, tais como manitol, sorbitol, ou cloreto de sódio na composição. A absorção prolongada das composições injetáveis pode resultar incluindo na composição um agente que retarda a absorção, por exemplo, sais de monoestearato e gelatina.

[00201] Soluções injetáveis estéreis podem ser preparadas incorporando o composto ativo na quantidade exigida em um solvente apropriado com uma ou alguma combinação de ingredientes enumerados anteriormente, da maneira exigida, após esterilização por microfiltração. Em geral, dispersões são preparadas incorporando o composto ativo em um veículo estéril que contém um meio de dispersão básico e os outros ingredientes exigidos daqueles enumerados anteriormente. No caso de pós estéreis para a preparação de soluções injetáveis estéreis, os métodos preferidos de preparação são secagem à vácuo e secagem e congelamento (liofilização) que produz um pó do ingrediente ativo e qualquer ingrediente adicional desejado de uma solução filtrada previamente estéril deste.

[00202] Em uma modalidade, composições (por exemplo, formulações líquidas) da invenção são formulações sem pirogênio que são substancialmente livres de endotoxinas e/ou relacionadas à substâncias pirogênicas. As endotoxinas incluem toxinas que são confinadas dentro de um microrganismo e são liberadas quando os microrganismos são rompidos ou morrem. Substâncias pirogênicas também incluem substâncias termoestáveis que induzem febre (glicoproteínas) da membrana externa de bactérias e outros microrganismos. Ambas estas substâncias podem causar febre, hipotensão e choque se administradas aos humanos. Em virtude dos potenciais efeitos prejudiciais, é vantajoso remover mesmo pequenas quantidades de endotoxinas das soluções de medicamento farmacêutico administradas intravenosamente. O Food & Drug Administration ("FDA") ajustou um limite

máximo de 5 unidades de endotoxina (EU) por dose por quilograma de peso corporal em um período de uma única hora para aplicações de medicamento intravenoso (The United States Pharmacopeial Convention, Pharmacopeial Forum 26 (1):223 (2000)). Quando proteínas terapêuticas são administradas em quantidades de várias centenas ou milhares de miligramas por quilograma de peso corporal, como pode ser o caso de anticorpos monoclonais, é vantajoso remover mesmo quantidades traço de endotoxina. Em uma modalidade, os níveis de endotoxina e pirogênio na composição são menores do que 10 EU/mg, ou menores do que 5 EU/mg, ou menores do que 1 EU/mg, ou menores do que 0,1 EU/mg, ou menores do que 0,01 EU/mg, ou menores do que 0,001 EU/mg. Em uma outra modalidade, os níveis de endotoxina e pirogênio na composição são menores do que cerca de 10 EU/mg, ou menores do que cerca de 5 EU/mg, ou menores do que cerca de 1 EU/mg, ou menores do que cerca de 0,1 EU/mg, ou menores do que cerca de 0,01 EU/mg, ou menores do que cerca de 0,001 EU/mg.

[00203] A quantidade de ingrediente ativo que pode ser combinada com um material carreador para produzir uma forma de dosagem única variará dependendo do indivíduo a ser tratado, e do modo particular de administração. A quantidade de ingrediente ativo que pode ser combinada com um material carreador para produzir uma forma de dosagem única será em geral aquela quantidade da composição que produz um efeito terapêutico. Em geral, fora dos cem por cento, esta quantidade variará de cerca de 0,01 por cento a cerca de noventa e nove por cento de ingrediente ativo, também de cerca de 0,1 por cento a cerca de 70 por cento, também de cerca de 1 por cento a cerca de 30 por cento de ingrediente ativo em combinação com um carreador farmacêuticamente aceitável.

[00204] Os regimes de dosagem são ajustados para fornecer a resposta desejada ideal (por exemplo, uma resposta terapêutica). Por exemplo, um bolo único pode ser administrado, várias dose divididas podem ser administradas

com o tempo ou a dose pode ser proporcionalmente reduzida ou aumentada da maneira indicada pelas exigências da situação terapêutica. É especialmente vantajoso formular composições parenterais na forma de dosagem única para facilidade de administração e uniformidade da dosagem. A forma de dosagem única, da maneira aqui usada, refere-se a unidades fisicamente discretas adequadas como dosagens unitárias para os indivíduos a serem tratados; cada unidade contém uma quantidade pré-determinada de composto ativo calculada para produzir o efeito terapêutico desejado em associação com o carreador farmacêutico exigido. A especificação para a forma de dosagens únicas da invenção é ditada e depende diretamente (a) das características exclusivas do composto ativo e do efeito terapêutico particular a ser atingido, e (b) das limitações inerentes na técnica de compor, tal como composto ativo para o tratamento de sensibilidade em indivíduos.

[00205] Para administração de um anticorpo, a dosagem varia de cerca de 0,0001 a 100 mg/kg e, mais usualmente, 0,01 a 5 mg/kg, do peso corporal do hospedeiro. Por exemplo, as dosagens podem ser 0,3 mg/kg de peso corporal, 1 mg/kg de peso corporal, 3 mg/kg de peso corporal, 5 mg/kg de peso corporal ou 10 mg/kg de peso corporal ou na faixa de 1-10 mg/kg. Um regime de tratamento exemplar obriga a administração uma vez por semana, uma vez a cada duas semanas, uma vez a cada três semanas, uma vez a cada quatro semanas, uma vez no mês, uma vez a cada 3 meses ou uma vez a cada três a 6 meses. Regimes de dosagem para um anticorpo anti-IFNAR1 da invenção incluem 1 mg/kg de peso corporal ou 3 mg/kg de peso corporal por meio de administração intravenosa, com o anticorpo que está sendo fornecido usando um dos programas de dosagem a seguir: (i) a cada quatro semanas para seis dosagens, então a cada três meses; (ii) a cada três semanas; (iii) 3 mg/kg de peso corporal uma vez seguido por 1 mg/kg de peso corporal a cada três semanas.

[00206] Alternativamente, um anticorpo de proteína de fusão pode ser

administrado como uma formulação de liberação prolongada, na qual o caso de administração menos freqüente é exigido. A dosagem e freqüência variam dependendo da meia vida do anticorpo no paciente. Em geral, anticorpos humanos mostram a meia vida mais longa, seguido por anticorpos humanizados, anticorpos quiméricos e anticorpos não humanos. A dosagem e freqüência de administração podem variar dependendo se o tratamento é profilático ou terapêutico. Em aplicações profiláticas, uma dosagem relativamente baixa é administrada em intervalos relativamente infrequentes por um longo período de tempo. Alguns pacientes continuam a receber tratamento pelo resto de suas vidas. Em aplicações terapêuticas, uma dosagem relativamente alta em intervalos relativamente curtos é algumas vezes exigida até que a progressão da doença seja reduzida ou finalizada e em geral até que o paciente mostre melhora parcial ou completa dos sintomas da doença. Posteriormente, ao paciente pode ser administrado um regime profilático.

[00207] Níveis de dosagem atuais dos ingredientes ativos nas composições farmacêuticas da presente invenção podem ser variados, de maneira a obter uma quantidade do ingrediente ativo que é eficaz para atingir a resposta terapêutica desejada para um paciente, composição e modo de administração particular, sem ser tóxico ao paciente. O nível de dosagem selecionado dependerá de uma variedade de fatores farmacocinéticos, incluindo a atividade das composições particulares da presente invenção empregada, ou o éster, sal ou amido destas, a via de administração, o tempo de administração, a taxa de excreção do composto particular que está sendo empregada, a duração do tratamento, outros medicamentos, compostos e/ou materiais usados em combinação com as composições particulares empregadas, a idade, sexo, peso, condição, saúde geral e história médica anterior do paciente que está sendo tratado e fatores similares bem conhecidos pelos versados na medicina.

[00208] Uma dosagem terapeuticamente eficaz de um anticorpo anti-

IFNAR1 da invenção resulta em uma diminuição na gravidade dos sintomas da doença, um aumento na frequência e duração dos períodos em sintomas da doença, ou uma prevenção de deficiência ou incapacidade em virtude da aflição da doença. No caso de, por exemplo, Lúpus eritematoso sistêmico (SLE), uma dose terapêuticamente eficaz pode prevenir deterioração adicional de sintomas físicos associados com SLE, tais como, por exemplo, dor, fadiga ou fraqueza. Uma dose terapêuticamente eficaz também pode prevenir ou atraso no início de SLE, tal como pode ser desejado quando sinais precoces ou preliminares da doença estão presentes. Do mesmo modo, inclui atraso na progressão crônica associada a SLE. Testes de laboratório utilizados no diagnóstico de SLE incluem testes químicos, hematologia, sorologia e radiologia. Dessa maneira, qualquer ensaio clínico ou bioquímico que monitorea quaisquer dos precedentes pode ser usado para determinar se um tratamento particular é uma dose terapêuticamente eficaz para tratar SLE. Os versados na técnica são capazes de determinar tais quantidades que baseiam-se em tais fatores como o tamanho do indivíduo, a gravidade dos sintomas do indivíduo, e a composição particular ou via de administração selecionada.

[00209] Uma composição da presente invenção pode ser administrada por meio uma ou mais vias de administração usando um ou mais de uma variedade de métodos conhecidos na técnica. Da maneira percebida pelos versados na técnica, a via e/ou modo de administração variarão dependendo dos resultados desejados. As vias de administração selecionadas para anticorpos da invenção incluem administração intravenosa, intramuscular, intradérmica, intraperitoneal, subcutânea, espinhal ou outra via parenteral de administração, por exemplo, por injeção ou infusão. A administração parenteral pode representar modos de administração sem ser administração enteral e tópica, em geral por injeção e, inclui, sem limitação, injeção e infusão intravenosa, intramuscular, intra-arterial, intratecal, intracapsular, intraorbital, intracardíaca, intradérmica, intraperitoneal, transtraqueal,

subcutânea, subcuticular, intra-articular, subcapsular, subaracnóide, intraespinal, epidural e intrasternal.

[00210] Alternativamente, um anticorpo da invenção pode ser administrado por meio de uma via não parenteal, tais como uma via de administração tópica, epidérmica ou mucosa, por exemplo, intranasalmente, oralmente, vaginalmente, retalmente, sublingualmente ou topicamente.

[00211] Os compostos ativos podem ser preparados com carreadores que protegerão o composto contra liberação rápida, tal como uma formulação controlada de liberação, incluindo implantes, adesivos transdérmico e sistemas de distribuição microencapsulada. Polímeros biodegradáveis biocompatíveis podem ser usados, tais como acetato de etileno de vinila, polianidretos, ácido poliglicólico, colágeno, poliortoésteres e ácido polilático. Muitos métodos para a preparação de tais formulações são patenteados ou em geral conhecidos pelos versados na técnica. Ver, por exemplo, *Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems*, J.R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., New York, 1978.

[00212] Composições terapêuticas podem ser administradas com dispositivos médicos conhecidos na técnica. Por exemplo, em uma outra modalidade, uma composição terapêutica da invenção pode ser administrada com um dispositivo de injeção hipodérmica sem agulha, tais como os dispositivos revelados nas patentes U.S. 5.399.163; 5.383.851; 5.312.335; 5.064.413; 4.941.880; 4.790.824 ou 4.596.556. Exemplos de implantes e módulos bem conhecidos usados na presente invenção incluem: patente U.S. 4.487.603, que revela uma bomba de microinfusão implantável para dispensar medicação em uma taxa controlada; patente U.S. 4.486.194, que revela um dispositivo terapêutico para administrar medicamentos através da pele; patente U.S. 4.447.233, que revela uma bomba de infusão de medicação para distribuir medicação em uma taxa de infusão precisa; patente U.S. 4.447.224, que revela um aparelho de infusão implantável de fluxo variável pra

distribuição contínua de medicamento; patente U.S. 4.439.196, que revela um sistema de distribuição de medicamento osmótico com compartimentos multicâmaras; e patente U.S. 4.475.196, que revela um sistema de distribuição de medicamento osmótico. Estas patentes são aqui incorporadas pela referência. Muitos outros tais implantes, sistemas de distribuição e módulos são conhecidos na técnica e pelos versados na tecnologia.

[00213] Em certas modalidades, os anticorpos da invenção podem ser formulados para assegurar distribuição própria *in vivo*. Por exemplo, a barreira hemato-encefálica (BBB) exclui muitos compostos altamente hidrofílicos. Para assegurar que os compostos terapêuticos da invenção atravessem a BBB (se desejado), eles podem ser formulados, por exemplo, em lipossomas. Para métodos de fabricar lipossomas, ver, por exemplo, patentes U.S. 4.522.811; 5.374.548 e 5.399.331. Os lipossomas podem compreender uma ou mais frações que são seletivamente transportadas em células ou órgãos específicos, melhorando assim a distribuição do medicamento alvejado (ver, por exemplo, V. V. Ranade (1989) J. Clin. Pharmacol. 29:685). Frações de alvejamento exemplares incluem folato ou biotina (ver, por exemplo, patente U.S. 5.416.016 de Low et al.); manosídeos (Umezawa et al, (1988) Biochem. Biophys. Res. Commun. 153:1038); anticorpos (P.G. Bloeman et al. (1995) FEBS Lett. 357:140; M. Owais et al. (1995) Antimicrob. Agents Chemother. 39:180); receptor de proteína A do agente tensoativo (Briscoe et al. (1995) Am. J. Physiol. 1233:134); pl20 (Schreier et al. (1994) J. Biol. Chem. 269:9090); ver também K. Keinänen; MX. Laukkanen (1994) FEBS Lett. 346:123; J.J. Killion; I.J. Fidler (1994) Immunomethods 4:273.

5.10 Usos diagnósticos

[00214] Em outras modalidades, anticorpos da presente invenção apresentam utilidades terapêuticas e de diagnóstico *in vitro* e *in vivo*. Por exemplo, estas moléculas podem ser administradas nas células em cultura, por exemplo, *in vitro* ou *ex vivo*, ou em um indivíduo, por exemplo, *in vivo*, para

tratar, prevenir ou diagnosticar uma variedade de distúrbios.

[00215] Em uma modalidade, os anticorpos da invenção podem ser usados para detectar níveis de IFNAR1, ou níveis de células que expressam IFNAR1. Isto pode ser atingido, por exemplo, colocando uma amostra (tal como uma amostra *in vitro*) e uma amostra controle em contato com o anticorpo anti-IFNAR1 em condições que permitem a formação de um complexo entre o anticorpo e IFNAR1. Quaisquer complexos formados entre o anticorpo e IFNAR1 são detectados e comparados na amostra e com o controle. Por exemplo, métodos padrões de detecção, bem conhecidos na técnica, tais como ELISA e ensaios de citometria de fluxo, podem ser realizados usando as composições da invenção.

[00216] Dessa maneira, em um aspecto, a invenção fornece adicionalmente métodos para detectar a presença de IFNAR1 (por exemplo, antígeno de IFNAR1 humano) em uma amostra, ou medir a quantidade de IFNAR1, que compreende colocar a amostra, e uma amostra controle, em contato com anticorpos da invenção, ou uma porção de ligação de antígeno deste, que se liga especificamente à IFNAR1, em condições que permitem a formação de um complexo entre o anticorpo, ou porção deste, e IFNAR1. A formação de um complexo é então detectada, em que uma diferença na formação do complexo entre a amostra comparada com a amostra controle é indicativa da presença de IFNAR1 na amostra.

5.11 Aplicações terapêuticas

[00217] IFNAR1 é parte do receptor celular para interferons do tipo I, e sabe-se que interferons do tipo I são citocinas imunorregulatórias que estão envolvidas na diferenciação de célula T, produção de anticorpo e atividade e sobrevivência de células T de memória. Além disso, maior expressão de interferons do tipo I foi descrita em numerosas doenças autoimunes, em infecção de HIV, em rejeição de transplante e em doença de enxerto contra hospedeiro (GVHD). Dessa maneira, os anticorpos anti-IFNAR1 da invenção,

ou fragmentos destes, que inibem a atividade funcional de interferons do tipo I podem ser usados em uma variedade de indicações clínicas aberrantes ou atividade de interferon tipo I indesejada. A invenção inclui métodos de prevenir, tratar, manter, melhorar, ou inibir uma doença ou distúrbio mediado por interferon tipo I, em que os métodos compreendem administrar anticorpos, ou porções de ligação de antígeno destes, da invenção.

[00218] Exemplos específicos de condições autoimunes em que anticorpos da invenção podem ser usados incluem, mas sem limitação, as seguintes: lúpus eritematoso sistêmico (SLE), diabetes mellitus dependente de insulina (IDDM), doença intestinal inflamatória (IBD) (incluindo doença de Crohn, colite ulcerativa e doença celíaca), esclerose múltipla (MS), psoríase, tireoidite autoimune, artrite reumatóide (RA) e glomerulonefrite. Além do mais, as composições de anticorpo da invenção podem ser usadas para inibir ou preservar a rejeição de transplante ou no tratamento de doença de enxerto contra hospedeiro (GVHD) ou no tratamento de infecção por HIV /AIDS.

[00219] Níveis elevados de IFN α foram observados no soro de pacientes com lúpus eritematoso sistêmico (SLE) (ver, por exemplo, Kim et al. (1987) Clin. Exp. Immunol. 70:562-569). Além disso, a administração de IFN α , por exemplo, no tratamento de câncer ou infecções virais, mostrou induzir SLE (Garcia-Porrúa et al. (1998) Clin. Exp. Rheumatol. 16:107- 108). Dessa maneira, em uma outra modalidade, anticorpos anti-IFNAR1 da invenção podem ser usados no tratamento de SLE administrando o anticorpo a um indivíduo que necessita de tratamento.

[00220] Outros métodos de tratar SLE são descritos no pedido de patente U.S. intitulado "Methods of treating SLE" com os números de série a seguir; 60/907.767, depositado em 16 de abril de 2007; 60/966,174, depositado em 5 de novembro de 2007 e pedido PCT número de série PCT/US2007/02494, depositado em 9 de dezembro de 2007, cada um dos quais são aqui incorporados pela referência e na sua íntegra.

[00221] IFN α também foi implicado na patologia do diabetes tipo I. Por exemplo, a presença de IFN α imunorreativo em células beta pancreática de pacientes com diabetes tipo I foi relatada (Foulis et al. (1987) *Lancet* 2: 1423-1427). O uso prolongado de IFN α em terapia antiviral também mostrou induzir diabetes tipo I (Waguri et al. (1994) *Diabetes Res. Clin. Pract.* 23:33-36). Dessa maneira, em uma outra modalidade, os anticorpos anti-IFNAR1, ou fragmentos destes, da invenção podem ser usados no tratamento de diabetes tipo I administrando o anticorpo a um indivíduo que necessita de tratamento. O anticorpo pode ser usado sozinho ou em combinação com outros agentes anti-diabéticos, tal como insulina.

[00222] Anticorpos para IFNAR1 mostraram ser efetivos em um modelo animal com doença intestinal inflamatória (ver pedido de patente U.S. 60/465.155). Assim, os anticorpos anti-IFNAR1, ou fragmentos destes, da invenção podem ser usados no tratamento de doença intestinal inflamatória (IBD), incluindo colite ulcerativa e doença de Crohn, administrando o anticorpo a um indivíduo que necessita de tratamento.

[00223] Observou-se também que o tratamento com IFN α induz tiroidite autoimune (Monzani et al. (2004) *Clin. Exp. Med.* 3:199-210; Prummel e Laurberg (2003) *Thyroid* 13:547-551). Dessa maneira, em uma outra modalidade, anticorpos anti-IFNAR1 da invenção podem ser usados no tratamento de doença tiroidite autoimune, incluindo hipotireoidismo primário autoimune, doença de Graves, tiroidite de Hashimoto e tiroidite destrutiva com hipotireoidismo, administrando um anticorpo da invenção a um indivíduo que necessita de tratamento. Anticorpos da invenção podem ser usados sozinhos ou em combinação com outros agentes ou tratamentos, tais como medicamentos anti-tireóide, iodo radioativo e tireoidectomia subtotal.

[00224] Níveis elevados de IFN α também foram observados na circulação de pacientes com infecção por HIV e sua presença é um marcador preditivo de progressão da AIDS (DeStefano et al. (1982; *J. Infect. Disease*

146:451; Vadhan-Raj et al. (1986) Cancer Res. 46:417). Assim, em uma outra modalidade, anticorpos anti-IFNAR1 da invenção podem ser usados no tratamento de infecção por HIV ou AIDS administrando o anticorpo da invenção a um indivíduo que necessita de tratamento. Em uma outra modalidade, os anticorpos da invenção podem ser usados sozinhos ou em combinação com outros agentes anti-HIV, tais como inibidores de transcriptase reversa de nucleosídeo, inibidores de transcriptase reversa de não nucleosídeo, inibidores de protease e inibidores de fusão.

[00225] Anticorpos de IFNAR1 demonstraram ser efetivos em inibir rejeição a aloenxerto e prolongar a sobrevivência de aloenxerto (ver, por exemplo, Tovey et al. (1996) J. Leukoc. Biol. 59:512-517; Benizri et al. (1998) J. Interferon Cytokine Res. 18:273-284). Dessa maneira, os anticorpos anti-IFNAR1 da invenção também podem ser usados em receptores de transplante para inibir a rejeição a aloenxerto e/ou prolongar a sobrevivência a aloenxerto. A invenção fornece um método de inibir rejeição a transplante administrando anticorpos anti-IFNAR1 da invenção a um receptor de transplante que necessita de tratamento. Exemplos de transplantes de tecido que podem ser tratados incluem, mas sem limitação, fígado, pulmão, rim, coração, intestino delgado e ilhotas pancreáticas, bem como o tratamento de doença de enxerto contra hospedeiro (GVHD). Anticorpos da invenção podem ser usados sozinhos ou em combinação com outros agentes para inibir a rejeição de transplante, tais como agentes imunossupressores (por exemplo, ciclosporina, azatioprina, metilprednisolona, prednisolona, prednisona, micofenolato de mofetila, sirolimus, rapamicina, tacrolimus), agentes anti-infecciosos (por exemplo, aciclovir, clotrimazol, ganciclovir, nistatina, trimetoprim-sulfametoxazol), diuréticos (por exemplo, bumetanida, furosemida, metolazona) e medicações para úlcera (por exemplo, cimetidina, famotidina, lansoprazol, omeprazol, ranitidina, sucralfato).

[00226] Em outras modalidades específicas, a invenção fornece

métodos de administrar e usar composições e anticorpos da invenção para tratar e prevenir uma ampla faixa de condições inflamatórias incluindo tanto condições crônicas quanto agudas, tais como, mas sem limitação, apendicite, úlceras pépticas, gástricas e duodenais, peritonite, pancreatite, colite ulcerativa, pseudomembranosa, aguda e isquêmica, diverticulite, epiglote, acalásia, colangite, colecistite, hepatite, doença de Crohn, enterite, doença de Whipple, asma, alergia, choque anafilático, doença de complexo imune, isquemia de órgão, lesão por reperfusão, necrose de órgão, febre de feno, sepse, septicemia, choque endotóxico, caquexia, hiperpirexia, granuloma eosinofílico, granulomatose, sarcoidose, aborto séptico, epididimite, vaginite, prostatite, uretrite, bronquite, enfisema, rinite, fibrose cística, pneumonite, pneumoultramicroscopicsilicovolcanoconiose, alveolite, bronquiolite, faringite, pleurisia, sinusite, influenza, infecção por vírus sincicial respiratório, infecção por herpes, infecção por HIV, infecção por vírus de hepatite B, infecção por vírus de hepatite C, bacteremia disseminada, febre do Dengue, candidíase, malária, filaríase, amebíase, cisto hidático, queimaduras, dermatite, dermatomiosite, queimadura de sol, urticária, verrugas, urticária, vasculite, anginite, endocardite, arterite, aterosclerose, tromboflebite, pericardite, miocardite, isquemia do miocárdio, periartrose nodosa, febre reumática, mal de Alzheimer, doença celíaca, insuficiência cardíaca congestiva, restenose, síndrome da angústia respiratória do adulto COPD, meningite, encefalite, esclerose múltipla, infarto cerebral, embolia cerebral, síndrome de Guillame-Barre, neurite, neuralgia, lesão da coluna espinhal, paralisia, uveíte, artrite, artralgias, osteomielite, fasciíte, doença de Paget, gota, doença periodontal, artrite reumatóide, sinovite, miastenia grave, trioidite, lúpus eritematoso sistêmico, síndrome de Goodpasture, síndrome de Behcets, rejeição a aloenxerto, doença de enxerto contra hospedeiro, diabetes tipo I, espondilite anquilosante, doença de Berger, doença de Retier e doença de Hodgkins.

[00227] Em uma outra modalidade, métodos de administração e composições de anticorpos da invenção podem ser usados na prevenção, tratamento, melhora dos sintomas associados com as condições ou estado de doenças a seguir: doença de Graves, tiroidite de Hashimoto, doença de Crohn, psoríase, artrite psoriática, oftalmite simpática, ooforite autoimune, orquite autoimune, síndrome linfoproliferativa autoimune, síndrome antifosfolipídica, síndrome de Sjogren, escleroderma, doença de Addison, síndrome de deficiência poliendócrina, síndrome de Guillan-Barre, púrpura trombocitopênica imune, anemia perniciosa, miastenia grave, cirrose biliar primária, doença do tecido conectivo misto, vitiligo, uveíte autoimune, anemia hemolítica autoimune, trombopocitopenia autoimune, doença celíaca, dermatite herpetiforme, hepatite autoimune, pênfigo, pênfigo vulgar, pênfigo foliáceo, penfigóide bolhoso, miocardite autoimune, vasculite autoimune, alopecia areata, arterosclerose autoimune, doença de Behcet, mielopatia autoimune, hemofilia autoimune, cistite intersticial autoimune, diabetes isípido autoimune, endometriose autoimune, policondrite recorrente, espondilite anquilosante, urticária autoimune, dermatomiosite, síndrome de Miller-Fisher, nefropatia de IgA, síndrome de Goodpastures e herpes gestacional.

[00228] Em uma outra modalidade, métodos de administração e composições de anticorpos da invenção podem ser usados na prevenção, tratamento, melhora de sintomas associados à síndrome de Sjogren. A síndrome de Sjogren's é um distúrbio autoimune em que células imunes atacam e destroem as glândulas exócrinas que produzem lágrimas e saliva. Foi nomeada em homenagem ao oftalmologista sueco Henrik Sjogren (1899-1986), que descreveu-a primeiro. A síndrome de Sjogren é também associada a distúrbios reumáticos, tal como artrite reumatóide, e o fatos reumatóide é positivo em 90 por cento dos casos. Os principais sintomas do distúrbio são boca seca e olhos secos. Além do mais, a síndrome de Sjogren pode causar

secura na pele, nariz e vagina, e pode afetar outros órgãos do corpo, incluindo os rins, vasos sanguíneos, pulmões, fígado, pâncreas e cérebro. Nove entre dez pacientes com Sjogren são mulheres e a média de idade de início é acima dos 40 anos, embora Sjogren ocorra em todas os grupos, tanto em mulheres quanto em homens. Estima-se que atinge tanto quanto 4 milhões de pessoas apenas nos Estados Unidos, tornando-a a segunda doença reumática autoimune mais comum.

[00229] Miosite é uma condição geral caracterizada por inflamação de músculos esquelético ou músculo voluntário. A inflamação do músculo pode ser causada por uma reação alérgica, exposição a uma substância ou medicamento tóxico, uma outra doença tal como câncer ou condições reumatóides, ou um vírus ou outro agente infeccioso. As miopatias inflamatórias crônicas são idiopáticas, o que significa que não apresentam nenhuma causa. Entende-se que são distúrbios autoimunes, nos quais as células brancas do sangue (que em geral combatem doença) atacam vasos sanguíneos, fibras musculares normais e tecido conectivo em órgãos, ossos e articulações.

[00230] Polimiosite afeta músculos esqueléticos (envolvido com a realização do movimento) em ambos os lados do corpo. É raramente observada em pessoas abaixo de 18; a maioria dos casos são em pacientes entre as idades de 31 e 60. Além dos sintomas listados anteriormente, a fraqueza muscular progressiva leva a dificuldades na deglutição, fala, originando a partir de uma posição sentada, subindo escadas, levantando objetos ou movimentando a cabeça. Pacientes com polimiosite também podem experimentar artrite, falta de ar e arritmia cardíaca.

[00231] Dermatomiosite é caracterizada por um exantema na pele que precede ou acompanha fraqueza muscular progressiva. O exantema parece irregular, com colorações roxo azulada ou vermelha, e caracteristicamente desenvolve-se nas pálpebras e nos músculos usados para estender ou arrumar

as juntas, incluindo articulações, cotovelos, calcanhares e dedos. Exantemas vermelhas também podem ocorrer na face, pescoço, ombros, tórax superior, costas e outros locais, e pode existir inchaço nas áreas afetadas. O exantema ocorre algumas vezes sem envolvimento óbvio do músculo. Adultos com dermatomiosite podem ter perda de peso ou uma febre baixa, apresentar pulmões inflamados e ser sensível à luz. A dermatomiosite no adulto, ao contrário de polimiosite, pode acompanhar tumores de mama, pulmão, genitália feminina ou intestino. Crianças e adultos com dermatomiosite podem desenvolver depósitos de cálcio, que aparecem como protuberâncias graves na pele ou no músculo (denominadas calcinose). A calcinose ocorre mais frequentemente 1-3 anos após o início da doença, mas pode ocorrer muitos anos mais tarde. Estes depósitos são mais observados com frequência em dermatomiosite da infância do que em dermatomiosite que inicia-se em adultos. A dermatomiosite pode estar associada a doenças do grupo colágeno-vascular ou autoimunes.

[00232] Miosite com corpos de inclusão (IBM) é caracterizada por fraqueza muscular progressiva e prejudicial. IBM é similar à polimiosite, mas apresenta suas próprias características distintivas. O início da fraqueza muscular é em geral gradual (por meses ou anos) e afeta tanto músculos proximais quanto distais. A fraqueza muscular pode afetar apenas um lado do corpo. Pequenas cavernas denominadas vacúolos são observadas nas células de fibras musculares afetadas. Queda e tropeço são em geral o primeiro sintoma notável de IBM. Para alguns pacientes, o distúrbio começa com fraqueza nos pulsos e dedos, o que causa dificuldade em beliscar, abotoar e segurar objetos. Existe fraqueza dos músculos dos pulsos e dedos e atrofia (redução ou perda de massa muscular) dos músculos do antebraço e músculos quadríceps nas pernas. Dificuldades na deglutição ocorre em aproximadamente metade dos casos de IBM. Os sintomas da doença em geral iniciam após os 50 anos, embora a doença possa ocorrer mais cedo. Ao

contrário da polimiosite e dermatomiosite, IBM ocorre mais frequentemente em homens do que em mulheres.

[00233] A miosite juvenil apresenta algumas similaridades com a dermatomiosite e polimiosite do adulto. Afeta tipicamente crianças com idade de 2 a 15 anos, com sintomas que incluem fraqueza muscular proximal e inflamação, edema (uma coleção anormal de fluidos nos tecidos corporais que causa inchaço), dor muscular, fadiga, exantemas na pele, dor abdominal, febre e contraturas (encurtamento crônico de músculos ou tendões ao redor das juntas, causado por inflamação nos tendões musculares, que impede as juntas moverem livremente). Crianças com miosite juvenil também podem ter dificuldade de deglutição e respiração, e o coração pode ser afetado. Aproximadamente 20 a 30 por cento de crianças com dermatomiosite juvenil desenvolvem calcinose. Os pacientes juvenis podem não apresentar níveis maiores do que os normais da enzima creatina quinase muscular em seu sangue, mas apresentam níveis maiores do que o normal de outras enzimas musculares.

[00234] Dessa maneira, em outras modalidades, os anticorpos da invenção podem ser usados na prevenção, tratamento ou melhora de miosite, miosite inflamatória, miosite idiopática, polimiosite, dermatomiosite, miosite com corpos de inclusão (IBM), miosite juvenil ou sintomas associados a estas condições.

[00235] Em uma outra modalidade, os anticorpos da invenção podem ser usados na prevenção, tratamento ou melhora de sintomas associados a vasculite.

[00236] Anticorpos da invenção podem ser usados para o tratamento de escleroderma. Métodos de tratar escleroderma são descritos em um pedido de patente U.S. intitulado "Methods of Treating Scleroderma" com um pedido número de série de 60/996,175, depositado em 5 de novembro de 2007 e pedido PCT PCT/US2008/82481, que são incorporados pela referência na sua

íntegra com todos os propósitos.

[00237] Em uma outra modalidade, os anticorpos da invenção podem ser usados na prevenção, tratamento ou melhora de sintomas associados com sarcoidose. A sarcoidose (também denominada sarcóide ou doença de Besnier-Boeck) é um distúrbio do sistema imune caracterizado por granulomas não necrotizantes (pequenos nódulos inflamatórios). Virtualmente, qualquer órgão pode ser afetado; entretanto, granulomas mais frequentes aparecem nos pulmões ou nos linfonodos. Ocasionalmente, os sintomas podem aparecer de maneira súbita, mas em geral aparecem gradualmente. Quando observa-se raios-X dos pulmões, a sarcoidose pode ter a aparência de tuberculose ou linfoma.

[00238] Estão também no escopo da invenção estojos que compreendem as composições (por exemplo, anticorpos anti-IFNAR1) da invenção e instruções para uso. O estojo pode conter adicionalmente pelo menos um reagente adicional, ou um ou mais anticorpos adicionais da invenção (por exemplo, um anticorpo com uma atividade de complementaridade que se liga a um epítipo no antígeno alvo distinto do primeiro anticorpo). Os estojos incluem tipicamente uma marca que indica o uso pretendido dos conteúdos do estojo. O termo marca inclui qualquer material escrito ou registrado fornecido no estojo ou junto com este, ou que de outra forma acompanha o estojo.

5.12 Combinações

[00239] As composições da invenção também podem ser administradas em terapia de combinação, tal como combinadas com outros agentes. Por exemplo, a terapia de combinação pode incluir um anticorpo anti-IFNAR1 da presente invenção combinado com pelo menos um outro imunossupressor.

[00240] Em alguns métodos, dois ou mais anticorpos monoclonais com diferentes especificidades de ligação são administrados simultaneamente, no caso da dosagem de cada anticorpo administrado estar na faixa indicada. O

anticorpo é em geral administrado em ocasiões múltiplas. Os intervalos entre as dosagens únicas podem ser, por exemplo, semanalmente, mensalmente, a cada três meses ou anualmente. Os intervalos também podem ser irregulares da maneira indicada medindo níveis sanguíneos de anticorpo para o antígeno alvo no paciente. Em alguns métodos, a dosagem é ajustada para atingir uma concentração de anticorpo no plasma de cerca de 1-1.000 µg /mL e, em alguns métodos, cerca de 25-300 µg /mL.

[00241] Quando os anticorpos para IFNAR1 são administrados juntos com um outro agente, os dois podem ser administrados em tanto em ordem quanto ou simultaneamente. Por exemplo, um anticorpo anti-IFNAR1 da invenção pode ser usado em combinação com um ou mais dos agentes a seguir: medicamentos contendo mesalamina (incluindo sulfasalazina e outros agentes contendo ácido 5- aminossalicílico (5-ASA), tais como olsalazina e balsalazida), medicamentos anti-inflamatórios não esteroidais (NSAIDs), analgésicos, corticosteróides (por exemplo, prednisona, hidrocortisona), inibidores de TNF (incluindo adalimumab (HUMIRA®), etanercept (ENBREL®) e infliximab (REMICADE®)), imunossupressores (tais como 6-mercaptopurina, azatioprina e ciclosporina A) e antibióticos, anticorpo anti-IFN α , anticorpo do receptor anti-IFN γ , e receptor IFN γ solúvel. Além do mais, um anticorpo anti-IFNAR1 de invenção pode ser usado em combinação com um antagonista do ligante Flt3 (ver, por exemplo, pedido U.S. 2002/0160974).

[00242] Em outras modalidades, as composições da invenção também podem incluir agentes usados no tratamento de SLE. Tais agentes incluem analgésicos, corticosteróides (por exemplo, prednisona, hidrocortisona), imunossupressores (tais como ciclofosfamida, azatioprina e metotrexato), antimalariais (tal como hidroxiquina) e medicamentos biológicos que inibem a produção de anticorpos de DNAs (por exemplo, LJP 394).

5.13 Equivalentes

[00243] Os versados na técnica reconhecerão, ou serão capazes de verificar, usando não mais do que experimentos de rotina, muitos equivalentes das modalidades da invenção aqui descritas.

[00244] Todas as publicações, patentes e pedidos de patentes mencionados nesta especificação são aqui incorporados pela referência na especificação com a mesma extensão, já que cada publicação, patente ou pedido de patente individual foi específica e individualmente indicado para ser aqui incorporado pela referência.

[00245] Além do mais, os seguintes pedidos provisórios de patentes dos Estados Unidos: 61/006.962 depositado em 8 de fevereiro de 2008, 61/034.618 depositado em 7 de março de 2007, e 61/049.970 depositado em 2 de maio de 2008 são aqui incorporados pela referência na sua íntegra, com todos os propósitos.

5.14 Modalidades específicas

[00246] 1. Um anticorpo monoclonal de classe IgG modificado específico para IFNAR1, em que o dito anticorpo compreende na região Fc pelo menos uma substituição de aminoácido selecionada do grupo que consiste em L234F, L235E, e P331S, numeradas pelo índice EU da maneira apresentada em Kabat, e em que o dito anticorpo exibe menor afinidade com pelo menos um ligante de Fc comparado a um anticorpo não modificado.

[00247] 2. O anticorpo da modalidade 1, em que o dito anticorpo é um da subclasse IgG1 ou IgG4.

[00248] 3. O anticorpo da modalidade 2, em que o dito anticorpo é uma molécula da classe IgG1.

[00249] 4. O anticorpo da modalidade 3, em que o dito anticorpo compreende uma substituição de aminoácido de P33 IS.

[00250] 5. O anticorpo da modalidade 3, em que o dito anticorpo compreende as substituições de aminoácidos: L234F e L235E.

[00251] 6. O anticorpo da modalidade 3, em que o dito anticorpo

compreende as substituições de aminoácidos: L234F, L235E e P331S.

[00252] 7. O anticorpo da modalidade 3 em que, o dito anticorpo é uma molécula da classe IgG4.

[00253] 8. O anticorpo da modalidade 7, em que o dito anticorpo compreende uma substituição de aminoácido de L235E da região Fc.

[00254] 9. O anticorpo da modalidade 7, em que o dito anticorpo compreende adicionalmente na região Fc substituição de aminoácido S228P.

[00255] 10. O anticorpo de quaisquer das modalidades 1-9, em que o dito anticorpo compreende pelo menos uma região de determinação de complementaridade (CDR) selecionada da tabela 2.

[00256] 11. O anticorpo de quaisquer das modalidades 1-10, em que, o dito anticorpo compreende:

a. uma CDR1 de região variável de cadeia pesada humana compreendendo Seq ID NO: 31;

b. uma CDR2 de região variável de cadeia pesada humana compreendendo Seq ID NO: 32;

c. uma CDR3 de região variável de cadeia pesada humana compreendendo Seq ID NO: 33;

d. uma CDR1 de região variável de cadeia leve humana compreendendo Seq ID NO: 34;

e. uma CDR2 de região variável de cadeia leve humana compreendendo Seq ID NO: 35; e

f. uma CDR3 de região variável de cadeia leve humana compreendendo Seq ID NO: 36.

[00257] 12. O anticorpo de quaisquer das modalidades 1-10, em que o dito anticorpo compreende:

a. uma CDR1 de região variável de cadeia pesada humana compreendendo Seq ID NO: 1;

b. uma CDR2 de região variável de cadeia pesada humana

compreendendo Seq ID NO: 2;

c. uma CDR3 de região variável de cadeia pesada humana compreendendo Seq ID NO: 3;

d. uma CDR1 de região variável de cadeia leve humana compreendendo Seq ID NO: 4;

e. uma CDR2 de região variável de cadeia leve humana compreendendo Seq ID NO: 5; e

f. uma CDR3 de região variável de cadeia leve humana compreendendo Seq ID NO: 6.

[00258] 13. O anticorpo de quaisquer das modalidades 1-10, em que o dito anticorpo compreende:

a. uma CDR1 de região variável de cadeia pesada humana compreendendo Seq ID NO: 11;

b. uma CDR2 de região variável de cadeia pesada humana compreendendo Seq ID NO: 12;

c. uma CDR3 de região variável de cadeia pesada humana compreendendo Seq ID NO: 13;

d. uma CDR1 de região variável de cadeia leve humana compreendendo Seq ID NO: 14;

e. uma CDR2 de região variável de cadeia leve humana compreendendo Seq ID NO: 15; e

f. uma CDR3 de região variável de cadeia leve humana compreendendo Seq ID NO: 16.

[00259] 14. O anticorpo de quaisquer das modalidades 1-10, em que o dito anticorpo compreende:

a. uma CDR1 de região variável de cadeia pesada humana compreendendo Seq ID NO: 21;

b. uma CDR2 de região variável de cadeia pesada humana compreendendo Seq ID NO: 22;

c. uma CDR3 de região variável de cadeia pesada humana compreendendo Seq ID NO: 23;

d. uma CDR1 de região variável de cadeia leve humana compreendendo Seq ID NO: 24;

e. uma CDR2 de região variável de cadeia leve humana compreendendo Seq ID NO: 25; e

f. uma CDR3 de região variável de cadeia leve humana compreendendo Seq ID NO: 26.

[00260] 15. O anticorpo de quaisquer das modalidades 1-10, em que o dito anticorpo compreende:

a. uma região variável de cadeia pesada humana compreendendo a sequência de aminoácidos de Seq ID No: 38; e

b. uma região variável de cadeia leve humana compreendendo a sequência de aminoácidos de Seq ID No: 40.

[00261] 16. O anticorpo de quaisquer das modalidades 1-10, em que o dito anticorpo compreende:

a. uma região variável de cadeia pesada humana compreendendo a sequência de aminoácidos de Seq ID No: 8; e

b. uma região variável de cadeia leve humana compreendendo a sequência de aminoácidos de Seq ID No: 10.

[00262] 17. O anticorpo de quaisquer das modalidades 1-10, em que o dito anticorpo compreende:

a. uma região variável de cadeia pesada humana compreendendo a sequência de aminoácidos de Seq ID No: 18; e

b. uma região variável de cadeia leve humana compreendendo a sequência de aminoácidos de Seq ID No: 20.

[00263] 18. O anticorpo de quaisquer das modalidades 1-10, em que o dito anticorpo compreende:

a. uma região variável de cadeia pesada humana

compreendendo a sequência de aminoácidos de Seq ID No: 28; e

b. uma região variável de cadeia leve humana compreendendo a sequência de aminoácidos de Seq ID No: 30.

[00264] 19. O anticorpo de quaisquer das modalidades 1-18, em que, o dito anticorpo compreende a sequência de região constante de cadeia leve de Seq ID No: 41.

[00265] 20. O anticorpo de quaisquer das modalidades 1-18, em que o dito anticorpo compreende a região constante de cadeia pesada de Seq ID No: 42.

[00266] 21. O anticorpo de quaisquer das modalidades 1-18, em que, o dito anticorpo compreende a região constante de cadeia leve com a sequência de aminoácidos de SEQ ID No:41 e a região constante de cadeia pesada com a sequência de aminoácidos de Seq ID No: 42.

[00267] 22. O anticorpo de quaisquer das modalidades 19-21, em que o dito anticorpo compreende uma sequência de aminoácidos de cadeia pesada compreendendo variação alélica, em que a dita variação alélica tem pelo menos uma ou mais posições selecionadas do grupo que consiste em 214, 221, 356 e 358 da maneira definida pelo sistema de numeração de índice EU.

[00268] 23. O anticorpo de quaisquer das modalidades precedentes, em que o dito anticorpo é selecionado do grupo que consiste em: anticorpo humano, anticorpo humanizado, anticorpo quimérico, intracorpo e um anticorpo sintético.

[00269] 24. Um ácido nucleico isolado compreendendo uma sequência de polinucleotídeos que codificam o anticorpo de quaisquer das modalidades precedentes.

[00270] 25. O ácido nucleico da modalidade 24, em que o dito ácido nucleico é um vetor replicável.

[00271] 26. O ácido nucleico da modalidade 25, em que a dita sequência de polinucleotídeos é operavelmente ligada a um promotor.

- [00272] 27. Uma célula hospedeira que compreende ou é transformada com o vetor da modalidade 25 ou 26.
- [00273] 28. Um camundongo transgênico compreendendo transgenes de cadeia pesada e leve de imunoglobulina humana, em que o camundongo expressa o anticorpo de quaisquer das modalidades 1-23.
- [00274] 29. Um hibridoma preparado a partir do camundongo da modalidade 28, em que o hibridoma produz o dito anticorpo.
- [00275] 30. Uma composição farmacêutica compreendendo o anticorpo de quaisquer das modalidades 1-23, e um excipiente farmacêuticamente aceitável.
- [00276] 31. Um método para tratar uma condição ou uma doença associada a um distúrbio imune, compreendendo administrar a um indivíduo que necessita uma quantidade eficaz da composição da modalidade 30.
- [00277] 32. O método da modalidade 31, em que a dita doença é uma doença mediada por interferon tipo I.
- [00278] 33. O método da modalidade 32, em que o dito interferon tipo I é interferon alfa.
- [00279] 34. O método da modalidade 33, em que a dita doença mediada por interferon tipo I é associada ao receptor do interferon tipo I.
- [00280] 35. O método da modalidade 31, em que a dita doença ou distúrbio é infecção por HIV de AIDS.
- [00281] 36. O método da modalidade 31, em que a dita doença ou distúrbio é lúpus eritematoso sistêmico.
- [00282] 37. O método da modalidade 31, em que a dita doença ou distúrbio é a síndrome de Sjogren.
- [00283] 38. O método da modalidade 31, em que a dita doença ou distúrbio é miosite.
- [00284] 39. O método da modalidade 31, em que a dita doença ou distúrbio é miosite inflamatória.

- [00285] 40. O método da modalidade 31, em que a dita doença ou distúrbio é polimiosite.
- [00286] 41. O método da modalidade 31, em que a dita doença ou distúrbio é dermatomiosite.
- [00287] 42. O método da modalidade 31, em que a dita doença ou distúrbio é miosite com corpos de inclusão.
- [00288] 43. O método da modalidade 31, em que a dita doença ou distúrbio é miosite juvenil.
- [00289] 44. O método da modalidade 31, em que a dita doença ou distúrbio é miosite idiopática inflamatória.
- [00290] 45. O método da modalidade 31, em que a dita doença ou distúrbio é vasculite.
- [00291] 46. O método da modalidade 31, em que a dita doença ou distúrbio é sarcoidose.
- [00292] 47. O método da modalidade 31, em que a dita doença ou distúrbio é selecionado do grupo que consiste em: doença intestinal inflamatória, esclerose múltipla, tiroidite autoimune, artrite reumatóide, diabetes mellitus dependente de insulina, glomerulonefrite, e doença de enxerto contra hospedeiro.
- [00293] 48. O método da modalidade 31, em que a dita doença ou distúrbio é psoríase ou condições resultantes desta.
- [00294] 49. O método da modalidade 31, em que a dita doença ou distúrbio é rejeição de transplante ou doença de enxerto contra hospedeiro.
- [00295] 50. O método da modalidade 31 em que a dita doença ou distúrbio é selecionado do grupo que consiste em: doença de Grave, tiroidite de Hashimoto, doença de Crohn, psoríase, artrite psoriática, oftalmite simpática, ooforite autoimune, orquite autoimune, síndrome linfoproliferativa autoimune, síndrome antifosfolipídica, síndrome de Sjogren, escleroderma, doença de Addison, síndrome de deficiência poliendócrina, síndrome de

Guillan-Barre, púrpura trombocitopênica imune, anemia perniciosa, miastenia grave, cirrose biliar primário, doença do tecido conectivo misto, vitiligo, uveíte autoimune, anemia hemolítica autoimune, trombopocitopenia autoimune, doença celíaca, dermatite herpetiforme, hepatite autoimune, pênfigo, pênfigo vulgar, pênfigo foliáceo, penfigóide bolhoso, miocardite autoimune, vasculite autoimune, alopecia areata, arterosclerose autoimune, doença de Behcet, mielopatia autoimune, hemofilia autoimune, cistite intersticial autoimune, diabetes isípido autoimune, endometriose autoimune, policondrite recorrente, espondilite anquilosante, urticária autoimune, dermatomiosite, síndrome Miller-Fisher, nefropatia de IgA, síndrome de Goodpastures e herpes gestacional.

[00296] 51. O método de quaisquer das modalidades 31-50, compreendendo adicionalmente administrar pelo menos um agente selecionado do grupo que consiste em: fototerapia, corticosteróide, prednisona, NSAIDS, plasmaferese, imunossuppressores, metotrexato, ácido retinóico, tioguanina, micofenolata de mofetila, ésteres fumáricos, ciclofosfamida, azatioprina, ciclosporina e imunoglobulinas.

[00297] 52. O método de quaisquer das modalidades 31-51 compreendendo adicionalmente administrar pelo menos um agente selecionado do grupo que consiste em: alefacept (AMEVIVE™), etanercept (ENBREL®), adalimumab (HUMIRA®), infliximab (REMICADE®), belimumab (LYMPHOSTATB™), rituxumab (RITUXAN®), e efalizumab (RAPTIV UM®).

[00298] 53. Um cristal compreendendo uma região Fc de IgG humana, em que a região Fc de IgG humana compreende pelo menos uma substituição de aminoácido selecionada do grupo que consiste em L234F, L235E, e P331S, numerados pelo índice EU da maneira apresentada em Kabat, e em que o dito fragmento exhibe menor afinidade com pelo menos um ligante de Fc comparado a uma região Fc não modificada.

- [00299] 54. O cristal da modalidade 53, em que a região Fc de IgG humana compreende as substituições de aminoácidos L234F, L235E e P331S.
- [00300] 55. O cristal da modalidade 53, que é qualidade de difração.
- [00301] 56. O cristal da modalidade 53, que é um cristal nativo.
- [00302] 57. O cristal da modalidade 53, que é caracterizado por uma unidade celular ortorrômbica de $a=50,18\pm0,2$ Å, $b=147,30\pm0,2$ Å, e $c=75,47\pm0,2$ Å.
- [00303] 58. O cristal da modalidade 53, que apresenta um grupo espacial de C222₁.
- [00304] 59. Um anticorpo monoclonal modificado, em que o dito anticorpo compreende na região Fc as substituições de aminoácidos L234F, L235E, e P331S, numeradas pelo índice EU da maneira apresentada em Kabat, e em que o dito anticorpo exibe menor afinidade com pelo menos um ligante de Fc, comparado a um anticorpo não modificado.
- [00305] 60. Uma proteína de fusão compreendendo uma região Fc modificada, em que a dita região Fc compreende as substituições de aminoácidos L234F, L235E, e P331S, numeradas pelo índice EU da maneira apresentada em Kabat, e em que a dita região Fc exibe menor afinidade com pelo menos um ligante de Fc, comparado a uma região Fc.
- [00306] 61. Um método de preparar o anticorpo de quaisquer das modalidades 1-23 ou 59.
- [00307] 62. O anticorpo de quaisquer das modalidades 1-23 ou 59, em que o dito anticorpo é um anticorpo que internaliza.
- [00308] 63. A proteína de fusão da modalidade 60, em que a dita proteína de fusão é uma proteína de fusão que internaliza.
- [00309] 64. A proteína de fusão da modalidade 63, em que a dita proteína de fusão se liga especificamente a IFNAR1.
- [00310] 65. O anticorpo de quaisquer das modalidades 1-23, 59, ou 62, em que o dito anticorpo exibe citotoxicidade mediada por célula dependente

de anticorpo reduzida ou removida (ADCC), comparado ao dito anticorpo não modificado.

[00311] 66. O anticorpo de quaisquer das modalidades 1-23, 59, ou 62, em que o dito anticorpo exibe citotoxicidade mediada por complemento reduzida ou removida (CDC), comparado ao dito anticorpo não modificado.

[00312] 67. O anticorpo de quaisquer das modalidades 1-23, 59, ou 62, em que o dito anticorpo exibe ADCC e CDC reduzida ou removida, comparado ao dito anticorpo não modificado.

5.15 Sequências

[00313] Região constante de cadeia leve (SEQ ID No :41)

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL
QSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL
SSPVTKSFNRGEC

[00314] Região constante de cadeia pesada (SEQ ID No :42)

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS
GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK
RVEPKSCDKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV
VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV
LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT
TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKS
LSLSPGK

6. EXEMPLOS

[00315] A invenção é agora descrita com referência aos exemplos a seguir. Estes exemplos são fornecidos com o propósito apenas de ilustração e a invenção não pode ser de nenhuma maneira interpretada como sendo limitante, mas de preferência pode ser interpretada para incluir toda e qualquer variação que se torna evidente como um resultado dos preceitos aqui fornecidos.

6.1 Exemplo 1: perfil de IHC de múltiplos anticorpos anti-IFNAR1

[00316] Propósito: Avaliar o perfil de IHC de anticorpos anti-IFNAR1 em um conjunto diverso de tecidos.

[00317] Métodos: Técnicas imunohistoquímicas para estudar características de ligação de anticorpo são facilmente conhecidas na técnica e, por exemplo, podem ser realizadas isolando as células ou tecidos desejados e preparando-os para microscopia por técnicas de montagem e fixação padrões.

[00318] Macrófagos de camundongo: Uma suspensão celular foi centrifugada para formar um precipitado livre. O precipitado foi congelado em meio de congelamento OCT para formar um bloco. Seções laminares foram cortadas em espessura de 5 microns, banhadas em acetona por 10 minutos e secas naturalmente com dissecante por toda a noite. Antes do uso, as lâminas foram mergulhadas em formalina tamponada neutra a 10 % por 10 segundos e lavadas em tampão 3X (TBS IX com Tween 20 a 0,01 %).

[00319] Monócitos humanos: Uma suspensão celular foi borrada/manchada diretamente nas lâminas. As lâminas secaram naturalmente por toda a noite e foram então banhadas em acetona por 10 minutos e secas naturalmente no ambiente. Antes do uso, as lâminas foram mergulhadas em formalina tamponada neutra a 10 % por 10 segundos e lavadas em tampão 3X (TBS IX com Tween 20 a 0,01 %).

[00320] Tecido cardíaco e de cérebro humano: Amostras de tecido de doadores foram congeladas em meio de congelamento OCT para formar um bloco. As seções de lâminas foram cortadas em espessuras de 5 micron, banhadas em acetona por 10 minutos e secas naturalmente com dissecante por toda a noite. Antes do uso, as lâminas foram mergulhadas em formalina tamponada neutra a 10 % por 10 segundos e lavadas em tampão 3X (TBS IX com Tween 20 a 0,01 %).

[00321] Marcação de anticorpo: Os anticorpos foram conjugados com biotina pelo protocolo a seguir. Aproximadamente 500 µg de anticorpo foram

misturados com um excesso de 20 vezes de biotina e incubados por 2 horas no escuro a 4 °C. Após as 2 horas de incubação, a mistura anticorpo/biotina foi aplicada em uma coluna PD10 pré-equilibrada com PBS IX. Subsequentemente, os anticorpos conjugados com biotina foram concentrados em uma concentração desejada usando um tubo de concentração YM-30 Centricon.

[00322] Coloração de lâmina: Após lavagem em tampão, as lâminas foram tratadas para finalizar peroxidases endógenas por tratamento com uma solução de glicose oxidase (1 U/mL, Sigma G0543), B-D(+) Glicose (10 mM, Sigma G5250), azida sódica (1 mM, Sigma, S8032) por 1 hora em temperatura ambiente. As lâminas foram então rinsadas em tampão de lavagem (TBS IX com Tween 20 a 0,01 %). As lâminas foram colocadas em uma solução que bloqueia proteína (PBS IX pH 7,2, caseína a 0,5 % (N-Z amina, Sigma C0626), BSA a 1 % (Sigma A7906), soro de ovelha normal a 1,5 % (Jackson Labs #005-000-001) por 30 minutos à temperatura ambiente. Anticorpo biotinilado (ver anterior) foi aplicado nas lâminas por diluição na solução que bloqueia proteína. A incubação das lâminas com o anticorpo biotinilado foi realizada a temperatura ambiente por 2 horas. As lâminas foram rinsadas 3X em tampão de lavagem (TBS IX, Tween 20 a 0,01 %). A detecção de anticorpo foi realizada usando um estojo de vectastaina (Vector Laboratories). As lâminas foram lavadas e contracoradas com hematoxilina. As lâminas foram desidratadas e montadas com lamínulas antes da visualização.

[00323] Resultados: São apresentados na figura 6A os resultados de uma análise IHC de tecido cerebral humano corado com vários anticorpos anti-IFNAR1 e controle. Os anticorpos MDX- 1333 (75 µg/mL) e 4G5 (50 µg/mL) exibiram forte coloração do tecido cerebral da maneira exemplificada pela coloração marron/negro observada em todas as amostras. O anticorpo 9D4 (50 µg/mL) não cora a amostra de tecido cerebral humano, bem como

MDX- 1333 e 4G5, da maneira demonstrada pela coloração marrom/negra reduzida em toda a amostra. Um isotipo IgG1 controle foi incluído para demonstrar que a especificidade de ligação dos anticorpos individuais.

[00324] São apresentados na figura 6B os resultados de uma análise IHC de monócitos corados com vários anticorpos anti-IFNAR1 e controle. Os anticorpos MDX- 1333 (50 e 20 µg/mL), 4G5 (50 µg/mL) e 9D4 (50 e 20 µg/mL) exibiram todos coloração proeminente em monócitos humanos da maneira demonstrada pela coloração marrom/negra das amostras. O isotipo controle do anticorpo R3-47 (50 µg/mL) não exibiu coloração proeminente em monócitos humanos. Além do mais, MDX- 1333(50 µg/mL) não coraram macrófagos de camundongo modificados.

[00325] Conclusões: Em estudo de IHC o anticorpo 9D4 anti-IFNAR1 exibiu um menor nível de coloração comparado a outros anticorpos anti-IFNAR1, tais como MDX- 1333 e 4G5.

6.2 Exemplo 2: Geração de anticorpo 9D4 TM

[00326] O anticorpo anti-IFNAR1 modificado designado "9D4-TM" foi gerado por meio do seguinte procedimento;

[00327] Fc γ 1 humano foi clonado e modificado geneticamente a partir de PBLs humanas isolando primeiro o RNA total, transcrevendo cDNA e amplificando por PCR as regiões constantes com oligoiniciadores de genes específicos contendo sítios de restrição Apa I e EcoRI para clonagem no vetor PEE6 de mamífero. O mutante triplo (TM) inclui três mudanças de aminoácido em IgG humana para diminuir a função efetora de ADCC (L234F, L235E, e P331S). O TM foi modificado geneticamente usando IgG1 humana (KOL) com um molde, e utilizando mutagênese sítio direcionada (QuickChange XL, Stratagene) para codificar três mudanças de resíduo no Fc. As sequências dos oligoiniciadores mutagênicos usada para codificar as mudanças em L234F/L235E/P331S foram da maneira a seguir:

MD 1056 = 5' cgtgcccagcacctgaaTtcGAgggggggaccgctcagtttc 3' L234F, L235E

sentido (SEQ ID NO:43)

MD 1057 = 5' gaagactgacgggtccccccTCgaAttcaggtgctgggcacg 3' L234F, L235E antissentido (SEQ ID NO:44)

MD 1058 = 5' ccaacaaagccctcccagccTccatcgagaaaaccatctcc 3' P331S sentido (SEQ ID NO:45)

MD 1059 = 5' ggagatggttttctcgatggAggctgggagggcctttgttg 3' P331 S antissentido (SEQ ID NO:46)

[00328] Os clones que codificam o anticorpo 9D4-TM foram sequenciados para confirmar as mutações triplas, e separados no analisador genético ABI3100.

6.3 Exemplo 3: Geração de anticorpo 9D4 DM

[00329] O anticorpo anti-IFNAR1 modificado designado "9D4-DM" foi gerado por meio do seguinte procedimento;

[00330] O Fc γ 4 humano foi clonado e modificado por engenharia a partir de PBLs humanos isolando primeiro o RNA total, transcrevendo o cDNA, e amplificando por PCR as regiões constantes com oligoiniciadores de genes específicos contendo sítios de restrição Apa I e EcoRI para clonagem no vetor PEE6 de mamífero.

[00331] O mutante duplo (DM) consiste em duas mutações em Fc de IgG4 humana: S228P e L235E. Oligoiniciadores mutagênicos para codificar DM incluem:

MD 1060 = 5' ggtcccccatgccccCcatgcccagcacctg 3' dobradiça S228P sentido (SEQ ID NO:47)

MD 1061 = 5' caggtgctgggcatgGtgggcatgggggacc 3' dobradiça S228P antissentido (SEQ ID NO:48)

MD 1062 = 5' ccagcacctgagttcGAggggggaccatcagtc 3' IgG4 L234F, L235E sentido (SEQ ID NO:49)

MD 1063 = 5' gactgatggtccccccTCgaactcaggtgctgg 3' IgG4 L234F, L235E antissentido (SEQ ID NO:50)

[00332] Os clones que codificam o anticorpo 9D4-DM foram sequenciados para confirmar as mudanças codificadas, e separados no analisador genético ABI3100.

6.4 Exemplo 4 Anticorpos anti-IFNAR1 inibem fosforilação STAT mediada por IFN.

[00333] Propósito: Estabelecer a capacidade do anticorpo anti-IFNAR1 9D4-TM de inibir a fosforilação STAT mediada por IFN em células mononucleares do sangue periférico.

[00334] Métodos: Células mononucleares do sangue periférico foram purificadas a partir de doadores humanos saudáveis usando meio LSM (MP Biomedical, Solon OH). PBMCs foram quantificados e semeados em 10^6 células por condição por poço. Anticorpos foram adicionados em 10 $\mu\text{g/mL}$ aos poços apropriados e incubados a 37 °C, CO₂ a 5 % por 10 minutos. Após a pré-incubação com anticorpos, IFN $\alpha 2a$ humano recombinante (PBL Biomedical, Piscataway NJ) ou IFN derivado de célula dendrítica plasmacitóide humana (ver a seguir para geração de sobrenadantes de IFN tipo I derivados de PDCs) foi adicionado aos poços apropriados em 100 ou 500IU/mL por 20 minutos. As células foram centrifugadas a 1.200 rpm por 5 minutos e lavadas com PBS IX estéril. Após uma centrifugação adicional, PBS foi removido e as células foram lisadas usando reagente de extração de proteína de mamífero (Pierce, Rockford IL) suplementado com 300 μL de coquetéis de inibidor de fosfatase IX 1 e 2 (Sigma, St. Louis MO) e inibidor de protease IX (Roche Biomedical, Nutley NJ). Os lisados foram incubados por 10 minutos em um agitador orbital para assegurar a lise completa, transferidos para tubos do microfugue e centrifugados a 14.000 rpm para remover restos celulares. O tampão de amostra NuPAGE (Invitrogen, Carlsbad CA) e dTT (Sigma, St. Louis MO) foram adicionados aos lisados para uma concentração final de 1x e todas as amostras foram desnaturadas em um bloco aquecido a 100 °C por aproximadamente 10 minutos. 15 μL de cada

amostra foram adicionados ao gel de poliacrilamida Bis-tris a 10 % NuPage (Invitrogen, Carlsbad CA) em tampão de corrida NuPAGE MES SDS suplementado com tampão antioxidante NuPAGE Ix. As amostras correram a 180V por 30 minutos para separação de bandas de proteína. As proteínas foram então transferidas para uma membrana de nitrocelulose e as manchas foram bloqueadas com PBS Ix (Gibco BRL, Carlsbad CA) contendo BSA a 5 % (Sigma, St. Louis MO) por toda a noite a 4 °C. O meio de bloqueio foi subsequentemente removido e 0,2 µg/mL de anticorpos anti-STAT1, anti-STAT1 pY701, ou diluição 1 :1.000 de β-actina (Cell Signaling Technology, Danvers MA) foi adicionado às manchas apropriadas e incubado por toda a noite a 4 °C. As manchas foram lavadas 3 vezes em TBS IX com Tween20 a 0,05 % (Sigma, St. Louis MO). Anticorpo secundário anti-coelho conjugado com HRP diluído 1:2.500 foi adicionado às manchas e incubado por 1 hora a temperatura ambiente. As manchas foram lavadas da maneira descrita anteriormente e 3mL de uma mistura 1:1 de reagente Pico Supersignal West (Pierce, Rockford IL) foram adicionados a cada mancha por 1 minuto. As manchas foram drenadas, o excesso de reagente foi removido e bandas foram visualizadas usando um Kodak X-omat 1000A Processor.

[00335] Resultados: São apresentados na figura 7 os resultados de um ensaio de ativação STAT no qual as células estimularam IFN de leucócito na presença ou ausência de anticorpos anti-IFNAR1. Na ausência de anticorpos, interferon de leucócito estimula a fosforilação de STAT isoformas 1, 3 e 5. A incubação de células com anticorpo 9D4-TM anticorpo inibe a fosforilação mediada por tratamento com interferon de leucócito. Células tratadas com o anticorpo R3-47 isotipo controle não exibem inibição de fosforilação de STAT em resposta ao estímulo com interferon de leucócito.

[00336] Conclusões: Os resultados na figura 7 demonstram que 9D4-TM é capaz de inibir respostas a IFNα, tal como a indução de fosforilação STAT em células mononucleares do sangue periférico.

6.5 Exemplo 5: Anticorpos anti-IFNAR1 inibem a sinalização de IFN tipo I.

[00337] Propósito: Usando IFN tipo I purificado de células pDC, um ensaio repórter foi usado para testar a capacidade de anticorpos anti-IFNAR1 bloqueares a sinalização IFN tipo I.

[00338] Métodos: Células dendríticas plasmocitóides (PDCs) foram isoladas do sangue total de doadores saudáveis usando um meio de separação de linfócito (MP Biomedical, Solon OH) seguido por seleção positiva usando CD304 (BDCA-4/Neuropilina-1) estojo MicroBead (Milteny Biotec, Auburn CA). As PDCs purificadas foram então cultivadas em 1×10^6 células/mL em RPMI 1640 suplementado com FBS a 10 % (Gibco BRL) e 6 $\mu\text{g/mL}$ de CpGA (Invivogen, San Diego CA). Os sobrenadantes foram colhidos e clarificados após 20 horas em cultura e o IFN tipo I foi quantificado usando uma linhagem celular repórter HEK293-ISRE estavelmente transfectada contra uma curva padrão de IFN de leucócito humano (PBL Biomedical, Piscataway NJ).

[00339] As pDCs de três doadores humanos saudáveis foram usadas para gerar sobrenadantes de interferon tipo I derivado de pDC humana, da maneira descrita anteriormente. Células HEK293 (ATCC, Manassas VA) foram transfectadas estavelmente com plasmídeo relatado pHTS-ISRE (Biomymx Technology, San Diego CA) e foram mantidas em DMEM suplementado com FBS a 10 %, NEAA Ix, e 700 $\mu\text{g/mL}$ de G418 (Invitrogen, Carlsbad CA). As células foram semeadas em uma concentração de 80.000 células por poço em placas de 96 poços brancos/claros Optilix (VWR, West Chester PA). As concentrações apropriadas de anticorpos ($611 - 0,00004\text{nM}$) foram adicionadas a cada poço seguido por adição de concentrações apropriadas de sobrenadantes de interferon tipo I derivado de PDC humana. As células, IFN e anticorpos foram incubados por toda a noite a 37 °C, CO₂ a 5 % e a amplificação da proteína luciferase foi avaliada lisando as células com reagente de lise de cultura celular e a visualização ocorreu usando o

sistema de ensaio da luciferase (Promega, Madison WI). O sinal foi medido em cps e os valores IC50 foram gerados.

[00340] Resultados: os sobrenadantes de IFN tipo I foram colhidos das células pDC derivadas de três doadores individuais. Em um ensaio de gene repórter com luciferase a incubação de anticorpos anti-IFNAR1 inibiu a capacidade de sinalização de várias concentrações do sobrenadante de IFN tipo I (Figura 8).

[00341] Conclusões: Estes resultados demonstram que anticorpos anti-IFNAR1 são capazes de inibir sinalização mediada por IFN tipo I, da maneira medida por atividade de ensaio repórter.

6.6 Exemplo 6: Anticorpos modificados anti-IFNAR1 exibem características de ligação similares ao anticorpo não modificado parental.

[00342] Propósito: Investigar as características de ligação de IFNAR1 de anticorpos modificados, comparado às versões parentais não modificadas. São representadas na figura 9 as curvas de afinidade de a ligação para 9D4, 9D4DM, e 9D4TM. As constantes de ligação (K_d) para os anticorpos 9D4, 9D4DM, e 9D4TM anti-IFNAR1 foram determinadas a partir das curvas de ligação.

[00343] Métodos: 200.000 células HEK 293F foram semeadas em uma placa de 96 poços de fundo redondo usando 50 μ L de meio RPMI 1640 suplementado com FBS a 10 %. 9D4-TM marcado com európio foi preparado por contrato coma PerkinElmer Life e Analytical Sciences. Para medir o sinal não específico de európio, 25 μ L de anticorpos anti-IFNAR1 diluídos em série não marcados em excesso 100 vezes foram adicionados aos poços apropriados das placas de 96 poços por 5-10 minutos antes da adição de 9D4-TM marcado. 25 μ L de anticorpo diluído em série conjugado com európio foram então adicionados aos poços apropriados e células e anticorpos foram agitados gentilmente à temperatura ambiente por 1-2 horas. Após incubação de ligação, 150 μ L de meio celular foram adicionados a todos os poços e as

placas foram centrifugadas a 1.200 rpm por 5 minutos a temperatura ambiente. As placas decantaram rapidamente e 250 µL de meio celular foram adicionados a todos os poços. Centrifugações e lavagens foram repetidas para um total de 3 lavagens. As células foram então ressuspensas em 100 µL de meio celular. 50 µL de células ressuspensas foram transferidas para 200 µL de solução de melhoria DELPHIA (PerkinElmer) em uma placa microtitulada DELPHIA amarela e a emissão de európio foi medida em um leitor Victor2 Multilabel (PerkinElmer). O sinal foi medido em cps e valores K_d e valores B_{max} foram gerados usando software de análise GraphPad Prism 4.

[00344] Resultados: Os dados representados na figura 9 demonstram que os anticorpos modificados 9D4-TM e 9D4-DM exibem afinidades de ligação similares para IFNAR1 (9D4 = 0,06 +/- 0,02 nM, 9D4-DM = 0,06 +/- 0,02 nM, 9D4-TM = 0,03 +/- 0,01 nM) com o anticorpo parental não modificado.

[00345] Conclusões: Os dados apresentados neste exemplo demonstram que os anticorpos modificados compartilham características de ligação de IFNAR1 similares com os anticorpos parentais não modificados.

6.7 Exemplo 7: Dados de ensaio de ligação de equilíbrio para 9D4-TM vs. sIFN α RI

[00346] Propósito: Determinar dados de ligação em equilíbrio para 9D4-TM usando IFNAR1 solúvel (srIFNAR1).

[00347] Métodos: O ligante de srIFNAR1 foi revestido em microesferas UltraLink® Biosupport (PIERCE, Rockford, IL) em concentrações de 5 µg/mL e 50 µg/mL em tampão revestimento (tampão de carbonato de sódio 50 mM, pH 9) por um período de 1-2 dias a 4 °C. As microesferas revestidas foram então separadas (rápida centrifugação) da solução de ligante não reagido, e balançadas gentilmente em tampão de bloqueio (1 mL de Tris IM, pH8, contendo BSA a 10 mg/mL) por cerca de 15 minutos à temperatura ambiente (RT). Após isto, a lama da microesfera foi novamente centrifugada

para remover a solução de bloqueio, e então a etapa de bloqueio foi repetida por cerca de 2 horas em temperatura ambiente usando uma alíquota fresca de tampão de bloqueio. Após a etapa de bloqueio, as microesferas revestidas foram armazenadas a 4 °C até serem usadas. Antes do uso, as microesferas revestidas com srIFNAR1 foram transferidas para uma garrafa de microesferas, ressuspensas em 27 mL de tampão de corrida do instrumento (PBS, pH 7,4 –NaN3 0,02 %), e então anexadas ao instrumento KinExA 3000.

[00348] Todas as constantes de ligação de equilíbrio (K_D) foram obtidas de medições realizadas em um instrumento KinExA 3000 (Sapidyne Instruments, Boise, ID). Resumidamente, IgG 9D4-TM foi preparada em 1pM, 10pM e 50pM e dispensada em três séries de tubos. Esta variação de concentrações IgG foi projetada para permitir que medições sejam feitas tanto em condições receptoras quanto em condições controladas de K_D . Diluições em série de duas vezes de ligante de srIFNAR1 foram então tituladas através destas soluções de IgG, em concentrações que variam de 19,5fM - 1nM. Com base no que foi fornecido pelo fabricante em simulações teóricas de curva disponíveis através do software (Sapidyne Instruments, Boise, Idaho), estas misturas de equilíbrio foram incubadas em qualquer lugar por 2-6 dias em temperatura ambiente. No final deste período, os experimentos que testam sinais foram conduzidos para determinar as condições de corrida apropriadas. A detecção de anticorpo livre foi possível usando um reagente de anticorpo secundário marcado com Cy5 espécie-específico (Cy5 AffiniPure F(ab')₂ Fragment Goat Anti-Human IgG, Part #109-176-097, Jackson Immuno Research Laboratories) empregado em 0,1, 1,0 ou 2,0 µg/mL de PBS, pH 7,4 –NaN3 0,02 % contendo BSA em 1 mg/mL. Os dados obtidos dos experimentos foram então simultaneamente ajustados usando o software fornecido de características de análise de n- curva para obter a constante de ligação (K_D) relatada.

[00349] Resultados: São representadas na figura 10A as curvas de ligação para três concentrações de 9D4-TM (1 pM, 10 pM, e 50 pM) com sIFN α RI. Os dados obtidos de pelo menos três experimentos independentes foram ajustados em um software derivado da curva de ligação para estabelecer uma K_D relativa para 9D4-TM. Determinou-se que a K_D de 9D4-TM neste ensaio de ligação é 1,1 pM com um intervalo de confiança de 95 % de 0,603 pM – 1,8 pM. O erro percentual da determinação da K_D de 1,1 pM foi 1,96 %. Também determinou-se que a K_{on} e K_{off} para 9D4-TM é $7 \times 10^6 \pm 1,3 \times 10^6 \text{ s}^{-1}$ e $7,7 \times 10^{-6} \pm 1,57 \times 10^{-6} \text{ 1/Ms}$ respectivamente (dados não mostrados).

[00350] Conclusões: O anticorpo anti-IFNAR1 9D4=TM modificado exibe uma K_D muito baixa de aproximadamente 1,1 pM, para sIFNAR1 da maneira determinada pelo ensaio KinExa.

6.8 Exemplo 8: Determinação de afinidade de ligação de 9D4-TM em PBMCs de humanos

[00351] Propósito: Determinar a afinidade de ligação em PBMCs de humanos.

[00352] Métodos: Células mononucleares do sangue periférico foram purificadas de doadores humanos saudáveis usando meio LSM (MP Biomedical, Solon OH). As células foram contadas e 200.000 células foram semeadas em uma placa de 96 poços de fundo redondo usando 50 μL de meio RPMI 1640 suplementado com FBS a 10 %. 9D4-TM marcado com európio foi preparado por contrato com PerkinElmer Life e Analytical Sciences. Para medir o sinal de európio não específico, 25 μL de 9D4-TM diluído em série não marcado em excesso 100 vezes foram adicionados aos poços apropriados da placa de 96 poções por 5-10 minutos antes da adição de 9D4-TM marcado. 25 μL de 9D4-TM diluído em série conjugado com európio foram então adicionados aos poços apropriados e células e anticorpos foram agitados gentilmente à temperatura ambiente por 1-2 horas. Após incubação de

ligação, 150 μL de meio celular foram adicionados a todos os poços e as placas foram centrifugadas a 1.200 rpm por 5 minutos à temperatura ambiente. As placas decantaram rapidamente e 250 μL meio celular foram adicionados a todos os poços. Centrifugações e lavagens foram repetidas por um total de 3 lavagens. As células foram então ressuspensas em 100 μL de meio celular. 50 μL de células ressuspensas foram transferidas para 200 μL de solução de melhoria DELPHIA (PerkinElmer) em uma placa de microtitulação amarela DELPHIA e a emissão de európio foi medida em um leitor Victor2 Multilabel (PerkinElmer). O sinal foi medido em cps e valores K_d e valores B_{max} foram gerados usando software de análise GraphPad Prism 4.

[00353] Resultados: Usando as medições de afinidade documentadas na figura 10B determinou-se que a K_d para ligação de 9D4-TM a PBMCs de humanos foi 0,29 nM +/- 0,11 nM com o número de sítios de ligação determinado como 1.448 +/- 447. Usando uma abordagem similar, determinou-se que a constante de ligação de afinidade para IFNAR de macaco cinomolgo é 0,65 +/- 0,42 nM com a determinação de que número de sítios de ligação é 648 +/-204 (dados não mostrados).

[00354] Conclusões: Os resultados que são apresentados na figura 10B demonstram que 9D4-TM se liga especificamente e com alta afinidade a PBMCs de humanos.

6.9 Exemplo 9: Os anticorpos modificados anti-IFNAR1 exibem eficácia similar com o anticorpo parental não modificado.

[00355] Propósito: Demonstrar que anticorpos anti-IFNAR2 modificados (isto é anticorpos anti-IFNAR1 com menor afinidade ao ligante de Fc) exibem eficácia similar com os anticorpos parentais não modificados.

[00356] Métodos: O sistema de ensaio de gene repórter com luciferase usado neste exemplo foi previamente descrito (Ver exemplo 3). Os anticorpos de IFNAR1 usados neste exemplo incluem 9D4, 9D4-DM, 9D4-TM, MDX-

1333. É incluído um anticorpo controle R3-47.

[00357] Resultados: Usando o sistema repórter da luciferase, os valores IC50 foram gerados para os vários anticorpos anti-IFNAR1 descritos anteriormente (Ver figura 1 IA). O anticorpo 9D4 anti-IFNAR1 (0,01 nM) e os anticorpos modificados, tais como 9D4-DM (0,01 nM) e 9D4- TM (0,02 nM), elicitaram cada qual um valor IC50 similar no ensaio repórter, demonstrando que exibem uma eficácia similar. Um outro anticorpo anti-IFNAR1, MDX1 333 (0,04 nM) também exibe uma eficácia similar com o anticorpo não modificado 9D4. O isótipo controle não inibe a sinalização mediada por IFN tipo I neste ensaio de gene repórter com luciferase.

[00358] Conclusões: Anticorpos modificados anti-IFNAR1 compartilham eficácias similar às versões não modificadas, como demonstrado para valores IC50 gerados em um sistema de ensaio de gene repórter com luciferase projetado para quantificar eventos de sinalização de IFN.

6.10 Exemplo 10: 9D4-TM inibe a atividade de múltiplas isoformas de interferon tipo I alfa

[00359] Propósito: Demonstrar que 9D4-TM inibe a sinalização atribuída a isoformas específicas e múltiplas de interferon alfa.

[00360] Métodos: O sistema de ensaio de gene repórter com luciferase usado neste exemplo foi previamente descrito (Ver exemplo 5).

[00361] Resultados: Os valores IC50 para a inibição mediada por 9D4-TM da atividade de interferon tipo I são apresentados na tabela 4.

Tabela 4: Valores IC50 para inibição mediada por 9D4-TM da atividade de interferon tipo I

Interferon Tipo I	9D4-TM IC50 (nM)
IFN- α 2b	0,07 +/- 0,01
IFN- α 2a	0,3 +/- 0,2
IFN- α 6	0,04 +/- 0,01
IFN- α 16	0,02 +/- 0,03

Interferon Tipo I	9D4-TM IC50 (nM)
IFN- α 8	0,03 +/- 0,04
IFN- α 10	0,01 +/- 0,01
Interferon de leucócito	0,01 +/- 0,01
IFN- α 17	0,04 +/- 0,03
IFN- α 14	0,02 +/- 0,01
IFN- α 1	0,004 +/- 0,01
IFN- α 21	0,01 +/- 0,002
IFN- α 7	0,04 +/- 0,01
IFN- α 4b	0,02 +/- 0,01
IFN- β 1	6,8 +/- 9,4
IFN- ω	0,1 +/- 0

[00362] Como mostrado, 9D4-TM exibe valores IC50 na faixa sub-nanomolar para isoformas múltiplas de interferon alfa, interferon de leucócito e interferon omega.

[00363] Conclusões: O anticorpo anti-IFNAR1 9D4-TM modificado demonstrada a capacidade de inibir o sinalização atribuída a subtipos múltiplos de específicos de interferon alfa, bem como interferon alfa de leucócito em um ensaio repórter.

6.11 Exemplo 11: Determinação de ponto isoelétrico de 9D4, 9D4DM e 9D4TM

[00364] Propósito: Avaliar as características biofísicas do anticorpo 9D4 não modificado parental em comparação aos anticorpos 9D4-DM e 9D4-TM modificados.

[00365] Métodos: Análise de eletroforese em gel de poliacrilamida que foca em isoelétrico nativo (IEF-PAGE) foi realizada da maneira a seguir: géis com anfolina pré moldados (Amersham Bio sciences, pI na faixa de 3,5-9,5) foram carregados com 8 μ g de proteína. Amostras de proteína foram dializadas em histidina 10 mM pH-6 antes de carregar no gel. Os padrões marcadores de ampla faixa de pI (Amersham, pI na faixa de 3-10 8, μ L) foram usados para determinar pI relativo para Mabs. A eletroforese foi realizada em 1.500 V, 50 mA por 105 minutos. O gel foi fixado por 45 minutos usando uma solução de fixação Sigma (5x) diluída com água purificada para obter Ix. A coloração foi realizada por toda a noite a

temperatura ambiente usando corante simplesmente azul (Invitrogen). A descoloração foi realizada com uma solução que consistia em 25 % de etanol, 8 % de ácido acético e 67 % de água purificada. Pontos isoelétricos foram determinados usando um densitômetro Bio-Rad GS-800 com software Quantity One Imaging.

[00366] Resultados: É representado na figura 12A a determinação do ponto isoelétrico (pI) para anticorpos 9D4WT, 9D4DM e 9D4TM. Amostras dos anticorpos correram de acordo com os métodos anteriores e exibiram as seguintes características. O anticorpo 9D4 WT exibiu bandas de proteína proeminentes que correspondem a 8,2, 8,35 e 8,51. O anticorpo 9D4 DM exibiu uma banda de proteína proeminente única que corresponde a 7,13. O anticorpo 9D4 TM exibiu bandas de proteína proeminentes que correspondem a 8,09 e 8,18.

[00367] Conclusões: Da maneira apresentada neste exemplo, os anticorpos 9D4-DM e 9D4-TM modificados exibem características biofísicas muito similares (pI) ao anticorpo 9D4 não modificado parental.

6.12 Exemplo 12: Termoestabilidade de 9D4, 9D4-DM e 9D4-TM

[00368] Propósito: Avaliar as características biofísicas do anticorpo 9D4 não modificado parental em comparação aos anticorpos 9D4-DM e 9D4-TM modificados.

[00369] Métodos: Calorimetria de varredura diferencial foi realizada da maneira a seguir: as temperaturas de fusão térmica (T_m) foram medidas com um VP-DSC (MicroCal, LLC) usando uma taxa de varredura de 1,0 °C/min e uma faixa de temperatura de 20 – 110 °C. Um período de filtragem de 8 segundos foi usado junto com uma pré-varredura de 15 minutos. As amostras foram preparadas por diálise em histidina- HCl 10 mM pH 6 usando cassetes para diálise da Pierce (3,5 kD). Concentrações de Mab foram 0,14 mg/mL, 0,79 mg/mL e 0,64 mg/mL da maneira determinada por A_{280} . Temperaturas de fusão foram determinadas seguindo procedimentos do fabricante, usando

software original fornecido pelo sistema. Resumidamente, linhas de base múltiplas correram com tampão tanto na célula da amostra quanto na de referência para estabelecer equilíbrio térmico. Após a linha de base ter sido subtraída do termograma da amostra, os dados tiveram concentração normalizada.

[00370] Resultados: Os anticorpos 9D4, 9D4-DM, 9D4-TM foram submetidos a calorimetria de varredura diferencial, da maneira detalhada anteriormente, com os resultados apresentados na figura 12B. Cada um dos anticorpos estudados exibiu temperaturas de fusão similares no ensaio. Especificamente, os anticorpos exibiram as seguintes temperaturas de fusão; 9D4 WT = 70,41 °C, 9D4-DM = 70,41 °C e 9D4-TM = 70,88 °C.

[00371] Conclusões: Da maneira apresentada neste exemplo, os anticorpos 9D4-DM e 9D4-TM modificados exibem características biofísicas muito similares (T_m) ao anticorpo 9D4 não modificado parental. 6.13 Exemplo 13: Anticorpos anti-IFNAR substitutos protegem camundongos de proteinúria induzida por IFN α .

[00372] Propósito: Demonstrar que anticorpos anti-IFNAR protegem camundongos da proteinúria induzida em um modelo de SLE.

[00373] Métodos: Camundongos F1 NZB/W fêmeas foram comprados de Jackson Labs e alojados em instalação de barreiras sem patógeno. O vetor de adenovírus recombinante contendo o IFN α de camundongo subtipo 5 cDNA no controle do promotor/melhorador de CMV (Adv- mIFN α 5) foi usado para induzir lúpus precoce nestes camundongos. Camundongos (8 camundongos/grupo) foram tratados com 8-11 semanas com uma injeção intravenosa única de $0,3 \times 10^{10}$ de partículas virais de Adv-mIFN α 5 (vp). O controle recebeu a mesma quantidade de partículas Adv controle. Em alguns experimentos, os camundongos foram injetados com doses graduais de Adv-mIFN α 5 que variam de $0,01 \times 10^{10}$ a $1,0 \times 10^{10}$ vp/camundongo. Para restar a eficiência de anti-IFNAR1, os camundongos foram tratados com dosagem

intraperitoneal por 5 dias sucessivos de anticorpo a 10 mg/kg iniciando ao mesmo tempo da distribuição de Adv. Para proteinúria, a urina foi testada usando uma vareta de nível (Chemstrip 2 GP; Roche Diagnostics). A proteinúria foi classificada como 1 para níveis de 30 mg/dL, 2 para 100 mg/dL e 3 para níveis > 500 mg/dL. Considerou-se que os camundongos têm proteinúria se duas amostras de urina consecutivas são classificadas como 2 ou mais.

[00374] Resultados: Os resultados dos camundongos infectados por adenovírus tratados com anticorpos anti-IFNAR1 são apresentados na figura 13. Os camundongos infectados com Adv-mIFN α 5 exibem proteinúria com um início de cerca de 3 semanas. Os camundongos infectados tratados com anticorpo IgG de camundongo controle não são protegidos do início da proteinúria com relação ao curso do experimento da maneira demonstrada por um início de proteinúria de cerca de 4 semanas. Os camundongos tratados com anticorpos anti-IFNAR não mostram evidência de proteinúria durante o curso das 8 semanas. Os camundongos tratados com um adenovírus controle não mostram nenhuma proteinúria com relação ao curso de tempo experimental.

[00375] Conclusões: Obtidos juntos, os dados neste exemplo demonstram que a presença de anticorpos anti-IFNAR é protetora contra proteinúria induzida por adv-IFN em um modelo de camundongo *in vivo*.

6.14 Exemplo 14: Anticorpos anti-IFNAR bloqueiam regulação de gene induzido por IFN tipo I

[00376] Propósito: Demonstrar que anticorpos anti-IFNAR1 inibem ou reduzem regulação de gene por interferon tipo I em um modelo de camundongo de SLE.

[00377] Métodos: Camundongos dos procedimentos experimentais descritos no exemplo 13 também forneceram amostras para análise neste exemplo. RNA foi preparado de tecidos usando tampão de lise RLT (Qiagen).

Para tecidos sólidos (rim, baço, pele), não mais que 50 mg de tecido foram usados para cada período de processamento de RNA. As amostras foram colocadas em tampão de lise e matriz de lise A (Qbiogene), e processadas por 30 segundos a 4,5 m/s usando instrumento homogeneizador Fastprep24 (Thermo Electron Corporation, Waltham, MA). Para PBMC, todas as amostras sanguíneas foram centrifugadas e o precipitado foi lisado em tampão RLT. Mediante lise, as amostras foram congeladas a -80 °C até processamento adicional. Para isolar o RNA, lisados de tecidos descongelados foram primeiro processados usando colunas de centrifugação Qias shredder, a seguir volumes iguais de etanol 70 % foram adicionados aos lisados de tecido e RNA foi purificado usando estojos de coluna de centrifugação Rneasy mini de acordo com as instruções do fabricante.

[00378] O cDNA foi gerado a partir de 3 µg de RNA usando transcriptase antissentido Superscript III e oligo d(T) da maneira descrita no protocolo do fabricante (Invitrogen, Corp. Carlsbad, CA). Amostras de cDNA foram diluídas em água sem nuclease e armazenadas a -80 °C.

[00379] Níveis de expressão de genes selecionados foram medidos por análise de TaqMan® em PCR em tempo real usando o sistema de PCR em tempo real ABI 7900HT Fast (Applied Biosystems, Foster City, CA). B-actina de gene regulador foi usada para controle endógeno. As misturas de reação tiveram um volume final de 20 µL consistindo em 1 µL de cDNA, 2 µL de oligoiniciadores 20x e sondas (TaqMan® Gene Expressão Assays, Applied Biosystems) e 18 µL de mistura mestra de PCR universal rápido diluído TaqMan®. As condições de amplificação foram: 20 segundos a 95 °C, 50 ciclos de 1 segundo a 95 °C e 20 segundos a 60 °C. Os valores CT variam de 0 a 50, com o último número assumido para não representar nenhuma formação de produto. A quantificação de expressão de gene foi realizada usando o método CT comparativo (Sequences Detector User Bulletin 2; Applied Biosystems) e relatadas como as quantas são as diferenças com

relação ao gene regulador.

[00380] Resultados: O interferon tipo I expresso ectopicamente em camundongos (Ver exemplo 13) leva à indução de inúmeros genes. São apresentados na figura 14 quantas mudanças de seis genes responsivos de interferon tipo I nas diferentes populações de camundongos são usadas neste experimento. Especificamente, genes IFIT1, IFI44, IFI202b, CXCL9, CXCL10, e CXCL11 são todos induzidos nos camundongos que expressam ectopicamente IFN α e são tratados com IgG de camundongo não específico. Os camundongos que expressam ectopicamente IFN α e são tratados com anticorpos anti-IFNAR não mostram nenhuma indução dos seis genes responsivos de interferon tipo I. Como um controle para demonstrar a especificidade do IFN α codificado pelo adenovírus, os camundongos tratados com PBS ou adenovírus controle não mostram nenhuma indução destes 6 genes. Estes resultados demonstram que a administração de anticorpos anti-IFNAR podem bloquear a resposta de indução de gene indução em IFN alfa em um modelo camundongo *in vivo*.

[00381] Conclusões: Anticorpos anti-IFNAR podem bloquear a regulação de genes responsivos tipo I em modelo de camundongo SLE.

6.15 Exemplo 15: Anticorpos anti-IFNAR bloqueiam a produção de anticorpos Anti-DNAds e Anti-SSA/Ro (antígeno anti-nuclear) induzidos por interferon tipo I

[00382] Propósito: Demonstrar a capacidade de anticorpos anti-IFNAR bloquearem a produção de anticorpos anti-nucleares, tais como anti-dsDNA e anti-SSA/Ro induzido por interferon tipo I em um modelo camundongo de SLE.

[00383] Métodos: Camundongos foram preparados e tratados da maneira descrita no exemplo 13. Os níveis séricos de autoanticorpos anti-DNAds foram avaliados por ELISA. Resumidamente, placas de ELISA pré-tratadas com poli (L-lisina) (100 μ g/mL) foram revestidas com DNA ativado

com timo de bezerro (5 µg/mL em tampão de carbonato-bicarbonato) (SIGMA). Após incubação por toda a noite a 4 °C, as placas foram bloqueadas com PBS/ FCS 10 %. Os soros (diluição 1/200) foram incubados por 30 minutos à temperatura ambiente. IgG ligada foi detectada com IgG anti-camundongo ovelha conjugada com peroxidase (1/4.000) (KPL) adicionada às placas por 30 minutos. A ligação foi medida adicionando substrato TMB (KPL) e solução de parada (KPL), e a OD foi lida a 450 nm. Uma IgG de anti-DNAds de camundongo padrão em soro foi corrida em diluição seriada (de 625 ng/mL) (Alfa Diagnostic) em cada placa para permitir a padronização. Os níveis séricos de autoanticorpo anti-SSA/Ro foram medidos por ELISA (Alfa Diagnostic) seguindo as instruções do fabricante.

[00384] Resultados: O interferon tipo I expresso ectopicamente em camundongos (Ver Exemplo 13) leva ao acúmulo de anticorpos anti-DNAds e anti-SSA/Ros. São apresentados na figura 15 as quantidades relativas de anticorpos anti-DNAds (A) e anti-SSA/Ro (B) nas diferentes populações de camundongos (adenovírus controle, Adv-IFN α + PBS, Adv-IFN α +MuIgG, e Adv- IFN α + Anti-IFNAR) da maneira medida por ELISA. Camundongos infectados por adenovírus controle mostram pouco acúmulo de anticorpos anti-DNAds ou anti-SSA/Ros neste experimento. Os camundongos infectados com adenovírus que codificam IFN α e tratados com PBS acumulam anticorpos anti-DNAds e anti- SSA/Ros. Camundongos infectados com adv-IFN α tratados com anticorpos anti-IFNAR adquirem menos anticorpos anti-DNAds e anti-SSA/Ros do que os camundongos infectados com adv-IFN α tratados com IgG não específica. Estes resultados demonstram que tratamento com anticorpos anti-IFNAR inibe o acúmulo de anticorpos anti-DNAds e anti-SSA/Ros em resposta a IFN tipo I expresso ectopicamente.

6.16 Exemplo 16 : Anticorpos anti-IFNAR bloqueiam a produção de IP- 10 e IL- 18 induzidas por interferon tipo I

[00385] Propósito: Demonstrar a capacidade de anticorpos anti-IFNAR bloquearem o acúmulo de citocinas induzidas por IFN α em um modelo de camundongo de SLE.

[00386] Métodos: Os camundongos dos procedimentos experimentais descritos no exemplo 13 também forneceram amostras para análise neste exemplo. Os níveis séricos de citocinas foram medidos por ELISA (R&D sistemas) seguindo as instruções do fabricante.

[00387] Resultados: O interferon tipo I expresso ectopicamente em camundongos (Ver Exemplo 13) leva ao acúmulo de citocinas IP-10 e IL- 18. São apresentados na figura 16 as quantidades relativas de IP-10 (A) e IL-18 (B) nas diferentes populações de camundongos (PBS, adenovírus controle, Adv-IFN α +MuIgG, e Adv-IFN α + Anti-IFNAR) da maneira medida por ELISA. O interferon tipo I expresso ectopicamente em camundongos (Ver Exemplo 12) leva ao acúmulo das citocinas, IP-10 e IL-18. Camundongos infectados por adenovírus controle mostram pouco acúmulo de citocinas IP-10 (A) ou IL-18 (B) neste experimento. Os camundongos infectados por Adv-IFN α tratados com anticorpos anti-IFNAR acumulam menos citocinas IP-10 e IL-18 do que os camundongos infectados por Adv-IFN α tratados com IgG não específica. Estes resultados demonstram que tratamento com anticorpos anti- IFNAR inibem o acúmulo das citocinas IP-10 e IL-18 em resposta ao IFN tipo I expresso ectopicamente.

[00388] Conclusões: Anticorpos anti-IFNAR são capazes de bloquear o acúmulo de citocinas induzidas por IFN α em um modelo de camundongo de SLE.

6.17 Exemplo 17: Anticorpos anti-IFNAR bloqueiam a produção de ANA (anticorpos anti-nucleares) induzidos por interferon tipo I

[00389] Propósito: Para demonstrar a capacidade de anticorpos anti-IFNAR bloquearem o acúmulo de anticorpos anti-nucleares induzidos por IFN α em um modelo de camundongo de SLE.

[00390] Métodos: Os camundongos dos procedimentos experimentais descritos no exemplo 13 também forneceram amostras para análise neste exemplo. Níveis de anticorpo antinuclear (ANA) foram medidos por estojo de teste ANA (Antibodies Incorporated) com substrato estabilizado Hep-2 e figuras mitóticas seguindo a instrução do fabricante. O soro foi diluído em série e incubado com as células Hep-2 em lâminas e o anticorpo antinuclear ligado foi detectado por IgG anti-camundongo ovelha marcada com Hi-FITC (H+L) (Antibodies Incorporated). O título de ANA é definido como o fator de diluição do soro, onde o ANA não é mais detectável.

[00391] Resultados: O interferon tipo I expresso ectopicamente em camundongos (Ver Exemplo 13) leva ao acúmulo de anticorpos anti-ANA. É apresentada na figura 17 a titulação sérica de anticorpos anti-ANA nas diferentes populações de camundongos (sem vírus, adenovírus controle, Adv-IFN α + PBS, Adv-IFN α +MuIgG, e Adv-IFN α + Anti-IFNAR) da maneira medida por coloração de diluição seriada em células HEP2. Os camundongos infectados por adenovírus controle mostram pouco acúmulo de anticorpos anti-ANA neste experimento. Os camundongos infectados com adenovírus que codificam IFN α e tratados com PBS acumulam anticorpos anti-ANA. Os camundongos infectados por Adv-IFN α tratados com anticorpos anti-IFNAR adquirem menos anticorpos anti-ANA do que os camundongos infectados por Adv-IFN α tratados com IgG não específica. Estes resultados demonstram que tratamento com anticorpos anti-IFNAR inibe o acúmulo de anticorpos anti-ANA em resposta ao IFN tipo I expresso ectopicamente.

[00392] Conclusões: Anticorpos anti-IFNAR são capazes de bloquear o acúmulo de anticorpos anti-nucleares induzidos por IFN α em um modelo de camundongo de SLE.

6.18 Exemplo 18: Inibição de anticorpo do desenvolvimento de célula dendrítica mediada por plasma de SLE

[00393] Propósito: O plasma de SLE induz o desenvolvimento de

célula dendrítica de monócitos humanos normais. Neste exemplo, o anticorpo monoclonal 9D4-TM purificado foi testado para a inibição do desenvolvimento de célula dendrítica, da maneira avaliada pela capacidade dos anticorpos inibirem a indução dos marcadores celulares superficiais CD38 e CD123 por plasma de SLE.

[00394] Métodos: Os métodos foram previamente descritos em pedido de patente U.S. 20006/0029601 que é aqui incorporado pela referência na sua íntegra. Essencialmente, os experimentos foram conduzidos da maneira a seguir: 25 mL de uma camada de células brancas foram diluídos quatro vezes com salina tamponada fosfatada (PBS). A amostra foi separada em tubos cônicos de 4x50 mL, e 15 mL de meio de separação de linfócito (ICN Biomedicals) foram dispostos em camadas. Após uma centrifugação de 30 minutos 500 g, a camada de células brancas contendo as células mononucleares do sangue periférico (PBMCs) foi removida e lavada com PBS. As células foram ressuspensas em meios de cultura contendo soro humano ativado pelo calor a 1 % em 4×10^6 células/mL. Os monócitos foram isolados incubando PBMCs ($2,0 \times 10^7$ células/5 mL/frasco de 25 cm²) por 1,5 hora a 37 °C em meios de cultura, e a seguir lavando as células não aderentes duas vezes. Para indução de maturação de monócito, as células foram incubadas com meio contendo 25 % de plasma humano de voluntários saudáveis ou de pacientes com SLE. Estudos de bloqueio de anticorpo foram conduzidos adicionando 30 µg/mL de anticorpo anti-IFNAR1 ou isotipo controle, IgG1, à cultura. As células foram incubadas por 4 dias, lavadas com PBS, e tratadas com 1:5.000 de Versene por 10 minutos a 37 °C. Quando necessário, as células foram isoladas fragmentando suavemente as células antes de serem lavadas e analisadas. Cada cultura foi ressuspensa em meio de coloração (solução de sal balanceada de Hanks com 0,2 % de bicarbonato de sódio, 0,01 % de azida sódica, EDTA 0,1 mM, HEPES 20 mM, e 2 % de soro fetal bovino) e separada igualmente em seis poços de uma placa V de 96

poços. As células foram centrifugadas a 2.100 rpm em um rotor Sorvall RTH-750, e ressuspensas em 25 µL de meio de coloração. Um micrograma de anticorpo conjugado com ficoeritrina específica foi adicionado a cada poço e incubado em gelo por 45 minutos. As células foram lavadas três vezes, ressuspensas em 200 µL de 2 % de para-formaldeído em PBS, e analisadas por citometria de fluxo com o FACScalibur da Becton Dickinson. Canais de entrada foram atraídas no gráfico de dispersão v sentido para remover células contaminantes a partir da análise.

[00395] Resultados: Neste experimento, a diferenciação de monócitos humanos em células dendríticas em resposta a IFN derivado do plasma de SLE pacientes bloqueado por tratamento com 9D4-TM foi medida por expressão superficial de dois marcadores de células dendríticas, CD38 e CD123. Na figura 18, amostras múltiplas de soro de pacientes com SLE não aumentaram a expressão superficial de CD38 e CD123 na presença de 9D4-TM. Os valores IC50 para 9D4-TM variaram de 0,02 nM a 0,06 nM tanto para CD38 quanto para CD123.

[00396] Conclusões: O anticorpo anti-IFNAR1 9D4-TM foi capaz de bloquear a capacidade de IFN α derivado de pacientes com SLE para induzir a maturação de pDC da maneira medida por expressão de marcador de superfície celular.

6.19 Exemplo 19: Anticorpos anti-IFNAR suprimem a expressão de CD38, CD123 e CD86 em monócitos estimulados com IFN de leucócitos.

[00397] Propósito: Neste exemplo, os anticorpos 9D4, 9D4-DM e 9D4 TM foram testados para a inibição do desenvolvimento de célula dendrítica, da maneira avaliada pela capacidade dos anticorpos inibirem a indução dos marcadores celulares superficiais CD38 e CD123 por IFN de leucócito.

[00398] Métodos: Os monócitos foram isolados do sangue total de doadores saudáveis usando um meio de separação de linfócito (MP Biomedical, Solon OH) seguido por seleção positiva usando estojo de

isolamento de monócito II (Milteny Biotec, Auburn CA). Os monócitos purificados foram então cultivados a 1×10^6 células/mL em RPMI 1640 suplementado com FBS a 10 % (Gibco BRL). Anticorpos diluídos em série foram preparados em concentrações finais de 3 µg/mL - 20pg/mL nos meios e foram adicionados aos poços apropriados de células. Após pré-incubação de aproximadamente 5 minutos, 100IU/mL de IFN de leucócito humano (PBL Biomedical, Piscataway NJ) foram adicionados aos poços apropriados e as culturas foram incubadas a 37 °C, CO₂ 5 % por 48 horas após o que a expressão superficial de CD38 e CD 123 foi avaliada. Resumidamente, as células foram precipitadas em 1.200 rpm por 5 minutos e os meios de cultura foram removidos das monocamadas por aspiração seguido por uma lavagem 1x com PBS estéril. O PBS foi removido e 1 mL tampão de dissociação celular estéril (Gibco BRL, Carlsbad CA) ou tripsina a 0,05 % (Invitrogen, Carlsbad CA) foi adicionado aos poços para remover as células das monocamadas. Após 5 minutos e breve agitação, volumes iguais de RPMI 1640 suplementado com FBS a 10 % foram adicionados a cada poço, seguido por duas séries de centrifugação e lavagens com PBS estéril. 50 µL de PBS 1X suplementado com BSA 5 % (Sigma, St. Louis MO) e 10 µg/mL IgG humana total (Jackson Immuno Research Laboratories, West Grove PA) foram adicionados a cada poço para bloquear anticorpo de ligação Fc não específica e incubados por 10 minutos a temperatura ambiente. 50 µL de PBS 1X suplementado com BSA 5 % e anticorpos PE-anti-humano CD123 e FITC-anti-humano CD38 (Becton Dickinson, Franklin Lakes NJ) foram adicionados aos poços apropriados e incubados por 30 minutos no gelo. As células foram lavadas uma vez em PBS 1X suplementado com BSA 5 % e expressão protéica superficial foi medida em um BD LSRII (Becton Dickinson, Franklin Lakes NJ).

[00399] Resultados: São apresentadas na figura 19 as curvas de supressão de expressão de CD38 (A), CD 123 (B), e CD86(C) exibidas por

PBMCs estimuladas por IFN de leucócito incubado com anticorpos anti-IFNAR 9D4, 9D4DM, e 9D4TM. Para cada molécula CD, os anticorpos anti-IFNAR elicitarão curvas de supressão similares que foram utilizadas para gerar valores IC50. Para a expressão de CD38 em PBMCs estimuladas com IFN de leucócito (A), os anticorpos anti-IFNAR elicitarão valores IC50 da maneira a seguir: 9D4=4,3 ng/mL, 9D4DM=40 ng/mL, 9D4TM=25 ng/mL. Para a expressão de CD 123 em PBMCs estimuladas com IFN de leucócito (B), os anticorpos anti-IFNAR elicitarão valores IC50 da maneira a seguir: 9D4=7 ng/mL, 9D4DM=21 ng/mL, 9D4TM=10 ng/mL. Para a expressão de CD86 em PBMCs estimuladas com IFN de leucócitos (C), os anticorpos anti-IFNAR elicitarão valores IC50 da maneira a seguir: 9D4=20 ng/mL, 9D4DM=20 ng/mL, 9D4TM=26 ng/mL.

[00400] Conclusões: Os resultados neste exemplo demonstram que anticorpos da invenção, 9D4-DM e 9D4-TM exibem curvas de supressão similares de indução de IFN de marcadores celulares superficiais de pDC comparado ao anticorpo 9D4 parental.

6.20 Exemplo 20: Anticorpos anti-IFNAR1 modificados exibem menor ligação ao receptor Fc de FcγRI.

[00401] Propósito: Demonstrar a menor ligação de um receptor específico Fc aos anticorpos modificados anti-IFNAR1.

[00402] Métodos: A atividade de ligação de anticorpos 9D4-DM e 9D4-TM modificados em FcγRI humano (CD64) foi avaliada por ELISA. FcγRI em PBS (pH7.4) foi revestido em 25 µL/poço em uma placa de microtítulo (Costar cat. 3690) na concentração de 20 µg/mL por toda a noite a 4 °C. Após a lavagem e bloqueio com leite a 4 % por 1 hora a temperatura ambiente, os anticorpo 9D4, 9D4TM, 9D4DM biotinilados e controle foram adicionados na placa previamente bloqueada e incubados a 37 °C por uma hora, iniciando a 500 µg/mL e a seguir em diluição em série de duas vezes.

[00403] A placa foi lavada com PBS (pH 7,4) contendo 0,05 % de

Tween 20 e 25µl de HRP conjugado com avidina foram adicionados a cada poço. Após uma hora de incubação a 37 °C, as placas foram lavadas novamente e 50 µL/poço de substrato - SureBlue TMB peroxidase (KPL cat. 52-00-03) foram adicionados. A reação foi parada com 50 µL de 0,2 M H₂SO₄ após 5-10 minutos de desenvolvimento. O sinal de ELISA foi lido em 450nm.

[00404] Resultados: Em um ensaio de ligação a base de ELISA (Figura 20), os anticorpos modificados anti-IFNAR1 9D4DM e 9D4TM exibiram menores afinidades de ligação com o FcγRI que não modificou o anticorpo 9D4WT, bem como o anticorpo controle.

[00405] Conclusões: Estes resultados demonstram que os anticorpos modificados anti-IFNAR1 9D4-DM e 9D4-TM elicitam uma menor afinidade com o receptor Fc FcγRI comparado ao anticorpo não modificado 9D4. A menor afinidade com o receptor FcγRI levaria a uma menor indução de ADCC.

6.21 Exemplo 21: O receptor Fc FcγRIIIA exibe ligação reduzida aos anticorpos anti-IFNAR1 modificados.

[00406] Propósito: Demonstrar a ligação reduzida de um receptor Fc específico com os anticorpos modificados anti-IFNAR1 9D4-DM e 9D4-TM, da maneira comparada com o anticorpo não modificado 9D4 anti-IFNAR1.

[00407] Métodos: Cinquenta µg/mL de anticorpos 9D4, 9D4TM, e 9D4DM diluídos em PBS foram revestidos em uma placa de microtitulação Immunlon IV por toda a noite a 4 °C. Após a lavagem e bloqueio com leite a 4 % por 1 hora a temperatura ambiente, variantes de FcγRIIIA 158F (baixa afinidade) e 158V (alta afinidade) com etiqueta Flag foram adicionados aos poços da placa bloqueada, iniciando a 50 µg/mL a seguir em diluição seriada duas vezes. A placa foi lavada por mais uma hora e incubada com anticorpo anti-Flag conjugado com biotina (Sigma) em 2 µg/mL. Após a lavagem, 25 µL de avidina conjugada com HRP foram adicionados a cada poço. Os materiais não ligados foram removidos lavando uma hora após a incubação. O

sinal de ligação foi detectado com o substrato TMB.

[00408] Resultados: Os resultados de um ensaio de ligação a base de ELISA entre anticorpos anti-IFNAR1 (9D4WT, 9D4DM, e 9D4TM) e o receptor Fc FcγRIIIA de alta e baixa afinidade são apresentados na figura 21 (A, B, C). Na figura 21(A) os anticorpos revestidos 9D4WT na placa de ELISA se ligaram eficientemente ao receptor FcγRIIIA de alta afinidade em concentrações maiores do que 3 ng/mL, embora exista ligação limitada do receptor FcγRIIIA de baixa afinidade em todas as concentrações testadas. Na figura 21(B), os anticorpos 9D4DM modificados revestidos na placa de ELISA não se ligam eficientemente aos receptores FcγRIIIA de baixa e alta afinidade em quaisquer das concentrações testadas. Ao contrário, na figura 21(C), os anticorpos 9D4TM modificados revestidos na placa de ELISA não se ligam eficientemente aos receptores FcγRIIIA de baixa e alta afinidade em quaisquer concentrações testadas.

[00409] Conclusões: Estes resultados sugerem que os anticorpos modificados anti-IFNAR1 9D4-DM e 9D4-TM apresentam uma menor afinidade com o receptor FcγRIIIA comparado ao anticorpo não modificado 9D4 anti-IFNAR1. Adicionalmente, a menor afinidade com o receptor Fc específico pode levar a uma diminuição na função efetora ADCC.

6.22 Exemplo 22: Os anticorpos modificados 9D4DM e 9D4TM exibem menor ligação com o receptor Fc FcγRIIIA.

[00410] Propósito: Demonstrar a menor ligação de um receptor Fc específico nos anticorpos modificados 9D4DM e 9D4TM.

[00411] Métodos: Cinquenta µg/mL de variantes de FcγRIIIA (FcγRIIIA-10 158F e FcγRIIIA-10 158V) em PBS foram revestidos em placa de microtitulação Immulon IV por toda a noite a 4 °C. Após a lavagem e bloqueio com leite a 4 % por 1 hora a temperatura ambiente, os anticorpos 9D4, 9D4TM, e 9D4DM biotinilados foram adicionados aos poços da placa bloqueada a 100 µg/mL. A placa foi lavada por mais 1 hora e incubada com

avidida conjugada com HRP. Os materiais não ligados foram removidos lavando uma hora após a incubação. O sinal de ligação foi detectado com o substrato TMB.

[00412] Resultados: Os resultados de um ensaio de ligação a base de ELISA entre os receptores Fc FcγRIIIA de alta e baixa afinidade e anticorpos anti-IFNAR1 (9D4WT, 9D4DM, e 9D4TM) são apresentados na figura 22 (A, B, C). Na figura 22 (A), o anticorpo não modificado 9D4 anti-IFNAR1, em concentrações maiores do que 3 ng/mL, se liga eficientemente ao receptor FcγRIIIA de alta afinidade imobilizado na placa de ELISA, ao passo que o anticorpo demonstra ligação limitada com o receptor FcγRIIIA imobilizado de baixa afinidade em todas as concentrações testadas. Na figura 22(B) o anticorpo 9D4DM anti-IFNAR1 modificado não se liga eficientemente aos receptores FcγRIIIA imobilizados de alta ou baixa afinidade em quaisquer concentrações testadas, comparado ao anticorpo 9D4WT anti-IFNAR1 modificado. Ao contrário, na figura 22 (C), o anticorpo 9D4TM anti-IFNAR1 modificado não se liga eficientemente aos receptores FcγRIIIA imobilizados de alta ou baixa afinidade em quaisquer concentrações testadas comparado ao anticorpo 9D4WT anti- IFNAR1 modificado.

[00413] Conclusões: Este exemplo demonstra que os anticorpos modificados, 9D4DM e 9D4TM, exibem menor afinidade com o receptor Fc, FcγRIIIA, comparado ao anticorpo 9D4 não modificado parental. Esta menor afinidade pode levar a uma diminuição na função efetora ADCC mediada por FcγRIIIA, comparado ao anticorpo parental.

6.23 Exemplo 23: Neutralização de subtipos de IFNα por anticorpos anti-IFNAR1.

[00414] Propósito: Demonstrar a capacidade dos anticorpos anti-IFNAR1 MDX-1333, 9D4WT, e 9D4TM neutralizarem subtipos específicos de IFNα em um ensaio repórter

[00415] Métodos: Ensaio repórteres para neutralização de IFNα foram

bem documentados na técnica. Neste exemplo, a neutralização de IFN α é medida por um ensaio repórter a base de HiL3. Um exemplo de como um ensaio de neutralização de IFN α usa células HiL3 como um repórter é da maneira a seguir: Uma linhagem celular de hepatoma humano HiL3 foi transfectada com um plasmídeo contendo um elemento de resposta estimulado por IFN α - luciferase (ISRE-Luc) e um gene de resistência de neomicina. Estas células foram gentilmente fornecidas pelo Dr Michael Tovey (CNRS, Paris, França). HiB, 30.000 células/poço, foi cultivada em placas de 96 poços brancas refletivas (DYNEX Micro lite) e crescidas por toda a noite em meio de Eagle modificado por Dulbecco contendo 10 % de soro fetal bovino e 1 mg/mL de G418 (+penicilina/estreptomicina/L-glutamina). Após esta incubação, várias formas de interferon foram adicionadas e as placas foram cultivadas por 18 horas. A reação terminou adicionando 10 mL de tampão de lise à garrafa de substrato luciferase (Luc Lite Plus kit, Perkin-Elmer); 100 μ L desta solução de substrato foram adicionados a cada poço e lidos em Top Count por 10 minutos (10 minutos esperando no escuro, a seguir 1 segundo leitura/poço). As contagens por segundo (cps) em cada concentração de IFN foram determinadas e a concentração de IFN ou cps em cada amostra foi calculada da curva de titulação de IFN usando software Prism (San Diego, CA) com parâmetros de regressão linear.

[00416] Resultados: A capacidade de neutralização de anticorpos anti-IFNAR1 para várias espécies de IFN em um ensaio repórter de HiL3 é apresentada na figura 23 (A-E). Os anticorpos anti-IFNAR1 MDX-1333, 9D4WT e 9D4TM inibem subtipos múltiplos de interferon tipo I com similar eficácia. Os anticorpos anti-IFNAR1 MDX-1333, 9D4WT e 9D4TM neutralizam IFN α 10 (UM) com valores IC50 de 0,09880 μ g/mL, 0,008345 μ g/mL e 0,004287 μ g/mL respectivamente. Os anticorpos anti-IFNAR1 MDX-1333, 9D4WT e 9D4TM neutralizam IFN de leucócito humano (B)

com valores IC₅₀ de 1,121 µg/mL, 0,02104 µg/mL e 0,02120 µg/mL respectivamente. Os anticorpos anti-IFNAR1 MDX-1333, 9D4WT e 9D4TM neutralizam IFNα 2b (C) com valores IC₅₀ de 0,0006462 µg/mL, 0,002789 µg/mL e 0,0008279 µg/mL respectivamente. Os anticorpos anti-IFNAR1 MDX-1333, 9D4WT e 9D4TM neutralizam IFNω (D) com valores IC₅₀ de 5,323 µg/mL, 0,01015 µg/mL e 0,01423 µg/mL respectivamente. Os anticorpos anti-IFNAR1 MDX-1333, 9D4WT e 9D4TM neutralizam IFNβ (E) com valores IC₅₀ de 18,97 µg/mL, 0,7403 µg/mL e 0,2611 µg/mL respectivamente.

[00417] Conclusões: Estes resultados indicam que os anticorpos anti-IFNAR1 MDX-1333, 9D4WT (não modificado) e 9D4TM (modificado) exibem especificidade de neutralização similar e capacidade de multiplicar interferons do tipo I.

6.24 Exemplo 24: Anticorpos anti-IFNAR1 neutralizam IFN tipo I em plasma de pacientes com SLE

[00418] Propósito: Demonstrar a capacidade de anticorpos anti-IFNAR1 neutralizarem IFN tipo I em plasma isolado de pacientes de SLE da maneira medida por um ensaio repórter.

[00419] Métodos: Células PIL-5 ISRE estavelmente transfectadas foram mantidas em RPMI 1640 + IX Penicilina-estreptomicina-glutamina + FBS a 10 % e semeadas a 100.000 células por poço em placas de 96 poços branco/claro Optilix (VWR, West Chester PA). Os anticorpos foram titulados e adicionados aos poços apropriados por uma concentração final variando de 90 µg/mL - 60pg/mL. Amostras de interferon tipo I positivo humanos de soro de paciente com SLE foram adicionadas a cada poço para um percentual sérico final de 50 % por poço. Células, IFN e anticorpos foram incubados por toda a noite a 37 °C, CO₂ 5 %. Após incubação por toda a noite, as células foram precipitadas resumidamente em 1.200 rpm por 5 minutos e amplificação da proteína luciferase foi avaliada lisando as células com

reagente de lise de cultura celular e a visualização foi feita usando o sistema de ensaio de luciferase (Promega, Madison WI). O sinal foi medido em cps e valores IC50 foram gerados usando software de análise GraphPad Prism 4.

[00420] Resultados: 9D4-TM neutraliza interferons do tipo I no plasma de paciente com SLE. Os resultados de um ensaio de neutralização de interferons do tipo I no plasma de paciente com SLE são apresentados na figura 24. A neutralização de interferon tipo I contido na amostra de paciente com SLE é especificamente neutralizada com 9D4-TM versus um isotipo controle no aumento das concentrações de anticorpo. Especificamente, 9D4-TM exibe um IC50 de 0,04 nM para neutralização de interferons do tipo I nesta amostra de plasma obtida de um paciente com SLE.

[00421] Conclusões: Este resultado sugere que o anticorpo 9D4-TM anti-IFNAR1 modificado apresenta a capacidade de neutralizar especificamente interferon tipo I em pacientes com SLE.

6.25 Exemplo 25: Anticorpos anti-IFNAR suprimem as populações de pDC induzidas por IFN α em PBMCs

[00422] Propósito: Demonstrar a capacidade de anticorpos anti-IFNAR suprimirem o acúmulo de células pDC no sangue periférico de camundongos de um modelo de SLE.

[00423] Métodos: Camundongos dos procedimentos experimentais descritos no exemplo 13 também forneceram amostras para análise neste exemplo. PBMCs foram isoladas do baço, linfonodos, medula óssea e sangue periférico usando técnicas de isolamento padrão técnicas e coradas com os marcadores superficiais B220 e Ly6C. PBMCs isoladas foram analisadas por FACS e as duas células positivas (B220 e Ly6C) foram classificadas como células pDC e as populações relativas são representadas na figura 25.

[00424] Resultados: Da maneira representada na figura 25, a expressão ectópica de IFN α ativa um aumento em células pDC nas PBMCs isoladas de baço (A), linfonodos (B), sangue (C) e medula óssea (D) na presença de PBS

ou IgG de camundongo não específica. Os camundongos tratados com anticorpos anti-IFNAR não acumulam células pDC em resposta a IFN-alfa. Os camundongos tratados com adenovírus controle não acumulam pDCs na população PBMC.

[00425] Conclusões: Estes resultados sugerem que anticorpos anti-IFNAR bloqueiam especificamente a regulação positiva de células pDC induzidas por IFN α .

6.26 Exemplo 26: Anticorpos modificados anti-IFNAR1 exibem menores afinidade de ligação com receptores Fc.

[00426] Propósito: Avaliar as afinidades de ligação relativas dos anticorpos modificados anti-IFNAR1 9D4-DM e 9D4-TM com o anticorpo 9D4 não modificado parental a vários receptores Fc.

[00427] Métodos: Todos os experimentos foram realizados em um instrumento BIAcore 3000 (BIAcore, Inc., Uppsala, Suécia). Em um experimento típico, soluções 1 μ M de IgGs 9D4 foram usadas para imobilizar qualquer parte de ~ 7.000 RUs - ~ 11.000 RUs de proteína nas superfícies do chip sensor CM5 usando um protocolo de acoplamento de amino padrão (BIAcore, Inc.). Separadamente, uma superfície em branco também foi preparada em cada chip usando o protocolo idêntico, menos a proteína. Esta superfície em branco foi usada como uma célula de referência em todo o experimento e serviu para corrigir tanto a ligação não específica quanto os certos artefatos de manutenção. Para os experimentos de ligação teste, Fc γ RI foi preparado em tampão HBS-EP 20nM (BIAcore, Inc., consistindo no seguinte: tampão HEPES 10mM, pH7,4, NaCl 150mM, EDTA 3mM, e 0,005 % de P20. Entre as injeções Fc γ RI, a superfície de IgG foi regenerada com uma injeção de 1 minuto de HCl 5mM. Sobrecamadas no sensorgrama foram geradas usando o software BIAevaluation 4.1 (BIAcore, Inc, Uppsala, Suécia).

[00428] Resultados: O anticorpo 9D4 anti-IFNAR1 e anticorpos

modificados anti-IFNAR1, 9D4-TM e 9D4-DM, foram testados quanto a afinidade de ligação com proteína FcγRI imobilizada em um formato de ensaio BIAcore. Da maneira descrita na figura 26, o anticorpo 9D4 anti-IFNAR1 exibe uma alta afinidade com o FcγRI imobilizado. A ligação do anticorpo 9D4 anti-IFNAR1 com FcγRI é específica, já que o ensaio que corre similar com ovalbumina exibe afinidade muito pequena com o receptor imobilizado. Os anticorpos modificados anti-IFNAR1 9D4-TM e 9D4-DM exibem uma menor afinidade do receptor FcγRI imobilizado comparado ao anticorpo 9D4 anti- IFNAR1 não modificado.

[00429] Conclusões: As menores afinidades resultantes com FcγRI exibidas pelos anticorpos modificados anti-IFNAR1 9D4-TM e 9D4-DM sugerem que estes anticorpos teriam uma menor capacidade de ativar ADCC *in vivo*.

6.27 Exemplo 27: receptores Fc exibem menores afinidades de ligação com os anticorpos anti-IFNAR1 modificados.

[00430] Propósito: Avaliar as afinidades de ligação relativas de vários receptores Fc com os anticorpos modificados anti-IFNAR1 9D4-DM e 9D4-TM e com o anticorpo anti- IFNAR1 9D4 parental não modificado.

[00431] Métodos: Medições de ressonância de plasma de superfície

[00432] Todos os experimentos foram realizados em um instrumento BIAcore 3000 (BIAcore, Inc., Uppsala, Suécia). Em um experimento típico, uma solução 1μM de FcγRI foi usada para imobilizar qualquer parte de ~ 7.000 RUs - ~ 11.000 RUs de proteína nas superfícies do chip sensor CM5 usando um protocolo de acoplamento de amino padrão (BIAcore, Inc.). Separadamente, uma superfície em branco também foi preparada em cada chip usando o protocolo idêntico, menos a proteína. Esta superfície em branco foi usada como uma célula de referência em todo o experimento, e serviu para corrigir tanto a ligação não específica quanto os artefatos de manutenção. Para os experimentos de ligação teste, os anticorpos foram preparados em tampão

HBS-EP 333nM (BIAcore, Inc., consistindo no seguinte: tampão HEPES 10mM, pH 7,4, NaCl 150mM, EDTA 3mM, e 0,005 % de P20. Entre as injeções de anticorpo, a superfície de FcγRI foi regenerada com uma injeção de 1 minuto de MgCl₂ 3M. As sobrecamadas do sensorgrama foram geradas usando o software BIAevaluation 4.1 (BIAcore, Inc, Uppsala, Suécia).

[00433] Resultados: Os anticorpos anti-IFNAR1 9D4, 9D4-TM e 9D4-DM, foram imobilizados e incubados com FcγRI solúvel. A afinidade de ligação do receptor FcγRI solúvel em cada um dos anticorpos anti-IFNAR1 foi medida em um ensaio BIAcore e os rastreamentos resultantes são representados na figura 27 A, B, C. O FcγRI ligou o anticorpo 9D4 anti-IFNAR1 imobilizado com uma alta afinidade, como são representados na figura 27A. Esta interação foi altamente específica, já que a ovalbumina solúvel não mostra nenhuma ligação com o anticorpo 9D4 anti-IFNAR1 imobilizado. Os anticorpos modificados 9D4-TM e 9D4-DM não se ligam ao FcγRI tão fortemente quanto o anticorpo 9D4 não modificado tipo selvagem. Na figura 27B, o anticorpo 9D4-DM anti-IFNAR1 modificado foi imobilizado e incubado tanto com FcγRI solúvel quanto com ovalbumina. O FcγRI exibiu uma baixa afinidade de ligação com o anticorpo 9D4-DM imobilizado. Esta afinidade de ligação é similar à interação não específica observada com ovalbumina solúvel. Na figura 27C, o anticorpo anti-IFNAR1 9D4-TM modificado foi imobilizado e incubado tanto com FcγRI solúvel quanto com ovalbumina. O FcγRI exibiu uma baixa afinidade de ligação para o anticorpo 9D4-TM imobilizado. Esta afinidade de ligação é similar à interação não específica observada com ovalbumina solúvel.

[00434] Conclusões: As menores afinidades exibidas pelo receptor FcγRI com os anticorpos modificados anti-IFNAR1 9D4-DM e 9D4-TM imobilizados com relação ao anticorpo não modificado 9D4 anti-IFNAR1 sugerem que os anticorpos modificados exibiriam uma menor capacidade de elicitar uma resposta ADCC.

6.28 Exemplo 28: Anticorpos anti-IFNAR bloqueiam gene de indução responsivo a IFN α .

[00435] Propósito: Demonstrar a capacidade de anticorpos anti-IFNAR bloquearem a indução de genes responsivos a IFN α em um modelo de camundongo de SLE.

[00436] Métodos: Camundongos dos procedimentos experimentais descritos no exemplo 13 também forneceram amostras para análise neste exemplo. Após 8 semanas no experimento, os camundongos foram sacrificados e o tecido renal removido. Não mais que 50 mg de tecido foi usado para extração de RNA usando tampão de lise RLT (Qiagen). As amostras foram colocadas em tampão de lise e matriz de lise A (Qbiogene), e processadas por 30 segundos a 4,5m/s usando o instrumento homegeneizador Fastprep24 (Thermo Electron Corporation, Waltham, MA). Para isolar RNA, lisados descongelados de tecido foram primeiro processados usando colunas de centrifugação Qias shredder, a seguir volumes iguais de etanol 70 % foram adicionados aos lisados de tecido e o RNA foi purificado usando estojos de coluna de centrifugação Rneasy mini, de acordo com as instruções do fabricante. O cDNA foi gerado a partir de 3 μ g de RNA usando transcriptase antissentido Superscript III e oligo d(T) da maneira descrita no protocolo do fabricante (Invitrogen, Corp. Carlsbad, CA). As amostras de cDNA foram diluídas em água sem nuclease e armazenadas a -80 °C.

[00437] Níveis de expressão de genes selecionados foram medidos por análise de TaqMan® em PCR em tempo real usando o sistema de PCR em tempo real ABI 7900HT Fast (Applied Biosystems, Foster City, CA). B-actina de gene regulador foi usada para controle endógeno. As misturas de reação tiveram um volume final de 20 μ L consistindo em 1 μ L de cDNA, 2 μ L de oligoiniciadores 20x e sondas (TaqMan® ensaio de expressão de gene, Applied Biosystems) e 18 μ L de mistura mestre de PCR universal TaqMan® Fast diluída. As condições de amplificação foram: 20 segundos a 95 °C, 50

ciclos de 1 segundo a 95 °C e 20 segundos a 60 °C. Os valores CT variam de 0 a 50, com o último número representado nenhuma formação de produto. A quantificação de expressão de gene foi realizada usando o método CT comparativo (Sequence Detector User Bulletin 2; Applied Biosystems) e relatada como a diferença de vezes com relação ao gene regulador.

[00438] Resultados: São apresentados na figura 28 os resultados de uma análise de expressão comparativa no rim de 6 genes induzidos por interferon alfa após 8 semanas em um modelo de camundongo de lúpus acelerado. Os camundongos que expressam ectopicamente interferon alfa foram tratados com IgG ou anticorpos anti-IFNAR de camundongo. Após 8 semanas, os camundongos tratados com IgG controle demonstraram uma alta indução de genes responsivos a IFN α denominados ICAM1, VCAM1, CXCL9, CXCL10 e IFIT1. Os camundongos tratados com anticorpos anti-IFNAR não mostraram indução de genes responsivos a IFN α após 8 semanas.

[00439] Conclusões: No modelo de camundongo com lúpus acelerado, o tratamento com anticorpos anti-IFNAR bloqueia a indução no rim de seis genes (ICAM1, VCAM1, CXCL9, CXCL10 e IFIT1) mediada pela expressão ectopicamente de IFN-alfa comparado aos camundongos controle, da maneira medida por um ensaio Taqman. Estes resultados demonstram que anticorpos anti-IFNAR são capazes de bloquear a sinalização mediada por IFN α em um modelo de camundongo com SLE.

6.29 Exemplo 29: Anticorpos anti-IFNAR inibem o acúmulo de autoanticorpos no soro.

[00440] Propósito: Demonstrar a capacidade de anticorpos anti-IFNAR para inibir o acúmulo de autoanticorpos no soro de camundongos em um modelo de SLE.

[00441] Métodos: Os camundongos dos procedimentos experimentais descritos no exemplo 13 também forneceram amostras para análise neste exemplo. As amostras totais de sangue foram obtidas em intervalos de 1

semana a partir do regime de 2-7 semanas. Níveis séricos de autoanticorpos anti-DNAs foram avaliados por ELISA. Resumidamente, placas de ELISA pré-tratadas com poli (L-lisina) (100 µg/mL) foram revestidas com DNA ativado com timo bovino (5 µg/mL em tampão carbonato-bicarbonato) (SIGMA). Após incubação por toda a noite a 4 °C, as placas foram bloqueadas com PBS/ FCS 10 %. Os soros (diluição 1/200) foram incubados por 30 minutos a temperatura ambiente. IgG ligada foi detectada com anti-camundongo ovelha conjugado com peroxidase IgG (1/4.000) (KPL) adicionada às placas por 30 minutos. A ligação foi medida por adição de substrato TMB (KPL) e solução de parada (KPL), e a OD foi lida a 450 nm. Uma IgG de DNA anti-ds de camundongo padrão em soro foi corrida em diluição seriada (de 625 ng/mL) (Alfa Diagnostic) em cada placa para permitir padronização.

[00442] Resultados: São apresentados na figura 29 os resultados da análise a base de ELISA dos níveis de anticorpos de DNA anti-ds do soro de camundongo durante um tempo de curso de modelo de camundongo com lúpus acelerado. Os camundongos que expressam ectopicamente IFN α foram tratados com anticorpos anti-IFNAR ou anticorpos IgG de camundongo controle durante um regime de 7 semanas. Os camundongos tratados com anticorpos anti-IFNAR não acumulam anticorpos anti-DNAs na mesma taxa ou na mesma extensão dos camundongos tratados com anticorpo IgG controle. Os camundongos infectados com adenovírus controle não desenvolvem anticorpos anti-ds DNA durante o tempo de curso.

[00443] Conclusões: Estes resultados demonstram que anticorpos anti-IFNAR reduziram o acúmulo de anticorpos anti-DNAs em resposta a níveis elevados de IFN alfa.

6.30 Exemplo 30: Anticorpos anti-IFNAR reduzem proteinúria no modelo de camundongo com lúpus acelerado.

[00444] Propósito: Demonstrar a capacidade de anticorpos anti-IFNAR

reduzirem proteinúria estabelecida (ajuste terapêutico) no modelo de camundongo com SLE.

[00445] Métodos: Os camundongos dos procedimentos experimentais descritos no exemplo 13 também forneceram amostras para análise neste exemplo. Entretanto, em uma abordagem terapêutica, os camundongos desenvolveram naturalmente proteinúria como um sintoma de lúpus antes da aplicação dos anticorpos. Especificamente, os camundongos desenvolveram naturalmente uma classificação de proteinúria de 2,0 - 2,5, da maneira descrita previamente. Uma vez o nível limite de proteinúria ultrapassa, um regime de tratamento de doses semi-semanais de PBS, IgG controle ou anticorpos anti-IFNAR foi conduzido por mais 5 semanas. Em intervalos semi- semanais, amostras de urina foram testadas e forneceram uma classificação de proteinúria.

[00446] Resultados: São apresentados na figura 30A os resultados de um estudo terapêutico de anticorpo anti- IFNAR que reduz a classificação de proteinúria de camundongos a partir de modelo com lúpus acelerado. Resumidamente, os camundongos desenvolveram naturalmente proteinúria neste período, o grupo foi fornecido tanto com PBS, IgG controle quanto anticorpos anti-IFNAR como tratamento. Da maneira documentada na figura, a classificação de proteinúria diminuiu apenas para o grupo que recebeu anticorpos anti-IFNAR. O camundongos que recebem PBS ou IgG controle como tratamento continuaram a aumentar a classificação de proteinúria com o tempo. (B) Uma análise da área abaixo da curva para os resultados das cinco semanas determinou que o anticorpo anti-IFNAR do grupo tratado foi diferente dos grupos PBS sozinho ou IgG controle, ambos os quais foram muito similares.

[00447] Conclusões: Estes resultados demonstram que anticorpos anti-IFNAR podem ser usados em um ajuste terapêutico de SLE.

6.31 Exemplo 31: Anticorpos anti-IFNAR reduzem a mortalidade no modelo

de camundongo com lúpus acelerado.

[00448] Propósito: Demonstrar a capacidade de anticorpos anti-IFNAR reduzirem a mortalidade em um ajuste terapêutico do modelo de camundongo com SLE lúpus.

[00449] Métodos: Os camundongos dos procedimentos experimentais descritos no exemplo 30 também forneceram amostras para análise neste exemplo. Em uma abordagem terapêutica, os camundongos desenvolveram naturalmente proteinúria como um sintoma de lúpus antes da aplicação dos anticorpos. Especificamente, os camundongos desenvolveram naturalmente uma classificação de proteinúria de 2,0 - 2,5, da maneira descrita anteriormente. Uma vez que o nível limite de proteinúria ultrapassa, um regime de tratamento de doses semi- semanais de PBS, IgG controle ou anticorpos anti-IFNAR foi conduzido por mais 5 semanas. A mortalidade completa foi monitorada por mais 4 semanas.

[00450] Resultados: São apresentados na figura 31 as taxas de mortalidade de um estudo terapêutico de anticorpos anti-IFNAR em um modelo de lúpus acelerado. Resumidamente, os camundongos desenvolveram naturalmente proteinúria neste período, o grupo forneceu tanto PBS, IgG controle quanto anticorpos anti-IFNAR como tratamento. Os camundongos tratados com anticorpos anti-IFNAR não exibiram nenhuma mortalidade na semana 5, ao passo que camundongos tratados com PBS ou IgG controle exibiram taxas de mortalidade de 87,5 % e 62,5 % respectivamente. Adicionalmente, durante o estudo de nove semanas, animais tratados com anti-IFNAR exibiram uma alta taxa de sobrevivência comparados a animais tratados com PBS ou IgG controle.

[00451] Conclusões: Os resultados neste exemplo demonstram que anticorpos anti-IFNAR podem diminuir a mortalidade associada com lúpus.

6.32 Exemplo 32: Ausência de atividade de ADCC mediada por 9D4-TM.

[00452] Propósito: Para verificar se 9D4-TM é incapaz de induzir a

atividade ADCC, em virtude de sua pequena afinidade de ligação com FcγRI e FcγRIIIA, uma série de experimentos foram conduzidos.

[00453] Métodos: Células alvo 293F foram marcadas com célula de marca DiO (Invitrogen, experimentos I & II) e combinadas com efetores não marcados PBMCs (por 4 horas a 37 °C, na ausência ou presença de 10 µg/mL de 9D4-TM, IgG1 humana isotipo negativo controle R3-47, 9D4- WT ou anticorpo anti-EphA2 usado como um controle positivo. A lise de células alvo foi avaliada medindo coloração positiva dupla DiO /PI⁺ (iodeto de propídio). Razão alvo efetora = 50-1, o percentual de lise foi calculado de acordo com a fórmula: [(percentual de coloração positiva dupla na presença de anticorpos - percentual de coloração positiva dupla em meios sozinhos) / (percentual de coloração positiva dupla na presença de tampão de lise - percentual de coloração positiva dupla em meios sozinhos)]. Cem por cento de lise foi atingido adicionando tampão de lise (Promega).

[00454] Alternativamente, células alvo 293F foram incubadas com células de uma linhagem celular NK transgênica que expressa estavelmente FcγRIIIA (experimento III) por 4 horas a 37 °C, na ausência ou presença de 10 µg/mL de 9D4-TM, IgG1 humana isotipo negativo controle R3-47, 9D4-wt ou anticorpo anti- EphA2 usado como um controle positivo. Razão alvo efetora =4-1 e percentual de lise foi calculado de acordo com a fórmula : 100 x (Experimental – espontâneo efetor – espontâneo alvo) /(máximo alvo – espontâneo alvo).

[00455] Nos experimentos I & II (razão PBMCs-293H = 50-1), o percentual de lise foi calculado de acordo com a fórmula: [(percentual de coloração positiva dupla na presença de anticorpos - percentual de coloração positiva dupla em meios sozinhos) / (percentual de coloração positiva dupla na presença de tampão de lise - percentual de coloração positiva dupla em meios sozinhos)]. No experimento III (Razão de linhagem celular NK transgênica que expressa FcγRIIIA-293H = 4-1), o percentual de lise foi

calculado de acordo com a fórmula : $100 \times (\text{Experimental} - \text{espontâneo efetor} - \text{espontâneo alvo}) / (\text{máximo alvo} - \text{espontâneo alvo})$.

[00456] Resultados: O anticorpo 9D4-TM modificado ou o anticorpo 9D4-WT não modificado não exibiu nenhuma atividade de ADCC detectável em células 293F com relação àquela observada com o anticorpo R3-47 (Tabela 4). Ao contrário, o anticorpo controle positivo, um anticorpo anti-EphA2, causou um aumento de duas vezes na citotoxicidade com relação ao nível inferior. Estes resultados confirma que 9D4-TM não medeia alvos que expressam ADCC em IFNAR1.

Tabela 5: Avaliação da atividade ADCC de anticorpos anti-IFNAR1.

Anticorpos	Exp.I % de lise alvo	Exp.II % de lise alvo	Exp.III % de lise alvo
Controle positivo: Anti-EphA2	33±4	36±1	43,4±0.5
Controle negativo: R3-47	14±1	18±3	18,1±1.1
9D4-WT	14±2	20±2	17,5±1.6
9D-TM	14±2	20±2	Não Realizado

[00457] Conclusões: Estes resultados demonstram que anticorpo anti-IFNAR1 9D4-TM modificado não estimula atividade ADCC detectável direcionada a células alvo que expressam IFNAR1.

6.33 Exemplo 33: Estruturas tridimensionais de região Fc humana compreendendo mutações L234F/L235E/P331S.

[00458] Propósito: Determinar as estruturas tridimensionais da região de Fc de IgG1 humana compreendendo mutações L234F/L235E/P331S (Fc-TM).

Métodos:

[00459] Purificação de Fc-TM: O fragmento Fc/TM humano foi obtido a partir da clivagem enzimática de 9D4-TM. A digestão foi realizada usando ficina imobilizada de acordo com as instruções do fabricante (Pierce). A purificação foi realizada primeiro em colunas de proteína A HiTrap de acordo com as instruções do fabricante (GE Healthcare, Piscataway, NJ). Após

diálise em NaOAc/pH 5,2 50 mM, a solução protéica foi aplicada em uma coluna HiTrap SP HP (GE Healthcare) e coletada no fluxo passante. O fluxo passante foi carregado em uma coluna HiTrap Q (GE Healthcare) e eluído em um gradiente de NaCl para produzir uma preparação homogênea de Fc/TM, da maneira julgada reduzindo e não reduzindo SDS- PAGE. O perfil de Fc-TM SDS-PAGE mostrou a presença de apenas uma banda entre 25 kDa ou 50 kDa em condições de redução e não redução, respectivamente. Esta observação demonstrou claramente a presença de pelo menos um dissulfeto intercadeia ligado nas posições C226 e/ou C229. Consequentemente, resíduos mutados “à jusante” F234 e E235 estavam presentes na cadeia de polipeptídeo compreendendo o cristal.

[00460] Cristalização de Fc-TM: Fc-TM purificado foi concentrado em cerca de 5 mg/mL usando um concentrador Centricon (Millipore, Billerica MA, 30 corte KDa). As condições de cristalização foram identificadas usando as seleções comerciais de pesquisa Hampton (Hampton Research, Aliso Viejo, CA), Emerald BioSystems (Emerald BioSystems, Inc., Bainbridge Island, WA) e dimensões moleculares (Molecular Dimensions Inc., Apopka, FL). Cada seleção produziu diversas condições de cristalização potencialmente usáveis. Mediante otimização, os cristais de qualidade de difração foram obtidos de acetato de zinco 0,2 M, malato de imidazol 0,1 M, pH 8,0, PEG 3350 5 %, glicerol 5 % em concentração protéica de 2,0 mg/mL. Nestas condições, os cristais bem moldados com três dimensões que variam de 0,1 a 0,2 mm cresceram em 2- 3 dias.

[00461] Coleção de dados: Os dados de difração foram coletados de um cristal único no Center for Advanced Research in Biotechnology (CARB, University of Maryland Biotechnology Institute, Rockville, MD) usando um gerador de anodo de rotação Rigaku MicroMax™ 007 com uma placa de formação de imagem R-Axis IV++ (Rigaku/MSB, The Woodlands, TX). Antes do resfriamento, o cristal foi mantido por alguns minutos em sua

solução de crescimento suplementada com 20 % de glicerol. O cristal foi então resfriado a -168,15 °C (105 kelvins) com um resfriador criogênico X-stream 2000 (Rigaku/MSC). A difração de até 2,3 Å foi atingida após um ciclo de anelamento da maneira descrita (Oganesyan et al., 2007). Os dados de difração compreendendo 234 imagens foram coletados usando uma faixa de oscilação de 0,5 °, uma distância do cristal/detector de 200 mm e um tempo de exposição de 600 s. os dados foram integrados e escalados usando o software HKL 2000 (Otwinowski & Minor, 1997).

[00462] Determinação de estrutura: O cálculo da substituição molecular, refinamento e densidade eletrônica foi realizado usando o programa adequado CCP4 (Projeto computacional colaborativo). O cristal ortorrômbico centrado na face C teve um conteúdo de solvente de 58 % e V_M de 2,9, assumindo um polipeptídeo Fc na unidade assimétrica da célula. A estrutura de Fc/TM foi determinada por substituição molecular e refinada em resolução de 2,3Å. A estrutura Fc humana que corresponde ao número PDB ID 2DTQ (Matsumiya et al., (2007) J. Mol. Biol. 368:767-779) foi usada como o modelo em decorrência de sua alta resolução e estado não ligado. Em particular, os domínios C_{H2} e C_{H3} foram considerados separadamente para minimizar qualquer tendência em termos das conformações relativas de domínios. Os dados até 3,0 Å foram usados para o problema de substituição molecular usando software Phaser (McCoy et al., (2005) Acta Cryst. D61, 458-464). Após o refinamento das soluções, o ganho final LL e classificação Z foram 1192 e 31, respectivamente. A densidade eletrônica pesada calculada com FWT/PHWT em 3,0 Å mostrou uma boa combinação com o modelo, com a exceção de algumas alças nos domínios C_{H2} e C_{H3}. A diferença da densidade eletrônica positiva forte calculada com DELFWT/PHDELWT foi visível no lugar esperado dos resíduos de carboidrato ligado em N anexado ao N297. Não existe nenhuma densidade presente para qualquer resíduo de dobradiça precedente naquela posição 236, um resultado presumidamente

atribuível a alta flexibilidade desta região. Nota-se que apenas duas estruturas Fc humana não ligadas previamente descritas podem revelar as posições 234 e 235 (2DTQ/2DTS; Matsumiya et al, (2007) *J. Mol. Biol.* 368:767-779). Ao contrário, os resíduos nas posições 446 e 447 podem não ser visualizados. O resíduo na posição 331 foi modelado primeiro como uma alanina.

[00463] Diversos ciclos alternativos de refinamento com “Refmac 5” (Murshudov et al, (1997) *Acta Cryst.* D53, 240-255) e ligação manual usando o software gráfico "O" (Jones et al, (1991) *Acta Cryst.* A47, 110-119) convergiram com R_{fator} de 21,6 e R_{fator} livre de 27,5 para dados de resolução de até 2,3 Å. Após o primeiro ciclo de refinamento, a densidade eletrônica permitiu a localização dos carboidratos, bem como a substituição por um resíduo de serina na posição 331. Nos últimos estágios de refinamento, o modelo foi analisado usando o programa de determinação de movimento de TLS (TLSMD) que corre no seu servidores da rede (Painter et al. (2006). *J. Appl. Cryst.* 39, 109-111; Painter et al. (2006) *Acta Cryst.* D62, 439-450). O refinamento adicional foi então realizado com Refmac 5 em TLS e contido no modo de refinamento usando cinco grupos distintos de resíduos (236-324, 325-341, 342-358, 359-403 e 404-445). Os íons de zinco presentes no tampão de cristalização foram detectados na densidade eletrônica e modelados como tal, quando a esfera de coordenação e distância permitiram. Em particular, observou-se que um íon de zinco é coordenado por H310 e H435. Um outro foi coordenado por H285 e H268 do polipeptídeo de simetria relacionada. Dois outros foram ligados a E318 e E345. Em todos os casos, moléculas de água completaram a coordenação tetraédrica esperada da esfera dos íons de zinco. A fração de carboidrato foi modelada de acordo com sua densidade eletrônica e o modelo final continha nove resíduos de açúcar, essencialmente da maneira descrita por pelos inventores no contexto de uma outra estrutura de Fc humana (Oganesyan et al, (2007) *Molecular Immunology*, December 11, 2007, para impressão). O modelo final continha 75 moléculas de solvente.

Os dados cristalográficos e estatísticas de refinamento são fornecidos na tabela 6.

Tabela 6. Coleção de raios-X e estatísticas de refinamento de modelo.	
Comprimento de onda, Å	1,54
Resolução, Å	36,83 – 2,30 (2,38-2,30) ^a
Grupo Espacial	C222 ₁
Parâmetros celulares, Å	50,18, 147,30, 75,47
Reflexões totais	54,409
Reflexões únicas	12,617
Redundância média	4,31 (2,72) ^a
Integridade, %	98,3 (90,0) ^a
R _{mescla}	0,062 (0,300) ^a
I/σ(I)	13,0 (3,3) ^a
Fator R/Fator R livre	0,216/0,275
Ligações RMSD, Å	0,012
Ângulos RMSD, °	1,48
Resíduos nas regiões mais favoritas do espaço {φ,ψ},	%89,9
Resíduos em regiões permitidas adicionalmente do espaço {φ,ψ}, %	10,1
Número de átomos protéicos	1.678
Número de átomos não protéicos	189
Fator B (Modelo/Wilson), Å ²	43/40

^a Valores nos parênteses correspondem ao cartucho de resolução mais alta

[00464] Resultados: Fc-TM cristalizou em um grupo espacial C222₁ com um polipeptídeo na unidade assimétrica (Figura 32). O cristal foi difratado em resolução de 2,3 Å e exibiu uma mosaicidade média relativamente alta de 1,26 °. Esta alta mosaicidade pareceu ser uma propriedade tanto de cristais resfriados e não resfriados. Todos os resíduos nas posições 236 a 445 podem ser investigados na densidade eletrônica e nenhuma densidade eletrônica foi observada para resíduos de dobradiça antes da posição 236, tornando assim as mutações L234F e L235E invisíveis. A densidade eletrônica na posição 331 correspondeu à serina.

[00465] As coordenadas atômicas e fatores de estruturas experimentais de Fc-TM foram depositadas no Protein Data Bank com o número de acesso 3C2S.

[00466] A estrutura tridimensional completa de Fc-TM foi muito similar às estruturas previamente relatadas de regiões Fc humanas não ligadas (Deisenhofer, (1981). Biochemistry, 20: 2361-2370; Krapp et al, (2003). J. Mol. Biol. 325, 979-989; Matsumiya et al, (2007). J. Mol. Biol.

368:767-779; Oganessian et al, (2007) *Molecular Immunology*, 11 de dezembro de 2007, para impressão). Mais precisamente, as estruturas Fc humanas que correspondem aos números PDB ID 1H3W (Krapp et al., (2003). *J. Mol. Biol.* 325:979-989) e 2QL1 (Oganessian et al., (2007) *Molecular Immunology*, 11 de dezembro de 2007, para impressão) foram próximas à Fc-TM em termos de parâmetros celulares, conteúdo de unidade assimétrica, grupo espacial e embalagem. Quando considerado individualmente, domínios Fc-TM C_{H2} e C_{H3} mostraram melhor conservação e rigidez estrutural quando comparados com outras estruturas Fc humanas não ligadas, não mutadas. Por exemplo, rms coordena substituições de átomos de Ca que foram 0,6 e 0,4 Å para os domínios C_{H2} e C_{H3}, respectivamente, durante a sobreposição de Fc-TM com cadeia A de PDB ID número 2DTQ (Matsumiya et al., (2007). *J. Mol. Biol.* 368, 767-779).

[00467] A tabela 7 a seguir fornece as coordenadas de estrutura atômica de Fc-TM. As abreviações a seguir são usadas na tabela 7

[00468] “Tipo de átomo” refere-se ao elemento cujas coordenadas são fornecidas. A primeira letra na coluna define o elemento.

[00469] “A. A.” refere-se ao aminoácido.

[00470] “X, Y e Z” fornecem as coordenadas cartesianas do elemento.

[00471] “B” é um fator térmico que mede o movimento do átomo ao redor de seu centro atômico.

[00472] “OCC” refere-se a ocupação, e representa o percentual de tempo que o tipo de átomo ocupa na coordenada particular. Os valores OCC variam de 0 a 1, com 1 sendo 100 %.

Tabela 7.: As coordenadas de estrutura atômica de Fc-TM

```
REMARK      3
REMARK      3  REFINEMENT.
REMARK      3    PROGRAM      : REFMAC 5.2.0019
REMARK      3    AUTHORS       : MURSHUDOV, VAGIN, DODSON
REMARK      3
REMARK      3    REFINEMENT TARGET : MAXIMUM LIKELIHOOD
REMARK      3
```

```

REMARK 3 DATA USED IN REFINEMENT.
REMARK 3 RESOLUTION RANGE HIGH (ANGSTROMS) : 2.30
REMARK 3 RESOLUTION RANGE LOW (ANGSTROMS) : 30.00
REMARK 3 DATA CUTOFF (SIGMA(F)) : NONE
REMARK 3 COMPLETENESS FOR RANGE (%) : 98.43
REMARK 3 NUMBER OF REFLECTIONS : 11994
REMARK 3
REMARK 3 FIT TO DATA USED IN REFINEMENT.
REMARK 3 CROSS-VALIDATION METHOD : THROUGHOUT
REMARK 3 FREE R VALUE TEST SET SELECTION : RANDOM
REMARK 3 R VALUE (WORKING + TEST SET) : 0.21928
REMARK 3 R VALUE (WORKING SET) : 0.21637
REMARK 3 FREE R VALUE : 0.27541
REMARK 3 FREE R VALUE TEST SET SIZE (%) : 4.9
REMARK 3 FREE R VALUE TEST SET COUNT : 619
REMARK 3
REMARK 3 FIT IN THE HIGHEST RESOLUTION BIN.
REMARK 3 TOTAL NUMBER OF BINS USED : 20
REMARK 3 BIN RESOLUTION RANGE HIGH : 2.300
REMARK 3 BIN RESOLUTION RANGE LOW : 2.360
REMARK 3 REFLECTION IN BIN (WORKING SET) : 794
REMARK 3 BIN COMPLETENESS (WORKING+TEST) (%) : 89.74
REMARK 3 BIN R VALUE (WORKING SET) : 0.242
REMARK 3 BIN FREE R VALUE SET COUNT : 46
REMARK 3 BIN FREE R VALUE : 0.342
REMARK 3
REMARK 3 NUMBER OF NON-HYDROGEN ATOMS USED IN REFINEMENT.
REMARK 3 ALL ATOMS : 1867
REMARK 3
REMARK 3 B VALUES.
REMARK 3 FROM WILSON PLOT (A**2) : NULL
REMARK 3 MEAN B VALUE (OVERALL, A**2) : 43.320
REMARK 3 OVERALL ANISOTROPIC B VALUE.
REMARK 3 B11 (A**2) : -3.83
REMARK 3 B22 (A**2) : 0.96
REMARK 3 B33 (A**2) : 2.88
REMARK 3 B12 (A**2) : 0.00
REMARK 3 B13 (A**2) : 0.00
REMARK 3 B23 (A**2) : 0.00
REMARK 3
REMARK 3 ESTIMATED OVERALL COORDINATE ERROR.
REMARK 3 ESU BASED ON R VALUE (A) : 0.327
REMARK 3 ESU BASED ON FREE R VALUE (A) : 0.256
REMARK 3 ESU BASED ON MAXIMUM LIKELIHOOD (A) : 0.194
REMARK 3 ESU FOR B VALUES BASED ON MAXIMUM LIKELIHOOD (A**2) : 14.024
REMARK 3
REMARK 3 CORRELATION COEFFICIENTS.
REMARK 3 CORRELATION COEFFICIENT FO-FC : 0.941
REMARK 3 CORRELATION COEFFICIENT FO-FC FREE : 0.898
REMARK 3
REMARK 3 RMS DEVIATIONS FROM IDEAL VALUES COUNT RMS WEIGHT
REMARK 3 BOND LENGTHS REFINED ATOMS (A) : 1845 ; 0.012 ; 0.022
REMARK 3 BOND ANGLES REFINED ATOMS (DEGREES) : 2527 ; 1.482 ; 2.032
REMARK 3 TORSION ANGLES, PERIOD 1 (DEGREES) : 209 ; 6.172 ; 5.000
REMARK 3 TORSION ANGLES, PERIOD 2 (DEGREES) : 76 ; 33.844 ; 25.000
REMARK 3 TORSION ANGLES, PERIOD 3 (DEGREES) : 295 ; 17.124 ; 15.000
REMARK 3 TORSION ANGLES, PERIOD 4 (DEGREES) : 6 ; 20.037 ; 15.000
REMARK 3 CHIRAL-CENTER RESTRAINTS (A**3) : 302 ; 0.085 ; 0.200
REMARK 3 GENERAL PLANES REFINED ATOMS (A) : 1323 ; 0.005 ; 0.020
REMARK 3 NON-BONDED CONTACTS REFINED ATOMS (A) : 714 ; 0.202 ; 0.200
REMARK 3 NON-BONDED TORSION REFINED ATOMS (A) : 1211 ; 0.311 ; 0.200
REMARK 3 H-BOND (X...Y) REFINED ATOMS (A) : 85 ; 0.168 ; 0.200
REMARK 3 POTENTIAL METAL-ION REFINED ATOMS (A) : 1 ; 0.013 ; 0.200

```

```

REMARK 3 SYMMETRY VDW REFINED ATOMS (A): 45 ; 0.267 ; 0.200
REMARK 3 SYMMETRY H-BOND REFINED ATOMS (A): 10 ; 0.166 ; 0.200
REMARK 3
REMARK 3 ISOTROPIC THERMAL FACTOR RESTRAINTS. COUNT RMS
WEIGHT
REMARK 3 MAIN-CHAIN BOND REFINED ATOMS (A**2): 1090 ; 0.502 ; 1.500
REMARK 3 MAIN-CHAIN ANGLE REFINED ATOMS (A**2): 1737 ; 0.773 ; 2.000
REMARK 3 SIDE-CHAIN BOND REFINED ATOMS (A**2): 850 ; 1.312 ; 3.000
REMARK 3 SIDE-CHAIN ANGLE REFINED ATOMS (A**2): 790 ; 2.117 ; 4.500
REMARK 3
REMARK 3 NCS RESTRAINTS STATISTICS
REMARK 3 NUMBER OF NCS GROUPS : NULL
REMARK 3
REMARK 3
REMARK 3 TLS DETAILS
REMARK 3 NUMBER OF TLS GROUPS : 5
REMARK 3 ATOM RECORD CONTAINS RESIDUAL B FACTORS ONLY
REMARK 3
REMARK 3 TLS GROUP : 1
REMARK 3 NUMBER OF COMPONENTS GROUP : 1
REMARK 3 COMPONENTS C SSSEQI TO C SSSEQI
REMARK 3 RESIDUE RANGE : A 236 A 324
REMARK 3 ORIGIN FOR THE GROUP (A): 8.3389 24.1913 -4.5478
REMARK 3 T TENSOR
REMARK 3 T11: 0.0215 T22: 0.0920
REMARK 3 T33: 0.3541 T12: 0.0433
REMARK 3 T13: -0.0938 T23: -0.3463
REMARK 3 L TENSOR
REMARK 3 L11: 5.5174 L22: 6.9851
REMARK 3 L33: 1.3110 L12: 0.6985
REMARK 3 L13: -0.3877 L23: 1.4474
REMARK 3 S TENSOR
REMARK 3 S11: 0.0024 S12: -0.9714 S13: 1.6061
REMARK 3 S21: 0.4006 S22: 0.0112 S23: -0.5043
REMARK 3 S31: -0.2230 S32: -0.0083 S33: -0.0136
REMARK 3
REMARK 3 TLS GROUP : 2
REMARK 3 NUMBER OF COMPONENTS GROUP : 1
REMARK 3 COMPONENTS C SSSEQI TO C SSSEQI
REMARK 3 RESIDUE RANGE : A 325 A 341
REMARK 3 ORIGIN FOR THE GROUP (A): 6.2355 28.7737 -13.4151
REMARK 3 T TENSOR
REMARK 3 T11: 0.4194 T22: 0.0438
REMARK 3 T33: 0.6367 T12: 0.0309
REMARK 3 T13: -0.1209 T23: -0.1743
REMARK 3 L TENSOR
REMARK 3 L11: 2.0696 L22: 7.3867
REMARK 3 L33: 3.9900 L12: 0.5828
REMARK 3 L13: -0.3193 L23: 2.0049
REMARK 3 S TENSOR
REMARK 3 S11: -0.3128 S12: -0.3347 S13: 1.6116
REMARK 3 S21: -0.6048 S22: 0.4400 S23: 0.4114
REMARK 3 S31: -1.6055 S32: 0.0271 S33: -0.1271
REMARK 3
REMARK 3 TLS GROUP : 3
REMARK 3 NUMBER OF COMPONENTS GROUP : 1
REMARK 3 COMPONENTS C SSSEQI TO C SSSEQI
REMARK 3 RESIDUE RANGE : A 342 A 358
REMARK 3 ORIGIN FOR THE GROUP (A): 19.6741 -9.9102 -17.8082
REMARK 3 T TENSOR
REMARK 3 T11: 0.0147 T22: -0.0558
REMARK 3 T33: 0.2412 T12: 0.0130
REMARK 3 T13: -0.0465 T23: 0.0419

```

```

REMARK 3 L TENSOR
REMARK 3 L11: 5.9397 L22: 3.4770
REMARK 3 L33: 1.3027 L12: -0.2675
REMARK 3 L13: -2.7731 L23: 0.2922
REMARK 3 S TENSOR
REMARK 3 S11: 0.1902 S12: 0.1053 S13: -2.1005
REMARK 3 S21: -0.2927 S22: -0.5125 S23: -0.3505
REMARK 3 S31: 0.2359 S32: -0.0277 S33: 0.3223
REMARK 3
REMARK 3 TLS GROUP : 4
REMARK 3 NUMBER OF COMPONENTS GROUP : 1
REMARK 3 COMPONENTS C SSSEQI TO C SSSEQI
REMARK 3 RESIDUE RANGE : A 359 A 403
REMARK 3 ORIGIN FOR THE GROUP (A): 21.2651 -3.5914 -12.2859
REMARK 3 T TENSOR
REMARK 3 T11: -0.1689 T22: -0.0639
REMARK 3 T33: -0.1638 T12: 0.0043
REMARK 3 T13: 0.0241 T23: 0.0801
REMARK 3 L TENSOR
REMARK 3 L11: 12.4510 L22: 2.7911
REMARK 3 L33: 2.9332 L12: 0.0470
REMARK 3 L13: 0.1119 L23: -0.2768
REMARK 3 S TENSOR
REMARK 3 S11: -0.1346 S12: -1.2217 S13: -1.1281
REMARK 3 S21: 0.1580 S22: 0.0409 S23: -0.1830
REMARK 3 S31: 0.0059 S32: 0.2154 S33: 0.0937
REMARK 3
REMARK 3 TLS GROUP : 5
REMARK 3 NUMBER OF COMPONENTS GROUP : 1
REMARK 3 COMPONENTS C SSSEQI TO C SSSEQI
REMARK 3 RESIDUE RANGE : A 404 A 445
REMARK 3 ORIGIN FOR THE GROUP (A): 19.4718 -9.7512 -9.1313
REMARK 3 T TENSOR
REMARK 3 T11: -0.0158 T22: 0.1994
REMARK 3 T33: 0.1938 T12: 0.0293
REMARK 3 T13: 0.0582 T23: 0.3819
REMARK 3 L TENSOR
REMARK 3 L11: 13.1107 L22: 0.0678
REMARK 3 L33: 1.6932 L12: 0.9209
REMARK 3 L13: -1.5605 L23: -0.0412
REMARK 3 S TENSOR
REMARK 3 S11: -0.1532 S12: -2.3239 S13: -2.6014
REMARK 3 S21: -0.0410 S22: -0.1484 S23: -0.1293
REMARK 3 S31: 0.3788 S32: 0.2592 S33: 0.3017
REMARK 3
REMARK 3 BULK SOLVENT MODELLING.
REMARK 3 METHOD USED : MASK
REMARK 3 PARAMETERS FOR MASK CALCULATION
REMARK 3 VDW PROBE RADIUS : 1.20
REMARK 3 ION PROBE RADIUS : 0.80
REMARK 3 SHRINKAGE RADIUS : 0.80
REMARK 3
REMARK 3 OTHER REFINEMENT REMARKS: NULL
REMARK 3
SSBOND 1 CYS A 321 CYS A 261
SSBOND 2 CYS A 425 CYS A 367
LINK C1 NAG C 1 1.439 ND2 ASN A 297
NAG-ASN
CISPEP 1 TYR A 373 PRO A 374 0.00
LINK NAG C 1 NAG C 2
BETA1-4
LINK NAG C 2 BMA C 3

```

```

BETA1-4
LINK          BMA C    3          MAN C    4
ALPHA1-3
LINK          MAN C    4          NAG C    5
BETA1-2
LINK          BMA C    3          MAN C    7
ALPHA1-6
LINK          MAN C    7          NAG C    8
BETA1-2
LINK          NAG C    8          GAL C    9
BETA1-4
LINK          NAG C    1          FUC C   11
ALPHA1-6
MODRES        NAG C    1  NAG-b-D
RENAME
MODRES        NAG C    2  NAG-b-D
RENAME
MODRES        MAN C    4  MAN-a-D
RENAME
MODRES        NAG C    5  NAG-b-D
RENAME
MODRES        MAN C    7  MAN-a-D
RENAME
MODRES        NAG C    8  NAG-b-D
RENAME
MODRES        GAL C    9  GAL-b-D
RENAME
MODRES        FUC C   11  FUC-a-L
RENAME
CRYST1  50.178  147.301  75.473  90.00  90.00  90.00 C 2 2 21
SCALE1    0.019929  0.000000  0.000000  0.000000
SCALE2    0.000000  0.006789  0.000000  0.000000
SCALE3    0.000000  0.000000  0.013250  0.000000
ATOM      1  N  GLY A 236  18.122  39.286 -14.907  1.00 50.67
N
ANISOU    1  N  GLY A 236  6366  6478  6407  30  -8  -27
N
ATOM      2  CA GLY A 236  17.938  40.336 -13.862  1.00 50.37
C
ANISOU    2  CA GLY A 236  6370  6447  6319  23  15  16
C
ATOM      3  C  GLY A 236  17.092  39.872 -12.683  1.00 50.35
C
ANISOU    3  C  GLY A 236  6337  6451  6340  0  7  36
C
ATOM      4  O  GLY A 236  17.603  39.755 -11.559  1.00 50.77
O
ANISOU    4  O  GLY A 236  6425  6518  6346 -19 -27  64
O
ATOM      5  N  GLY A 237  15.805  39.607 -12.942  1.00 49.94
N
ANISOU    5  N  GLY A 237  6294  6360  6321 -7  22  32
N
ATOM      6  CA GLY A 237  14.821  39.264 -11.889  1.00 48.94
C
ANISOU    6  CA GLY A 237  6194  6188  6211  20  42  32
C
ATOM      7  C  GLY A 237  15.074  37.906 -11.254  1.00 48.37
C
ANISOU    7  C  GLY A 237  6128  6107  6142  17  76  5
C
ATOM      8  O  GLY A 237  16.078  37.256 -11.568  1.00 48.88
O

```

ANISOU O	8	O	GLY A 237	6209	6156	6205	47	90	-11
ATOM N	9	N	PRO A 238	14.186	37.462	-10.336	1.00	47.63	
ANISOU N	9	N	PRO A 238	6027	5985	6082	15	57	-17
ATOM C	10	CA	PRO A 238	14.432	36.144	-9.746	1.00	46.76	
ANISOU C	10	CA	PRO A 238	5926	5876	5964	31	25	-22
ATOM C	11	CB	PRO A 238	13.327	36.008	-8.686	1.00	46.65	
ANISOU C	11	CB	PRO A 238	5911	5868	5945	11	-23	3
ATOM C	12	CG	PRO A 238	12.878	37.422	-8.404	1.00	46.85	
ANISOU C	12	CG	PRO A 238	5930	5861	6007	30	38	0
ATOM C	13	CD	PRO A 238	12.974	38.083	-9.771	1.00	47.56	
ANISOU C	13	CD	PRO A 238	6038	5947	6084	21	63	-44
ATOM C	14	C	PRO A 238	14.308	35.056	-10.800	1.00	46.45	
ANISOU C	14	C	PRO A 238	5899	5823	5925	31	3	-16
ATOM O	15	O	PRO A 238	13.803	35.311	-11.898	1.00	46.74	
ANISOU O	15	O	PRO A 238	5942	5884	5930	50	-21	-25
ATOM N	16	N	SER A 239	14.806	33.868	-10.471	1.00	46.09	
ANISOU N	16	N	SER A 239	5876	5767	5868	24	12	-30
ATOM C	17	CA	SER A 239	14.710	32.689	-11.333	1.00	45.35	
ANISOU C	17	CA	SER A 239	5783	5670	5778	-8	43	-6
ATOM C	18	CB	SER A 239	16.093	32.273	-11.833	1.00	45.44	
ANISOU C	18	CB	SER A 239	5822	5669	5773	12	73	-51
ATOM O	19	OG	SER A 239	16.516	33.126	-12.892	1.00	46.53	
ANISOU O	19	OG	SER A 239	6055	5754	5871	22	122	1
ATOM C	20	C	SER A 239	14.112	31.580	-10.496	1.00	44.68	
ANISOU C	20	C	SER A 239	5695	5601	5679	8	13	0
ATOM O	21	O	SER A 239	14.492	31.423	-9.338	1.00	44.81	
ANISOU O	21	O	SER A 239	5689	5655	5681	51	18	72
ATOM N	22	N	VAL A 240	13.161	30.845	-11.077	1.00	43.99	
ANISOU N	22	N	VAL A 240	5587	5491	5634	-1	45	2
ATOM C	23	CA	VAL A 240	12.474	29.760	-10.386	1.00	43.00	
ANISOU C	23	CA	VAL A 240	5453	5401	5482	-1	37	-22
ATOM	24	CB	VAL A 240	10.932	29.909	-10.474	1.00	43.13	

C										
ANISOU	24	CB	VAL	A	240	5481	5408	5496	8	59 -20
C										
ATOM	25	CG1	VAL	A	240	10.217	28.789	-9.696	1.00	42.84
C										
ANISOU	25	CG1	VAL	A	240	5433	5309	5533	54	-34 -15
C										
ATOM	26	CG2	VAL	A	240	10.519	31.239	-9.927	1.00	43.46
C										
ANISOU	26	CG2	VAL	A	240	5572	5367	5572	-2	12 0
C										
ATOM	27	C	VAL	A	240	12.868	28.427	-10.986	1.00	42.45
C										
ANISOU	27	C	VAL	A	240	5377	5353	5396	-10	11 -1
C										
ATOM	28	O	VAL	A	240	12.936	28.272	-12.207	1.00	42.69
O										
ANISOU	28	O	VAL	A	240	5376	5426	5419	-44	62 -24
O										
ATOM	29	N	PHE	A	241	13.128	27.468	-10.108	1.00	41.87
N										
ANISOU	29	N	PHE	A	241	5300	5311	5296	-10	1 -22
N										
ATOM	30	CA	PHE	A	241	13.405	26.097	-10.498	1.00	40.91
C										
ANISOU	30	CA	PHE	A	241	5188	5170	5185	-31	-20 -52
C										
ATOM	31	CB	PHE	A	241	14.884	25.757	-10.294	1.00	41.14
C										
ANISOU	31	CB	PHE	A	241	5199	5228	5204	-15	-44 -34
C										
ATOM	32	CG	PHE	A	241	15.799	26.534	-11.203	1.00	41.60
C										
ANISOU	32	CG	PHE	A	241	5289	5240	5274	-81	3 -5
C										
ATOM	33	CD1	PHE	A	241	16.448	27.682	-10.744	1.00	41.55
C										
ANISOU	33	CD1	PHE	A	241	5248	5213	5326	-52	1 -15
C										
ATOM	34	CE1	PHE	A	241	17.271	28.424	-11.601	1.00	40.85
C										
ANISOU	34	CE1	PHE	A	241	5052	5159	5308	-21	-14 -18
C										
ATOM	35	CZ	PHE	A	241	17.448	28.019	-12.917	1.00	40.46
C										
ANISOU	35	CZ	PHE	A	241	5124	5094	5154	-75	22 -43
C										
ATOM	36	CE2	PHE	A	241	16.792	26.872	-13.391	1.00	42.17
C										
ANISOU	36	CE2	PHE	A	241	5259	5419	5342	51	84 -27
C										
ATOM	37	CD2	PHE	A	241	15.978	26.143	-12.537	1.00	41.34
C										
ANISOU	37	CD2	PHE	A	241	5253	5148	5303	-103	60 -23
C										
ATOM	38	C	PHE	A	241	12.493	25.189	-9.716	1.00	40.07
C										
ANISOU	38	C	PHE	A	241	5090	5072	5061	-21	-17 -53
C										
ATOM	39	O	PHE	A	241	12.175	25.475	-8.572	1.00	40.18
O										
ANISOU	39	O	PHE	A	241	5110	5045	5111	-37	-101 -113
O										

ATOM N	40	N	LEU A 242	12.044	24.109	-10.356	1.00	39.75	
ANISOU N	40	N	LEU A 242	5035	5028	5040	6	13	-59
ATOM C	41	CA	LEU A 242	11.017	23.235	-9.794	1.00	38.92	
ANISOU C	41	CA	LEU A 242	4944	4899	4942	2	21	-61
ATOM C	42	CB	LEU A 242	9.663	23.546	-10.438	1.00	38.70	
ANISOU C	42	CB	LEU A 242	4941	4864	4898	-18	4	-84
ATOM C	43	CG	LEU A 242	8.396	22.862	-9.936	1.00	38.46	
ANISOU C	43	CG	LEU A 242	4855	4805	4951	71	-15	-74
ATOM C	44	CD1	LEU A 242	8.085	23.234	-8.504	1.00	37.91	
ANISOU C	44	CD1	LEU A 242	4727	4827	4849	50	-49	-62
ATOM C	45	CD2	LEU A 242	7.275	23.271	-10.825	1.00	38.22	
ANISOU C	45	CD2	LEU A 242	4846	4868	4806	137	-149	-134
ATOM C	46	C	LEU A 242	11.409	21.793	-10.021	1.00	39.20	
ANISOU C	46	C	LEU A 242	4972	4961	4959	-11	13	-31
ATOM O	47	O	LEU A 242	11.605	21.361	-11.149	1.00	39.40	
ANISOU O	47	O	LEU A 242	5021	4924	5024	-24	63	-55
ATOM N	48	N	PHE A 243	11.510	21.044	-8.936	1.00	39.65	
ANISOU N	48	N	PHE A 243	4992	5044	5028	12	-12	-43
ATOM C	49	CA	PHE A 243	12.230	19.792	-8.968	1.00	39.97	
ANISOU C	49	CA	PHE A 243	5044	5044	5099	-24	-2	-51
ATOM C	50	CB	PHE A 243	13.404	19.823	-7.970	1.00	40.13	
ANISOU C	50	CB	PHE A 243	5022	5064	5162	-8	40	-26
ATOM C	51	CG	PHE A 243	14.424	20.876	-8.279	1.00	41.34	
ANISOU C	51	CG	PHE A 243	5170	5154	5381	-72	6	-95
ATOM C	52	CD1	PHE A 243	14.319	22.156	-7.719	1.00	42.25	
ANISOU C	52	CD1	PHE A 243	5360	5249	5441	34	-36	-90
ATOM C	53	CE1	PHE A 243	15.269	23.146	-8.016	1.00	41.11	
ANISOU C	53	CE1	PHE A 243	5158	5065	5394	-69	72	-88
ATOM C	54	CZ	PHE A 243	16.321	22.865	-8.888	1.00	41.69	
ANISOU C	54	CZ	PHE A 243	5217	5205	5418	-88	-1	-97
ATOM C	55	CE2	PHE A 243	16.435	21.587	-9.458	1.00	42.21	
ANISOU	55	CE2	PHE A 243	5279	5206	5551	-93	135	-80

C										
ATOM	56	CD2	PHE	A	243	15.487	20.603	-9.154	1.00	42.21
C										
ANISOU	56	CD2	PHE	A	243	5308	5220	5508	-31	66 -136
C										
ATOM	57	C	PHE	A	243	11.275	18.673	-8.648	1.00	40.06
C										
ANISOU	57	C	PHE	A	243	5009	5104	5107	-37	-10 -64
C										
ATOM	58	O	PHE	A	243	10.462	18.809	-7.729	1.00	39.94
O										
ANISOU	58	O	PHE	A	243	4936	5131	5107	-18	-13 -92
O										
ATOM	59	N	PRO	A	244	11.369	17.561	-9.405	1.00	40.05
N										
ANISOU	59	N	PRO	A	244	5036	5044	5138	-26	19 -78
N										
ATOM	60	CA	PRO	A	244	10.474	16.436	-9.204	1.00	39.94
C										
ANISOU	60	CA	PRO	A	244	5074	5000	5099	-2	16 -66
C										
ATOM	61	CB	PRO	A	244	10.819	15.510	-10.373	1.00	40.24
C										
ANISOU	61	CB	PRO	A	244	5091	5057	5139	-22	19 -62
C										
ATOM	62	CG	PRO	A	244	12.252	15.834	-10.700	1.00	40.53
C										
ANISOU	62	CG	PRO	A	244	5047	5064	5287	-14	-26 -70
C										
ATOM	63	CD	PRO	A	244	12.334	17.315	-10.494	1.00	40.31
C										
ANISOU	63	CD	PRO	A	244	5051	5061	5203	-28	-12 -57
C										
ATOM	64	C	PRO	A	244	10.810	15.760	-7.881	1.00	39.34
C										
ANISOU	64	C	PRO	A	244	5004	4929	5012	10	-25 -82
C										
ATOM	65	O	PRO	A	244	11.848	16.049	-7.315	1.00	39.44
O										
ANISOU	65	O	PRO	A	244	5071	4916	4996	11	-14 -147
O										
ATOM	66	N	PRO	A	245	9.943	14.861	-7.397	1.00	38.79
N										
ANISOU	66	N	PRO	A	245	4967	4861	4907	1	-10 -50
N										
ATOM	67	CA	PRO	A	245	10.374	14.051	-6.266	1.00	38.61
C										
ANISOU	67	CA	PRO	A	245	4913	4858	4895	-18	-64 -80
C										
ATOM	68	CB	PRO	A	245	9.108	13.286	-5.850	1.00	38.29
C										
ANISOU	68	CB	PRO	A	245	4913	4765	4870	-17	-31 -43
C										
ATOM	69	CG	PRO	A	245	7.963	13.883	-6.657	1.00	38.73
C										
ANISOU	69	CG	PRO	A	245	4943	4859	4914	-8	-25 -82
C										
ATOM	70	CD	PRO	A	245	8.576	14.533	-7.845	1.00	38.57
C										
ANISOU	70	CD	PRO	A	245	4919	4821	4912	41	-48 -19
C										
ATOM	71	C	PRO	A	245	11.490	13.073	-6.621	1.00	38.77
C										

ANISOU C	71	C	PRO A 245	4914	4890	4926	-38	-52	-39
ATOM O	72	O	PRO A 245	11.863	12.917	-7.800	1.00	37.94	
ANISOU O	72	O	PRO A 245	4774	4779	4862	-114	-92	-2
ATOM N	73	N	LYS A 246	12.028	12.430	-5.589	1.00	39.37	
ANISOU N	73	N	LYS A 246	4984	4983	4991	-16	-60	-30
ATOM C	74	CA	LYS A 246	12.931	11.318	-5.796	1.00	39.82	
ANISOU C	74	CA	LYS A 246	5023	5058	5050	14	-26	-33
ATOM C	75	CB	LYS A 246	13.669	10.947	-4.509	1.00	40.23	
ANISOU C	75	CB	LYS A 246	5091	5073	5120	18	-39	-40
ATOM C	76	CG	LYS A 246	14.888	11.842	-4.290	1.00	41.46	
ANISOU C	76	CG	LYS A 246	5178	5330	5245	-27	39	8
ATOM C	77	CD	LYS A 246	15.623	12.015	-5.627	1.00	45.52	
ANISOU C	77	CD	LYS A 246	5812	5935	5546	66	-16	-88
ATOM C	78	CE	LYS A 246	16.445	13.285	-5.737	1.00	46.82	
ANISOU C	78	CE	LYS A 246	5686	5640	6463	-111	-80	-47
ATOM N	79	NZ	LYS A 246	16.762	13.502	-7.165	1.00	46.41	
ANISOU N	79	NZ	LYS A 246	5883	6214	5535	18	173	183
ATOM C	80	C	LYS A 246	12.159	10.148	-6.374	1.00	39.48	
ANISOU C	80	C	LYS A 246	4992	5034	4975	21	-27	-32
ATOM O	81	O	LYS A 246	11.088	9.797	-5.861	1.00	39.69	
ANISOU O	81	O	LYS A 246	5028	5127	4923	65	-62	-106
ATOM N	82	N	PRO A 247	12.697	9.540	-7.448	1.00	39.18	
ANISOU N	82	N	PRO A 247	4951	5000	4932	33	-13	-12
ATOM C	83	CA	PRO A 247	12.000	8.478	-8.161	1.00	38.92	
ANISOU C	83	CA	PRO A 247	4924	4959	4905	51	-17	-16
ATOM C	84	CB	PRO A 247	13.085	7.878	-9.054	1.00	38.79	
ANISOU C	84	CB	PRO A 247	4920	4940	4877	55	8	-7
ATOM C	85	CG	PRO A 247	14.014	8.985	-9.285	1.00	38.59	
ANISOU C	85	CG	PRO A 247	4889	4914	4858	19	11	-18
ATOM C	86	CD	PRO A 247	14.021	9.809	-8.040	1.00	39.18	
ANISOU C	86	CD	PRO A 247	4973	4976	4934	18	3	-6
ATOM	87	C	PRO A 247	11.450	7.425	-7.230	1.00	38.87	

C										
ANISOU	87	C	PRO A 247	4936	4933	4896	54	4	-38	
C										
ATOM	88	O	PRO A 247	10.303	7.039	-7.385	1.00	38.56		
O										
ANISOU	88	O	PRO A 247	4878	4910	4862	97	6	-34	
O										
ATOM	89	N	LYS A 248	12.246	6.970	-6.261	1.00	38.99		
N										
ANISOU	89	N	LYS A 248	4950	4955	4907	43	4	-29	
N										
ATOM	90	CA	LYS A 248	11.781	5.891	-5.389	1.00	38.78		
C										
ANISOU	90	CA	LYS A 248	4934	4936	4863	41	-23	-10	
C										
ATOM	91	CB	LYS A 248	12.937	5.021	-4.850	1.00	39.27		
C										
ANISOU	91	CB	LYS A 248	5026	4978	4917	7	-18	-25	
C										
ATOM	92	CG	LYS A 248	13.648	5.482	-3.580	1.00	36.38		
C										
ANISOU	92	CG	LYS A 248	4760	4251	4810	413	-171	220	
C										
ATOM	93	CD	LYS A 248	14.700	4.434	-3.086	1.00	40.67		
C										
ANISOU	93	CD	LYS A 248	5196	5302	4953	-77	72	-121	
C										
ATOM	94	CE	LYS A 248	14.061	3.085	-2.711	1.00	35.80		
C										
ANISOU	94	CE	LYS A 248	4447	4475	4680	291	-218	261	
C										
ATOM	95	NZ	LYS A 248	15.004	2.044	-2.179	1.00	40.36		
N										
ANISOU	95	NZ	LYS A 248	5159	5539	4635	-366	221	-488	
N										
ATOM	96	C	LYS A 248	10.799	6.352	-4.312	1.00	38.61		
C										
ANISOU	96	C	LYS A 248	4939	4906	4825	14	-19	-2	
C										
ATOM	97	O	LYS A 248	10.063	5.550	-3.775	1.00	38.84		
O										
ANISOU	97	O	LYS A 248	5003	4972	4783	16	-22	-36	
O										
ATOM	98	N	ASP A 249	10.750	7.655	-4.033	1.00	38.44		
N										
ANISOU	98	N	ASP A 249	4875	4955	4772	44	3	-16	
N										
ATOM	99	CA	ASP A 249	9.691	8.181	-3.171	1.00	37.92		
C										
ANISOU	99	CA	ASP A 249	4847	4859	4700	48	-19	22	
C										
ATOM	100	CB	ASP A 249	9.970	9.633	-2.774	1.00	38.25		
C										
ANISOU	100	CB	ASP A 249	4896	4868	4767	11	7	17	
C										
ATOM	101	CG	ASP A 249	10.882	9.741	-1.587	1.00	38.86		
C										
ANISOU	101	CG	ASP A 249	5031	4871	4860	18	23	22	
C										
ATOM	102	OD1	ASP A 249	11.024	8.755	-0.860	1.00	41.27		
O										
ANISOU	102	OD1	ASP A 249	5480	5121	5080	125	28	-54	
O										

ATOM	103	OD2	ASP	A	249	11.457	10.815	-1.352	1.00	41.70	
O											
ANISOU	103	OD2	ASP	A	249	5332	5260	5250	-57	123	4
O											
ATOM	104	C	ASP	A	249	8.325	8.043	-3.853	1.00	36.93	
C											
ANISOU	104	C	ASP	A	249	4734	4748	4547	24	-9	14
C											
ATOM	105	O	ASP	A	249	7.300	7.842	-3.198	1.00	36.04	
O											
ANISOU	105	O	ASP	A	249	4654	4626	4413	57	-57	34
O											
ATOM	106	N	THR	A	250	8.338	8.136	-5.182	1.00	36.24	
N											
ANISOU	106	N	THR	A	250	4619	4672	4477	50	-15	16
N											
ATOM	107	CA	THR	A	250	7.131	7.982	-5.982	1.00	35.08	
C											
ANISOU	107	CA	THR	A	250	4477	4569	4283	0	2	47
C											
ATOM	108	CB	THR	A	250	7.233	8.753	-7.345	1.00	35.01	
C											
ANISOU	108	CB	THR	A	250	4440	4538	4324	26	1	31
C											
ATOM	109	OG1	THR	A	250	7.969	7.992	-8.287	1.00	33.57	
O											
ANISOU	109	OG1	THR	A	250	4192	4584	3978	26	-86	100
O											
ATOM	110	CG2	THR	A	250	7.901	10.112	-7.157	1.00	34.29	
C											
ANISOU	110	CG2	THR	A	250	4178	4535	4312	-61	-10	167
C											
ATOM	111	C	THR	A	250	6.674	6.521	-6.163	1.00	34.51	
C											
ANISOU	111	C	THR	A	250	4501	4473	4136	12	33	-4
C											
ATOM	112	O	THR	A	250	5.499	6.269	-6.443	1.00	33.70	
O											
ANISOU	112	O	THR	A	250	4487	4349	3968	-15	94	-34
O											
ATOM	113	N	LEU	A	251	7.570	5.569	-5.940	1.00	34.49	
N											
ANISOU	113	N	LEU	A	251	4464	4483	4158	-14	57	-24
N											
ATOM	114	CA	LEU	A	251	7.288	4.145	-6.229	1.00	35.46	
C											
ANISOU	114	CA	LEU	A	251	4591	4519	4360	-36	56	39
C											
ATOM	115	CB	LEU	A	251	8.416	3.552	-7.084	1.00	34.39	
C											
ANISOU	115	CB	LEU	A	251	4522	4286	4258	-37	43	44
C											
ATOM	116	CG	LEU	A	251	8.640	4.234	-8.448	1.00	32.40	
C											
ANISOU	116	CG	LEU	A	251	4144	4197	3968	-25	0	-41
C											
ATOM	117	CD1	LEU	A	251	9.950	3.850	-9.025	1.00	31.29	
C											
ANISOU	117	CD1	LEU	A	251	4008	4153	3728	70	-120	25
C											
ATOM	118	CD2	LEU	A	251	7.538	3.937	-9.435	1.00	30.02	
C											
ANISOU	118	CD2	LEU	A	251	3862	3832	3709	-19	204	164

C										
ATOM	119	C	LEU A 251	6.967	3.247	-4.999	1.00	36.71		
C										
ANISOU	119	C	LEU A 251	4788	4688	4471	-34	12	51	
C										
ATOM	120	O	LEU A 251	6.530	2.097	-5.126	1.00	36.26		
O										
ANISOU	120	O	LEU A 251	4757	4604	4414	-55	47	142	
O										
ATOM	121	N	MET A 252	7.187	3.791	-3.816	1.00	38.60		
N										
ANISOU	121	N	MET A 252	5026	4943	4698	-27	20	29	
N										
ATOM	122	CA	MET A 252	6.895	3.102	-2.566	1.00	40.29		
C										
ANISOU	122	CA	MET A 252	5241	5198	4870	1	-7	44	
C										
ATOM	123	CB	MET A 252	8.114	3.092	-1.677	1.00	40.45		
C										
ANISOU	123	CB	MET A 252	5226	5262	4879	-22	-28	-14	
C										
ATOM	124	CG	MET A 252	9.210	2.179	-2.138	1.00	42.62		
C										
ANISOU	124	CG	MET A 252	5404	5525	5262	48	6	-36	
C										
ATOM	125	SD	MET A 252	10.657	2.547	-1.165	1.00	43.78		
S										
ANISOU	125	SD	MET A 252	5542	5849	5244	48	-85	63	
S										
ATOM	126	CE	MET A 252	10.140	1.837	0.396	1.00	45.33		
C										
ANISOU	126	CE	MET A 252	5743	5827	5653	-34	103	102	
C										
ATOM	127	C	MET A 252	5.829	3.879	-1.874	1.00	39.26		
C										
ANISOU	127	C	MET A 252	5153	5083	4681	-6	-19	52	
C										
ATOM	128	O	MET A 252	6.043	5.040	-1.508	1.00	39.40		
O										
ANISOU	128	O	MET A 252	5246	5129	4594	-46	-43	54	
O										
ATOM	129	N	ILE A 253	4.682	3.237	-1.700	1.00	39.08		
N										
ANISOU	129	N	ILE A 253	5163	5016	4667	12	-39	49	
N										
ATOM	130	CA	ILE A 253	3.486	3.888	-1.183	1.00	39.29		
C										
ANISOU	130	CA	ILE A 253	5103	5050	4775	29	12	19	
C										
ATOM	131	CB	ILE A 253	2.247	3.011	-1.395	1.00	38.95		
C										
ANISOU	131	CB	ILE A 253	5067	5028	4703	31	24	14	
C										
ATOM	132	CG1	ILE A 253	0.953	3.823	-1.205	1.00	39.49		
C										
ANISOU	132	CG1	ILE A 253	5092	5115	4795	9	-6	-38	
C										
ATOM	133	CD1	ILE A 253	-0.330	3.042	-1.535	1.00	38.97		
C										
ANISOU	133	CD1	ILE A 253	5004	5047	4756	10	47	50	
C										
ATOM	134	CG2	ILE A 253	2.320	1.777	-0.515	1.00	39.92		
C										

ANISOU C	134	CG2	ILE A 253	5138	5135	4895	40	-36	1
ATOM C	135	C	ILE A 253	3.622	4.327	0.280	1.00	39.88	
ANISOU C	135	C	ILE A 253	5183	5139	4829	56	53	44
ATOM O	136	O	ILE A 253	2.795	5.089	0.776	1.00	40.73	
ANISOU O	136	O	ILE A 253	5278	5260	4936	23	76	42
ATOM N	137	N	SER A 254	4.683	3.892	0.950	1.00	40.46	
ANISOU N	137	N	SER A 254	5255	5229	4888	63	59	23
ATOM C	138	CA	SER A 254	4.863	4.181	2.364	1.00	40.63	
ANISOU C	138	CA	SER A 254	5276	5248	4914	9	50	-9
ATOM C	139	CB	SER A 254	5.567	3.005	3.055	1.00	40.37	
ANISOU C	139	CB	SER A 254	5254	5212	4870	59	53	-23
ATOM O	140	OG	SER A 254	6.984	3.119	2.972	1.00	40.90	
ANISOU O	140	OG	SER A 254	5421	5224	4893	-34	108	-21
ATOM C	141	C	SER A 254	5.628	5.488	2.550	1.00	40.97	
ANISOU C	141	C	SER A 254	5312	5271	4982	-19	76	25
ATOM O	142	O	SER A 254	5.603	6.114	3.632	1.00	41.28	
ANISOU O	142	O	SER A 254	5346	5328	5007	-41	116	79
ATOM N	143	N	ARG A 255	6.307	5.897	1.484	1.00	41.20	
ANISOU N	143	N	ARG A 255	5344	5362	4946	-17	73	-22
ATOM C	144	CA	ARG A 255	7.116	7.128	1.464	1.00	40.77	
ANISOU C	144	CA	ARG A 255	5217	5295	4977	-30	15	-71
ATOM C	145	CB	ARG A 255	8.312	6.960	0.520	1.00	41.05	
ANISOU C	145	CB	ARG A 255	5254	5318	5025	-26	19	-59
ATOM C	146	CG	ARG A 255	9.203	5.754	0.873	1.00	41.23	
ANISOU C	146	CG	ARG A 255	5241	5314	5109	-16	-53	-75
ATOM C	147	CD	ARG A 255	10.479	5.781	0.055	1.00	42.71	
ANISOU C	147	CD	ARG A 255	5282	5481	5463	-20	-70	-52
ATOM N	148	NE	ARG A 255	11.486	4.874	0.595	1.00	44.95	
ANISOU N	148	NE	ARG A 255	5686	5632	5761	-23	-8	6
ATOM C	149	CZ	ARG A 255	12.800	5.096	0.570	1.00	44.62	
ANISOU C	149	CZ	ARG A 255	5581	5638	5732	-42	-75	37
ATOM	150	NH1	ARG A 255	13.283	6.213	0.045	1.00	44.95	

N											
ANISOU	150	NH1	ARG	A	255	5600	5866	5612	-153	-140	84
N											
ATOM	151	NH2	ARG	A	255	13.632	4.205	1.093	1.00	45.14	
N											
ANISOU	151	NH2	ARG	A	255	5708	5780	5660	6	-107	-75
N											
ATOM	152	C	ARG	A	255	6.300	8.371	1.111	1.00	40.62	
C											
ANISOU	152	C	ARG	A	255	5207	5295	4932	-38	26	-78
C											
ATOM	153	O	ARG	A	255	5.092	8.307	0.939	1.00	41.23	
O											
ANISOU	153	O	ARG	A	255	5213	5455	4994	0	-1	-130
O											
ATOM	154	N	THR	A	256	6.959	9.512	1.013	1.00	40.48	
N											
ANISOU	154	N	THR	A	256	5221	5247	4910	-13	43	-73
N											
ATOM	155	CA	THR	A	256	6.253	10.779	0.949	1.00	40.65	
C											
ANISOU	155	CA	THR	A	256	5233	5241	4969	29	14	6
C											
ATOM	156	CB	THR	A	256	6.265	11.522	2.350	1.00	40.92	
C											
ANISOU	156	CB	THR	A	256	5291	5223	5035	40	47	-14
C											
ATOM	157	OG1	THR	A	256	6.218	10.571	3.438	1.00	42.34	
O											
ANISOU	157	OG1	THR	A	256	5543	5436	5106	142	62	-151
O											
ATOM	158	CG2	THR	A	256	5.082	12.466	2.479	1.00	41.51	
C											
ANISOU	158	CG2	THR	A	256	5386	5196	5190	75	11	15
C											
ATOM	159	C	THR	A	256	6.931	11.637	-0.116	1.00	40.11	
C											
ANISOU	159	C	THR	A	256	5160	5179	4899	0	8	30
C											
ATOM	160	O	THR	A	256	7.896	12.347	0.183	1.00	40.28	
O											
ANISOU	160	O	THR	A	256	5245	5223	4835	-24	20	133
O											
ATOM	161	N	PRO	A	257	6.448	11.568	-1.366	1.00	39.60	
N											
ANISOU	161	N	PRO	A	257	5072	5102	4872	-11	3	-7
N											
ATOM	162	CA	PRO	A	257	7.093	12.373	-2.402	1.00	39.43	
C											
ANISOU	162	CA	PRO	A	257	5067	5077	4836	1	-29	-23
C											
ATOM	163	CB	PRO	A	257	6.587	11.750	-3.707	1.00	39.18	
C											
ANISOU	163	CB	PRO	A	257	5053	5055	4778	7	-3	-63
C											
ATOM	164	CG	PRO	A	257	5.294	11.091	-3.363	1.00	39.06	
C											
ANISOU	164	CG	PRO	A	257	5063	5013	4764	-13	-1	-34
C											
ATOM	165	CD	PRO	A	257	5.315	10.781	-1.890	1.00	40.06	
C											
ANISOU	165	CD	PRO	A	257	5172	5085	4963	-7	17	5
C											

ATOM	166	C	PRO A 257	6.744	13.855	-2.321	1.00	39.42	
C									
ANISOU	166	C	PRO A 257	5113	5073	4792	-38	-37	-56
C									
ATOM	167	O	PRO A 257	5.645	14.229	-1.926	1.00	38.86	
O									
ANISOU	167	O	PRO A 257	5152	4918	4693	-21	-22	-87
O									
ATOM	168	N	GLU A 258	7.692	14.683	-2.730	1.00	40.26	
N									
ANISOU	168	N	GLU A 258	5231	5155	4908	-57	-80	-131
N									
ATOM	169	CA	GLU A 258	7.562	16.117	-2.647	1.00	40.63	
C									
ANISOU	169	CA	GLU A 258	5252	5182	5001	-31	-77	-91
C									
ATOM	170	CB	GLU A 258	8.386	16.633	-1.456	1.00	41.53	
C									
ANISOU	170	CB	GLU A 258	5416	5269	5091	-15	-86	-96
C									
ATOM	171	CG	GLU A 258	7.818	16.238	-0.078	1.00	44.60	
C									
ANISOU	171	CG	GLU A 258	5886	5562	5495	-57	188	-51
C									
ATOM	172	CD	GLU A 258	8.897	16.116	1.007	1.00	40.88	
C									
ANISOU	172	CD	GLU A 258	4965	5716	4850	-392	-49	386
C									
ATOM	173	OE1	GLU A 258	8.594	15.520	2.079	1.00	48.80	
O									
ANISOU	173	OE1	GLU A 258	6168	6166	6208	50	-119	-284
O									
ATOM	174	OE2	GLU A 258	10.041	16.600	0.785	1.00	46.91	
O									
ANISOU	174	OE2	GLU A 258	6298	5858	5666	75	-119	-191
O									
ATOM	175	C	GLU A 258	8.092	16.753	-3.903	1.00	40.29	
C									
ANISOU	175	C	GLU A 258	5202	5119	4985	-31	-97	-129
C									
ATOM	176	O	GLU A 258	9.072	16.292	-4.477	1.00	40.44	
O									
ANISOU	176	O	GLU A 258	5293	5116	4956	-54	-98	-185
O									
ATOM	177	N	VAL A 259	7.459	17.840	-4.303	1.00	40.01	
N									
ANISOU	177	N	VAL A 259	5143	5064	4994	-48	-92	-112
N									
ATOM	178	CA	VAL A 259	7.948	18.670	-5.392	1.00	40.26	
C									
ANISOU	178	CA	VAL A 259	5155	5061	5081	18	-77	-86
C									
ATOM	179	CB	VAL A 259	6.797	18.967	-6.381	1.00	40.32	
C									
ANISOU	179	CB	VAL A 259	5194	5086	5040	3	-70	-79
C									
ATOM	180	CG1	VAL A 259	7.169	20.031	-7.349	1.00	39.85	
C									
ANISOU	180	CG1	VAL A 259	5102	5046	4994	-46	-49	-51
C									
ATOM	181	CG2	VAL A 259	6.390	17.682	-7.103	1.00	40.01	
C									
ANISOU	181	CG2	VAL A 259	5111	5024	5065	55	-92	-113

C										
ATOM	182	C	VAL A 259	8.529	19.942	-4.761	1.00	40.31		
C										
ANISOU	182	C	VAL A 259	5146	5030	5137	22	-59	-6	
C										
ATOM	183	O	VAL A 259	7.939	20.517	-3.840	1.00	39.93		
O										
ANISOU	183	O	VAL A 259	5181	4910	5080	30	-43	-21	
O										
ATOM	184	N	THR A 260	9.704	20.355	-5.211	1.00	40.59		
N										
ANISOU	184	N	THR A 260	5198	5044	5180	37	-40	1	
N										
ATOM	185	CA	THR A 260	10.377	21.475	-4.556	1.00	40.90		
C										
ANISOU	185	CA	THR A 260	5225	5103	5210	17	-22	-52	
C										
ATOM	186	CB	THR A 260	11.722	21.052	-3.918	1.00	40.60		
C										
ANISOU	186	CB	THR A 260	5177	5055	5191	5	7	-62	
C										
ATOM	187	OG1	THR A 260	11.488	19.986	-2.986	1.00	40.40		
O										
ANISOU	187	OG1	THR A 260	5213	5077	5059	47	26	-208	
O										
ATOM	188	CG2	THR A 260	12.342	22.196	-3.157	1.00	40.61		
C										
ANISOU	188	CG2	THR A 260	5192	5102	5132	-11	38	10	
C										
ATOM	189	C	THR A 260	10.510	22.656	-5.512	1.00	41.22		
C										
ANISOU	189	C	THR A 260	5246	5148	5267	-11	-3	-54	
C										
ATOM	190	O	THR A 260	11.068	22.527	-6.598	1.00	41.63		
O										
ANISOU	190	O	THR A 260	5257	5264	5294	15	23	-122	
O										
ATOM	191	N	CYS A 261	9.943	23.795	-5.109	1.00	41.33		
N										
ANISOU	191	N	CYS A 261	5272	5136	5296	-17	-27	-88	
N										
ATOM	192	CA	CYS A 261	10.029	25.032	-5.889	1.00	41.26		
C										
ANISOU	192	CA	CYS A 261	5292	5146	5237	-26	-50	-63	
C										
ATOM	193	CB	CYS A 261	8.691	25.769	-5.894	1.00	40.72		
C										
ANISOU	193	CB	CYS A 261	5249	5103	5116	-4	-33	-99	
C										
ATOM	194	SG	CYS A 261	8.495	27.040	-7.213	1.00	41.29		
S										
ANISOU	194	SG	CYS A 261	5307	4989	5391	-25	-29	-151	
S										
ATOM	195	C	CYS A 261	11.104	25.928	-5.292	1.00	41.60		
C										
ANISOU	195	C	CYS A 261	5340	5207	5259	-19	-18	-67	
C										
ATOM	196	O	CYS A 261	11.014	26.324	-4.133	1.00	42.19		
O										
ANISOU	196	O	CYS A 261	5452	5297	5280	-24	-69	-78	
O										
ATOM	197	N	VAL A 262	12.121	26.234	-6.084	1.00	41.65		
N										

ANISOU N	197	N	VAL A 262	5287	5236	5301	-27	5	-70
ATOM C	198	CA	VAL A 262	13.192	27.102	-5.645	1.00	41.52	
ANISOU C	198	CA	VAL A 262	5296	5172	5305	-10	-8	-79
ATOM C	199	CB	VAL A 262	14.566	26.403	-5.736	1.00	41.57	
ANISOU C	199	CB	VAL A 262	5266	5213	5312	-4	-11	-73
ATOM C	200	CG1	VAL A 262	15.703	27.418	-5.531	1.00	41.51	
ANISOU C	200	CG1	VAL A 262	5318	5058	5393	16	35	-129
ATOM C	201	CG2	VAL A 262	14.667	25.238	-4.732	1.00	40.60	
ANISOU C	201	CG2	VAL A 262	5239	5053	5131	-58	-15	-107
ATOM C	202	C	VAL A 262	13.230	28.375	-6.493	1.00	41.97	
ANISOU C	202	C	VAL A 262	5353	5249	5344	-6	1	-62
ATOM O	203	O	VAL A 262	13.277	28.308	-7.744	1.00	41.34	
ANISOU O	203	O	VAL A 262	5297	5185	5225	3	27	-162
ATOM N	204	N	VAL A 263	13.200	29.523	-5.795	1.00	41.79	
ANISOU N	204	N	VAL A 263	5323	5198	5357	-8	26	-81
ATOM C	205	CA	VAL A 263	13.450	30.829	-6.399	1.00	41.87	
ANISOU C	205	CA	VAL A 263	5331	5210	5365	13	-1	-48
ATOM C	206	CB	VAL A 263	12.381	31.882	-6.011	1.00	42.15	
ANISOU C	206	CB	VAL A 263	5365	5244	5407	-13	-13	-29
ATOM C	207	CG1	VAL A 263	12.197	32.897	-7.151	1.00	41.64	
ANISOU C	207	CG1	VAL A 263	5414	5099	5308	-3	-61	-36
ATOM C	208	CG2	VAL A 263	11.070	31.217	-5.688	1.00	41.69	
ANISOU C	208	CG2	VAL A 263	5219	5254	5366	28	11	9
ATOM C	209	C	VAL A 263	14.825	31.331	-5.954	1.00	42.07	
ANISOU C	209	C	VAL A 263	5367	5246	5371	-13	24	-47
ATOM O	210	O	VAL A 263	15.194	31.243	-4.773	1.00	42.24	
ANISOU O	210	O	VAL A 263	5419	5263	5365	-9	12	-77
ATOM N	211	N	VAL A 264	15.594	31.819	-6.915	1.00	42.34	
ANISOU N	211	N	VAL A 264	5407	5261	5417	-40	15	-20
ATOM C	212	CA	VAL A 264	16.912	32.371	-6.640	1.00	42.34	
ANISOU C	212	CA	VAL A 264	5355	5321	5408	-44	-15	0
ATOM	213	CB	VAL A 264	18.086	31.458	-7.123	1.00	42.32	

C										
ANISOU	213	CB	VAL A 264	5369	5281	5427	-74	-22	5	
C										
ATOM	214	CG1	VAL A 264	18.307	30.333	-6.151	1.00	42.89		
C										
ANISOU	214	CG1	VAL A 264	5398	5442	5455	11	-96	65	
C										
ATOM	215	CG2	VAL A 264	17.862	30.926	-8.536	1.00	42.03		
C										
ANISOU	215	CG2	VAL A 264	5346	5351	5270	-55	-7	25	
C										
ATOM	216	C	VAL A 264	17.003	33.756	-7.271	1.00	42.94		
C										
ANISOU	216	C	VAL A 264	5419	5400	5493	-38	-13	22	
C										
ATOM	217	O	VAL A 264	16.131	34.135	-8.077	1.00	43.29		
O										
ANISOU	217	O	VAL A 264	5396	5527	5525	-14	-27	41	
O										
ATOM	218	N	ASP A 265	18.057	34.500	-6.918	1.00	42.97		
N										
ANISOU	218	N	ASP A 265	5466	5374	5487	-58	-15	-6	
N										
ATOM	219	CA	ASP A 265	18.204	35.890	-7.353	1.00	43.20		
C										
ANISOU	219	CA	ASP A 265	5502	5401	5511	-43	11	9	
C										
ATOM	220	CB	ASP A 265	18.142	36.018	-8.889	1.00	43.15		
C										
ANISOU	220	CB	ASP A 265	5545	5394	5456	-50	-12	-19	
C										
ATOM	221	CG	ASP A 265	19.371	35.453	-9.579	1.00	44.92		
C										
ANISOU	221	CG	ASP A 265	5679	5711	5678	-48	12	-4	
C										
ATOM	222	OD1	ASP A 265	19.303	35.191	-10.803	1.00	46.63		
O										
ANISOU	222	OD1	ASP A 265	5857	6021	5836	-140	-10	-71	
O										
ATOM	223	OD2	ASP A 265	20.411	35.263	-8.906	1.00	47.21		
O										
ANISOU	223	OD2	ASP A 265	5935	5986	6016	-141	-96	-22	
O										
ATOM	224	C	ASP A 265	17.117	36.728	-6.695	1.00	43.08		
C										
ANISOU	224	C	ASP A 265	5496	5395	5475	-37	49	-4	
C										
ATOM	225	O	ASP A 265	16.547	37.636	-7.313	1.00	43.22		
O										
ANISOU	225	O	ASP A 265	5505	5422	5495	-37	102	40	
O										
ATOM	226	N	VAL A 266	16.787	36.397	-5.449	1.00	43.36		
N										
ANISOU	226	N	VAL A 266	5544	5410	5520	-42	9	-52	
N										
ATOM	227	CA	VAL A 266	15.823	37.227	-4.722	1.00	43.59		
C										
ANISOU	227	CA	VAL A 266	5576	5445	5541	-38	-7	-62	
C										
ATOM	228	CB	VAL A 266	15.117	36.476	-3.564	1.00	43.62		
C										
ANISOU	228	CB	VAL A 266	5567	5440	5564	-36	-10	-65	
C										

ATOM	229	CG1	VAL	A	266	14.260	37.426	-2.730	1.00	43.27
C										
ANISOU	229	CG1	VAL	A	266	5518	5469	5453	-20	-46 -125
C										
ATOM	230	CG2	VAL	A	266	14.253	35.309	-4.109	1.00	43.36
C										
ANISOU	230	CG2	VAL	A	266	5463	5462	5547	25	-14 -83
C										
ATOM	231	C	VAL	A	266	16.653	38.421	-4.250	1.00	43.81
C										
ANISOU	231	C	VAL	A	266	5612	5461	5572	-40	-47 -75
C										
ATOM	232	O	VAL	A	266	17.678	38.243	-3.606	1.00	44.05
O										
ANISOU	232	O	VAL	A	266	5645	5485	5605	-62	-80 -95
O										
ATOM	233	N	SER	A	267	16.252	39.625	-4.629	1.00	44.16
N										
ANISOU	233	N	SER	A	267	5674	5467	5637	-42	-51 -55
N										
ATOM	234	CA	SER	A	267	17.044	40.809	-4.291	1.00	44.92
C										
ANISOU	234	CA	SER	A	267	5742	5605	5720	-26	-25 -27
C										
ATOM	235	CB	SER	A	267	16.574	42.015	-5.098	1.00	44.80
C										
ANISOU	235	CB	SER	A	267	5731	5551	5737	-24	-13 -6
C										
ATOM	236	OG	SER	A	267	15.463	42.605	-4.458	1.00	44.95
O										
ANISOU	236	OG	SER	A	267	5676	5584	5816	9	4 -13
O										
ATOM	237	C	SER	A	267	16.978	41.119	-2.789	1.00	45.15
C										
ANISOU	237	C	SER	A	267	5807	5630	5718	-32	-6 -55
C										
ATOM	238	O	SER	A	267	16.586	40.278	-1.978	1.00	45.49
O										
ANISOU	238	O	SER	A	267	5828	5712	5744	-51	7 -60
O										
ATOM	239	N	HIS	A	268	17.366	42.333	-2.428	1.00	45.94
N										
ANISOU	239	N	HIS	A	268	5897	5755	5801	-37	-7 -42
N										
ATOM	240	CA	HIS	A	268	17.252	42.793	-1.044	1.00	46.15
C										
ANISOU	240	CA	HIS	A	268	5932	5783	5817	-26	-11 -31
C										
ATOM	241	CB	HIS	A	268	18.614	43.221	-0.546	1.00	46.45
C										
ANISOU	241	CB	HIS	A	268	5950	5843	5855	-51	-45 -21
C										
ATOM	242	CG	HIS	A	268	19.575	42.093	-0.372	1.00	47.75
C										
ANISOU	242	CG	HIS	A	268	6131	5941	6069	30	-23 -45
C										
ATOM	243	ND1	HIS	A	268	19.941	41.617	0.869	1.00	49.83
N										
ANISOU	243	ND1	HIS	A	268	6445	6227	6259	116	7 -9
N										
ATOM	244	CE1	HIS	A	268	20.804	40.628	0.722	1.00	49.57
C										
ANISOU	244	CE1	HIS	A	268	6470	6345	6018	34	60 -31

C										
ATOM	245	NE2	HIS	A	268	21.011	40.445	-0.570	1.00	49.91
N										
ANISOU	245	NE2	HIS	A	268	6326	6330	6306	20	-64 2
N										
ATOM	246	CD2	HIS	A	268	20.257	41.354	-1.276	1.00	48.94
C										
ANISOU	246	CD2	HIS	A	268	6300	6208	6085	12	8 -40
C										
ATOM	247	C	HIS	A	268	16.270	43.953	-0.932	1.00	46.31
C										
ANISOU	247	C	HIS	A	268	5952	5787	5855	-19	8 -26
C										
ATOM	248	O	HIS	A	268	15.635	44.151	0.120	1.00	46.57
O										
ANISOU	248	O	HIS	A	268	6023	5813	5856	-91	5 -43
O										
ATOM	249	N	GLU	A	269	16.140	44.701	-2.032	1.00	46.57
N										
ANISOU	249	N	GLU	A	269	5987	5794	5912	0	24 16
N										
ATOM	250	CA	GLU	A	269	15.251	45.875	-2.109	1.00	46.95
C										
ANISOU	250	CA	GLU	A	269	5979	5849	6010	4	29 -27
C										
ATOM	251	CB	GLU	A	269	15.603	46.754	-3.323	1.00	46.62
C										
ANISOU	251	CB	GLU	A	269	5977	5776	5960	-3	18 -3
C										
ATOM	252	CG	GLU	A	269	17.070	46.679	-3.764	1.00	47.69
C										
ANISOU	252	CG	GLU	A	269	5996	5921	6202	-64	33 27
C										
ATOM	253	CD	GLU	A	269	17.958	47.749	-3.127	1.00	50.37
C										
ANISOU	253	CD	GLU	A	269	6386	6291	6460	-14	-39 -64
C										
ATOM	254	OE1	GLU	A	269	17.419	48.766	-2.634	1.00	49.63
O										
ANISOU	254	OE1	GLU	A	269	6277	6189	6390	40	-9 -219
O										
ATOM	255	OE2	GLU	A	269	19.208	47.585	-3.161	1.00	51.70
O										
ANISOU	255	OE2	GLU	A	269	6319	6463	6858	16	-192 20
O										
ATOM	256	C	GLU	A	269	13.797	45.428	-2.211	1.00	47.24
C										
ANISOU	256	C	GLU	A	269	6001	5892	6054	2	38 -55
C										
ATOM	257	O	GLU	A	269	12.901	46.013	-1.583	1.00	48.33
O										
ANISOU	257	O	GLU	A	269	6161	6020	6182	27	66 -84
O										
ATOM	258	N	ASP	A	270	13.572	44.392	-3.019	1.00	47.26
N										
ANISOU	258	N	ASP	A	270	6029	5892	6034	10	36 -52
N										
ATOM	259	CA	ASP	A	270	12.251	43.806	-3.226	1.00	46.94
C										
ANISOU	259	CA	ASP	A	270	5979	5862	5992	11	11 -19
C										
ATOM	260	CB	ASP	A	270	11.817	44.010	-4.678	1.00	47.64
C										

ANISOU	260	CB	ASP	A	270	6125	5924	6052	-10	2	-55
C											
ATOM	261	CG	ASP	A	270	12.011	45.446	-5.149	1.00	49.53	
C											
ANISOU	261	CG	ASP	A	270	6428	6106	6283	5	83	46
C											
ATOM	262	OD1	ASP	A	270	11.562	46.383	-4.426	1.00	50.58	
O											
ANISOU	262	OD1	ASP	A	270	6655	6105	6455	75	138	-47
O											
ATOM	263	OD2	ASP	A	270	12.620	45.632	-6.232	1.00	50.17	
O											
ANISOU	263	OD2	ASP	A	270	6461	6333	6269	47	198	-153
O											
ATOM	264	C	ASP	A	270	12.379	42.331	-2.925	1.00	46.46	
C											
ANISOU	264	C	ASP	A	270	5904	5821	5928	4	5	-41
C											
ATOM	265	O	ASP	A	270	12.490	41.528	-3.852	1.00	46.73	
O											
ANISOU	265	O	ASP	A	270	5861	5902	5992	73	80	-3
O											
ATOM	266	N	PRO	A	271	12.383	41.970	-1.628	1.00	46.30	
N											
ANISOU	266	N	PRO	A	271	5872	5815	5902	19	9	-39
N											
ATOM	267	CA	PRO	A	271	12.735	40.625	-1.182	1.00	46.38	
C											
ANISOU	267	CA	PRO	A	271	5878	5802	5940	8	8	-53
C											
ATOM	268	CB	PRO	A	271	13.321	40.873	0.207	1.00	46.74	
C											
ANISOU	268	CB	PRO	A	271	5927	5842	5990	0	20	-18
C											
ATOM	269	CG	PRO	A	271	12.532	42.082	0.732	1.00	46.35	
C											
ANISOU	269	CG	PRO	A	271	5868	5817	5922	37	-13	-51
C											
ATOM	270	CD	PRO	A	271	12.074	42.863	-0.487	1.00	46.34	
C											
ANISOU	270	CD	PRO	A	271	5887	5812	5907	47	16	-33
C											
ATOM	271	C	PRO	A	271	11.567	39.661	-1.064	1.00	46.91	
C											
ANISOU	271	C	PRO	A	271	5915	5843	6064	16	18	-55
C											
ATOM	272	O	PRO	A	271	11.751	38.464	-1.297	1.00	47.80	
O											
ANISOU	272	O	PRO	A	271	5999	5932	6231	72	10	-41
O											
ATOM	273	N	GLU	A	272	10.385	40.161	-0.703	1.00	47.03	
N											
ANISOU	273	N	GLU	A	272	5924	5834	6111	10	9	-81
N											
ATOM	274	CA	GLU	A	272	9.255	39.289	-0.375	1.00	46.90	
C											
ANISOU	274	CA	GLU	A	272	5899	5861	6056	-31	2	-69
C											
ATOM	275	CB	GLU	A	272	8.199	40.002	0.480	1.00	47.05	
C											
ANISOU	275	CB	GLU	A	272	5905	5909	6061	-29	-1	-57
C											
ATOM	276	CG	GLU	A	272	8.736	40.972	1.528	1.00	48.65	

C										
ANISOU	276	CG	GLU A 272	6104	6206	6174	-35	-24	-64	
C										
ATOM	277	CD	GLU A 272	9.674	40.329	2.566	1.00	50.71		
C										
ANISOU	277	CD	GLU A 272	6405	6393	6466	10	-66	39	
C										
ATOM	278	OE1	GLU A 272	9.577	39.104	2.812	1.00	51.33		
O										
ANISOU	278	OE1	GLU A 272	6528	6257	6717	-21	33	-12	
O										
ATOM	279	OE2	GLU A 272	10.509	41.074	3.139	1.00	50.98		
O										
ANISOU	279	OE2	GLU A 272	6448	6560	6361	-33	-177	-55	
O										
ATOM	280	C	GLU A 272	8.631	38.686	-1.633	1.00	46.54		
C										
ANISOU	280	C	GLU A 272	5881	5811	5989	-31	-30	-51	
C										
ATOM	281	O	GLU A 272	8.366	39.380	-2.630	1.00	47.00		
O										
ANISOU	281	O	GLU A 272	5929	5827	6100	-69	-26	-34	
O										
ATOM	282	N	VAL A 273	8.434	37.372	-1.573	1.00	45.97		
N										
ANISOU	282	N	VAL A 273	5822	5768	5875	-28	-35	-72	
N										
ATOM	283	CA	VAL A 273	7.935	36.586	-2.697	1.00	45.26		
C										
ANISOU	283	CA	VAL A 273	5738	5675	5781	-15	-4	-87	
C										
ATOM	284	CB	VAL A 273	9.042	35.675	-3.296	1.00	45.49		
C										
ANISOU	284	CB	VAL A 273	5723	5777	5781	-37	9	-110	
C										
ATOM	285	CG1	VAL A 273	8.629	35.110	-4.669	1.00	45.42		
C										
ANISOU	285	CG1	VAL A 273	5681	5791	5783	-59	0	-59	
C										
ATOM	286	CG2	VAL A 273	10.363	36.439	-3.429	1.00	45.73		
C										
ANISOU	286	CG2	VAL A 273	5844	5761	5769	-107	2	-86	
C										
ATOM	287	C	VAL A 273	6.749	35.756	-2.202	1.00	44.66		
C										
ANISOU	287	C	VAL A 273	5681	5592	5694	0	3	-104	
C										
ATOM	288	O	VAL A 273	6.687	35.353	-1.029	1.00	44.72		
O										
ANISOU	288	O	VAL A 273	5778	5509	5704	26	36	-129	
O										
ATOM	289	N	LYS A 274	5.811	35.522	-3.108	1.00	43.97		
N										
ANISOU	289	N	LYS A 274	5556	5534	5616	10	13	-109	
N										
ATOM	290	CA	LYS A 274	4.568	34.833	-2.807	1.00	43.21		
C										
ANISOU	290	CA	LYS A 274	5485	5435	5495	-5	21	-75	
C										
ATOM	291	CB	LYS A 274	3.407	35.759	-3.179	1.00	42.77		
C										
ANISOU	291	CB	LYS A 274	5436	5394	5419	0	-19	-102	
C										

ATOM	292	CG	LYS A 274	2.050	35.407	-2.597	1.00	41.82	
C									
ANISOU	292	CG	LYS A 274	5335	5189	5365	-22	-50	-111
C									
ATOM	293	CD	LYS A 274	0.997	36.393	-3.092	1.00	42.08	
C									
ANISOU	293	CD	LYS A 274	5342	5275	5370	-13	-1	-45
C									
ATOM	294	CE	LYS A 274	0.899	36.385	-4.614	1.00	44.59	
C									
ANISOU	294	CE	LYS A 274	5681	5789	5470	-483	152	-326
C									
ATOM	295	NZ	LYS A 274	-0.045	37.398	-5.185	1.00	40.06	
N									
ANISOU	295	NZ	LYS A 274	5019	4610	5590	369	-248	81
N									
ATOM	296	C	LYS A 274	4.498	33.570	-3.651	1.00	43.36	
C									
ANISOU	296	C	LYS A 274	5514	5454	5504	-3	30	-52
C									
ATOM	297	O	LYS A 274	4.678	33.627	-4.873	1.00	43.92	
O									
ANISOU	297	O	LYS A 274	5587	5567	5534	35	17	-66
O									
ATOM	298	N	PHE A 275	4.229	32.431	-3.024	1.00	43.43	
N									
ANISOU	298	N	PHE A 275	5510	5465	5523	17	5	-41
N									
ATOM	299	CA	PHE A 275	4.007	31.206	-3.803	1.00	43.22	
C									
ANISOU	299	CA	PHE A 275	5474	5466	5480	9	9	-42
C									
ATOM	300	CB	PHE A 275	4.673	30.013	-3.158	1.00	43.00	
C									
ANISOU	300	CB	PHE A 275	5486	5398	5452	2	15	-33
C									
ATOM	301	CG	PHE A 275	6.166	30.040	-3.246	1.00	43.42	
C									
ANISOU	301	CG	PHE A 275	5474	5474	5547	30	-1	-25
C									
ATOM	302	CD1	PHE A 275	6.929	30.554	-2.193	1.00	42.75	
C									
ANISOU	302	CD1	PHE A 275	5315	5360	5568	9	-25	-65
C									
ATOM	303	CE1	PHE A 275	8.322	30.570	-2.263	1.00	42.60	
C									
ANISOU	303	CE1	PHE A 275	5337	5322	5527	-92	-56	14
C									
ATOM	304	CZ	PHE A 275	8.962	30.062	-3.392	1.00	42.99	
C									
ANISOU	304	CZ	PHE A 275	5390	5492	5450	-41	-24	-57
C									
ATOM	305	CE2	PHE A 275	8.208	29.543	-4.459	1.00	43.86	
C									
ANISOU	305	CE2	PHE A 275	5445	5657	5560	-71	26	-48
C									
ATOM	306	CD2	PHE A 275	6.818	29.538	-4.379	1.00	43.43	
C									
ANISOU	306	CD2	PHE A 275	5481	5591	5428	9	-44	3
C									
ATOM	307	C	PHE A 275	2.544	30.902	-4.001	1.00	43.40	
C									
ANISOU	307	C	PHE A 275	5526	5484	5479	-33	19	-47

C										
ATOM	308	O	PHE	A	275	1.750	30.906	-3.046	1.00	44.16
O										
ANISOU	308	O	PHE	A	275	5666	5605	5505	-26	30 -41
O										
ATOM	309	N	ASN	A	276	2.177	30.660	-5.252	1.00	43.24
N										
ANISOU	309	N	ASN	A	276	5500	5462	5466	-18	42 -22
N										
ATOM	310	CA	ASN	A	276	0.890	30.052	-5.539	1.00	43.32
C										
ANISOU	310	CA	ASN	A	276	5497	5427	5532	-7	31 -42
C										
ATOM	311	CB	ASN	A	276	0.089	30.864	-6.573	1.00	42.83
C										
ANISOU	311	CB	ASN	A	276	5423	5396	5453	32	70 -1
C										
ATOM	312	CG	ASN	A	276	-0.109	32.337	-6.171	1.00	43.44
C										
ANISOU	312	CG	ASN	A	276	5519	5499	5487	9	9 -16
C										
ATOM	313	OD1	ASN	A	276	-0.722	33.112	-6.918	1.00	44.20
O										
ANISOU	313	OD1	ASN	A	276	5682	5657	5455	-11	91 56
O										
ATOM	314	ND2	ASN	A	276	0.392	32.724	-4.997	1.00	44.64
N										
ANISOU	314	ND2	ASN	A	276	5694	5621	5644	84	-43 23
N										
ATOM	315	C	ASN	A	276	1.193	28.629	-6.021	1.00	43.23
C										
ANISOU	315	C	ASN	A	276	5471	5387	5567	12	67 -36
C										
ATOM	316	O	ASN	A	276	2.271	28.381	-6.566	1.00	43.45
O										
ANISOU	316	O	ASN	A	276	5468	5431	5610	15	74 -38
O										
ATOM	317	N	TRP	A	277	0.261	27.703	-5.780	1.00	43.29
N										
ANISOU	317	N	TRP	A	277	5473	5373	5600	17	43 -43
N										
ATOM	318	CA	TRP	A	277	0.403	26.290	-6.173	1.00	42.95
C										
ANISOU	318	CA	TRP	A	277	5415	5377	5523	-6	0 -103
C										
ATOM	319	CB	TRP	A	277	0.758	25.397	-4.985	1.00	42.16
C										
ANISOU	319	CB	TRP	A	277	5263	5304	5451	28	-4 -65
C										
ATOM	320	CG	TRP	A	277	2.183	25.417	-4.469	1.00	42.99
C										
ANISOU	320	CG	TRP	A	277	5406	5401	5527	5	23 -87
C										
ATOM	321	CD1	TRP	A	277	2.657	26.129	-3.398	1.00	42.90
C										
ANISOU	321	CD1	TRP	A	277	5338	5415	5547	10	-15 -143
C										
ATOM	322	NE1	TRP	A	277	3.990	25.862	-3.194	1.00	43.36
N										
ANISOU	322	NE1	TRP	A	277	5319	5500	5653	-54	-62 -48
N										
ATOM	323	CE2	TRP	A	277	4.405	24.949	-4.125	1.00	42.25
C										

ANISOU C	323	CE2	TRP	A	277	5236	5343	5471	68	39	-134
ATOM C	324	CD2	TRP	A	277	3.289	24.634	-4.943	1.00	42.84	
ANISOU C	324	CD2	TRP	A	277	5364	5403	5509	30	27	-96
ATOM C	325	CE3	TRP	A	277	3.455	23.715	-5.991	1.00	43.02	
ANISOU C	325	CE3	TRP	A	277	5359	5403	5582	49	-27	-100
ATOM C	326	CZ3	TRP	A	277	4.717	23.141	-6.186	1.00	42.65	
ANISOU C	326	CZ3	TRP	A	277	5369	5373	5462	-37	-12	-164
ATOM C	327	CH2	TRP	A	277	5.801	23.471	-5.354	1.00	42.95	
ANISOU C	327	CH2	TRP	A	277	5324	5462	5533	8	-25	-87
ATOM C	328	CZ2	TRP	A	277	5.668	24.376	-4.322	1.00	43.40	
ANISOU C	328	CZ2	TRP	A	277	5423	5476	5590	-13	-3	-46
ATOM C	329	C	TRP	A	277	-0.922	25.793	-6.720	1.00	42.96	
ANISOU C	329	C	TRP	A	277	5381	5417	5524	9	0	-104
ATOM O	330	O	TRP	A	277	-1.978	26.129	-6.192	1.00	43.23	
ANISOU O	330	O	TRP	A	277	5408	5439	5576	-15	-28	-119
ATOM N	331	N	TYR	A	278	-0.842	24.965	-7.754	1.00	42.84	
ANISOU N	331	N	TYR	A	278	5366	5431	5478	38	-13	-101
ATOM C	332	CA	TYR	A	278	-1.988	24.432	-8.471	1.00	42.52	
ANISOU C	332	CA	TYR	A	278	5338	5365	5451	19	-12	-52
ATOM C	333	CB	TYR	A	278	-2.247	25.265	-9.746	1.00	43.43	
ANISOU C	333	CB	TYR	A	278	5419	5517	5565	0	-11	-30
ATOM C	334	CG	TYR	A	278	-2.307	26.769	-9.500	1.00	44.08	
ANISOU C	334	CG	TYR	A	278	5578	5473	5695	8	54	0
ATOM C	335	CD1	TYR	A	278	-1.140	27.535	-9.452	1.00	43.87	
ANISOU C	335	CD1	TYR	A	278	5454	5517	5694	19	-5	-65
ATOM C	336	CE1	TYR	A	278	-1.177	28.900	-9.228	1.00	44.77	
ANISOU C	336	CE1	TYR	A	278	5712	5565	5732	0	-41	-53
ATOM C	337	CZ	TYR	A	278	-2.395	29.528	-9.019	1.00	44.46	
ANISOU C	337	CZ	TYR	A	278	5561	5435	5893	3	-8	-83
ATOM O	338	OH	TYR	A	278	-2.429	30.889	-8.788	1.00	45.34	
ANISOU O	338	OH	TYR	A	278	5756	5539	5929	47	81	-4
ATOM	339	CE2	TYR	A	278	-3.575	28.797	-9.047	1.00	46.00	

C											
ANISOU	339	CE2	TYR	A	278	5736	5868	5872	2	3	28
C											
ATOM	340	CD2	TYR	A	278	-3.525	27.416	-9.291	1.00	44.42	
C											
ANISOU	340	CD2	TYR	A	278	5603	5446	5827	91	-7	-3
C											
ATOM	341	C	TYR	A	278	-1.705	22.978	-8.845	1.00	42.48	
C											
ANISOU	341	C	TYR	A	278	5350	5371	5416	-2	-44	-14
C											
ATOM	342	O	TYR	A	278	-0.649	22.659	-9.386	1.00	42.02	
O											
ANISOU	342	O	TYR	A	278	5346	5257	5361	43	-47	-56
O											
ATOM	343	N	VAL	A	279	-2.658	22.100	-8.551	1.00	42.92	
N											
ANISOU	343	N	VAL	A	279	5472	5419	5416	-5	-44	20
N											
ATOM	344	CA	VAL	A	279	-2.610	20.701	-8.983	1.00	42.90	
C											
ANISOU	344	CA	VAL	A	279	5447	5421	5431	20	-27	-3
C											
ATOM	345	CB	VAL	A	279	-2.902	19.744	-7.795	1.00	42.52	
C											
ANISOU	345	CB	VAL	A	279	5413	5380	5362	33	-38	-9
C											
ATOM	346	CG1	VAL	A	279	-2.993	18.320	-8.244	1.00	41.55	
C											
ANISOU	346	CG1	VAL	A	279	5177	5298	5311	13	-94	26
C											
ATOM	347	CG2	VAL	A	279	-1.824	19.896	-6.731	1.00	42.94	
C											
ANISOU	347	CG2	VAL	A	279	5406	5427	5483	79	6	17
C											
ATOM	348	C	VAL	A	279	-3.633	20.546	-10.115	1.00	43.47	
C											
ANISOU	348	C	VAL	A	279	5510	5501	5503	-5	-32	-11
C											
ATOM	349	O	VAL	A	279	-4.840	20.532	-9.876	1.00	43.83	
O											
ANISOU	349	O	VAL	A	279	5537	5526	5589	-14	-44	-13
O											
ATOM	350	N	ASP	A	280	-3.133	20.472	-11.348	1.00	43.97	
N											
ANISOU	350	N	ASP	A	280	5575	5537	5591	11	-28	-30
N											
ATOM	351	CA	ASP	A	280	-3.963	20.499	-12.557	1.00	44.09	
C											
ANISOU	351	CA	ASP	A	280	5575	5525	5649	5	-64	-42
C											
ATOM	352	CB	ASP	A	280	-4.869	19.252	-12.634	1.00	44.22	
C											
ANISOU	352	CB	ASP	A	280	5608	5545	5645	17	-30	9
C											
ATOM	353	CG	ASP	A	280	-4.151	18.026	-13.197	1.00	43.82	
C											
ANISOU	353	CG	ASP	A	280	5606	5434	5609	-22	-32	-26
C											
ATOM	354	OD1	ASP	A	280	-3.283	18.156	-14.086	1.00	43.76	
O											
ANISOU	354	OD1	ASP	A	280	5538	5390	5698	-27	32	-141
O											

180 / 279

ATOM	355	OD2	ASP	A	280	-4.474	16.915	-12.756	1.00	43.89
O										
ANISOU	355	OD2	ASP	A	280	5597	5469	5609	-7	1 -1
O										
ATOM	356	C	ASP	A	280	-4.786	21.799	-12.756	1.00	44.61
C										
ANISOU	356	C	ASP	A	280	5619	5577	5751	16	-59 -63
C										
ATOM	357	O	ASP	A	280	-5.887	21.761	-13.314	1.00	45.34
O										
ANISOU	357	O	ASP	A	280	5661	5665	5897	54	-94 -85
O										
ATOM	358	N	GLY	A	281	-4.254	22.941	-12.318	1.00	44.62
N										
ANISOU	358	N	GLY	A	281	5615	5564	5774	9	-33 -63
N										
ATOM	359	CA	GLY	A	281	-4.920	24.239	-12.522	1.00	43.93
C										
ANISOU	359	CA	GLY	A	281	5546	5506	5639	43	-15 -9
C										
ATOM	360	C	GLY	A	281	-5.889	24.672	-11.425	1.00	44.05
C										
ANISOU	360	C	GLY	A	281	5544	5513	5679	30	-12 3
C										
ATOM	361	O	GLY	A	281	-6.548	25.727	-11.535	1.00	44.55
O										
ANISOU	361	O	GLY	A	281	5577	5596	5754	17	20 -60
O										
ATOM	362	N	VAL	A	282	-5.968	23.871	-10.367	1.00	43.31
N										
ANISOU	362	N	VAL	A	282	5472	5421	5561	14	-8 19
N										
ATOM	363	CA	VAL	A	282	-6.851	24.121	-9.241	1.00	43.04
C										
ANISOU	363	CA	VAL	A	282	5464	5380	5508	26	-25 -11
C										
ATOM	364	CB	VAL	A	282	-7.691	22.860	-8.916	1.00	43.44
C										
ANISOU	364	CB	VAL	A	282	5511	5459	5536	37	4 -16
C										
ATOM	365	CG1	VAL	A	282	-8.661	23.101	-7.753	1.00	44.12
C										
ANISOU	365	CG1	VAL	A	282	5583	5557	5621	14	21 -60
C										
ATOM	366	CG2	VAL	A	282	-8.442	22.350	-10.169	1.00	42.54
C										
ANISOU	366	CG2	VAL	A	282	5348	5334	5481	10	-71 16
C										
ATOM	367	C	VAL	A	282	-5.948	24.480	-8.073	1.00	43.28
C										
ANISOU	367	C	VAL	A	282	5520	5394	5528	31	-9 0
C										
ATOM	368	O	VAL	A	282	-4.938	23.807	-7.830	1.00	43.32
O										
ANISOU	368	O	VAL	A	282	5586	5392	5480	-4	-7 0
O										
ATOM	369	N	GLU	A	283	-6.269	25.552	-7.361	1.00	43.39
N										
ANISOU	369	N	GLU	A	283	5533	5428	5524	46	-30 -15
N										
ATOM	370	CA	GLU	A	283	-5.332	26.039	-6.359	1.00	43.99
C										
ANISOU	370	CA	GLU	A	283	5588	5513	5614	39	-27 -44

C										
ATOM	371	CB	GLU	A	283	-5.541	27.527	-6.015	1.00	44.14
C										
ANISOU	371	CB	GLU	A	283	5616	5518	5637	22	-32 -77
C										
ATOM	372	CG	GLU	A	283	-4.233	28.237	-5.566	1.00	45.14
C										
ANISOU	372	CG	GLU	A	283	5698	5626	5824	1	-30 -88
C										
ATOM	373	CD	GLU	A	283	-4.371	29.755	-5.272	1.00	45.52
C										
ANISOU	373	CD	GLU	A	283	5808	5640	5847	63	-22 -79
C										
ATOM	374	OE1	GLU	A	283	-5.169	30.449	-5.936	1.00	45.98
O										
ANISOU	374	OE1	GLU	A	283	5903	5748	5817	168	-129 -128
O										
ATOM	375	OE2	GLU	A	283	-3.643	30.256	-4.381	1.00	45.87
O										
ANISOU	375	OE2	GLU	A	283	5852	5692	5885	80	-99 -213
O										
ATOM	376	C	GLU	A	283	-5.379	25.129	-5.137	1.00	43.97
C										
ANISOU	376	C	GLU	A	283	5562	5548	5597	37	-9 -38
C										
ATOM	377	O	GLU	A	283	-6.407	24.499	-4.844	1.00	44.59
O										
ANISOU	377	O	GLU	A	283	5634	5595	5712	35	51 -49
O										
ATOM	378	N	VAL	A	284	-4.236	24.998	-4.479	1.00	43.75
N										
ANISOU	378	N	VAL	A	284	5529	5540	5552	44	-36 -57
N										
ATOM	379	CA	VAL	A	284	-4.120	24.176	-3.273	1.00	43.31
C										
ANISOU	379	CA	VAL	A	284	5511	5464	5480	32	-24 -78
C										
ATOM	380	CB	VAL	A	284	-3.476	22.788	-3.586	1.00	43.18
C										
ANISOU	380	CB	VAL	A	284	5470	5449	5488	12	-27 -98
C										
ATOM	381	CG1	VAL	A	284	-4.052	22.210	-4.898	1.00	43.69
C										
ANISOU	381	CG1	VAL	A	284	5545	5529	5525	52	-3 -77
C										
ATOM	382	CG2	VAL	A	284	-1.955	22.880	-3.689	1.00	42.77
C										
ANISOU	382	CG2	VAL	A	284	5474	5424	5350	28	-8 -121
C										
ATOM	383	C	VAL	A	284	-3.295	25.000	-2.284	1.00	43.29
C										
ANISOU	383	C	VAL	A	284	5540	5456	5451	58	2 -99
C										
ATOM	384	O	VAL	A	284	-2.599	25.934	-2.685	1.00	43.04
O										
ANISOU	384	O	VAL	A	284	5517	5406	5431	65	12 -172
O										
ATOM	385	N	HIS	A	285	-3.359	24.658	-1.005	1.00	43.83
N										
ANISOU	385	N	HIS	A	285	5611	5536	5504	66	-17 -98
N										
ATOM	386	CA	HIS	A	285	-2.861	25.567	0.027	1.00	44.27
C										

182 / 279

ANISOU	386	CA	HIS	A	285	5668	5587	5565	87	-30	-55
C											
ATOM	387	CB	HIS	A	285	-4.050	26.282	0.698	1.00	44.73	
C											
ANISOU	387	CB	HIS	A	285	5756	5646	5593	75	-33	-36
C											
ATOM	388	CG	HIS	A	285	-4.976	26.958	-0.275	1.00	44.92	
C											
ANISOU	388	CG	HIS	A	285	5649	5723	5694	77	-25	-31
C											
ATOM	389	ND1	HIS	A	285	-4.656	28.136	-0.918	1.00	44.58	
N											
ANISOU	389	ND1	HIS	A	285	5612	5609	5716	66	-65	-20
N											
ATOM	390	CE1	HIS	A	285	-5.646	28.483	-1.724	1.00	45.27	
C											
ANISOU	390	CE1	HIS	A	285	5786	5744	5667	95	17	-124
C											
ATOM	391	NE2	HIS	A	285	-6.598	27.573	-1.625	1.00	43.43	
N											
ANISOU	391	NE2	HIS	A	285	5469	5597	5434	28	51	-17
N											
ATOM	392	CD2	HIS	A	285	-6.199	26.603	-0.735	1.00	44.79	
C											
ANISOU	392	CD2	HIS	A	285	5612	5701	5703	19	85	-129
C											
ATOM	393	C	HIS	A	285	-1.950	24.866	1.049	1.00	44.64	
C											
ANISOU	393	C	HIS	A	285	5770	5605	5584	68	-24	-62
C											
ATOM	394	O	HIS	A	285	-1.415	25.503	1.966	1.00	44.57	
O											
ANISOU	394	O	HIS	A	285	5789	5585	5561	88	-2	-76
O											
ATOM	395	N	ASN	A	286	-1.729	23.565	0.843	1.00	44.50	
N											
ANISOU	395	N	ASN	A	286	5789	5535	5584	80	-9	-57
N											
ATOM	396	CA	ASN	A	286	-0.962	22.747	1.781	1.00	44.26	
C											
ANISOU	396	CA	ASN	A	286	5730	5533	5553	67	-12	-83
C											
ATOM	397	CB	ASN	A	286	-1.450	21.295	1.735	1.00	44.27	
C											
ANISOU	397	CB	ASN	A	286	5748	5527	5545	38	6	-34
C											
ATOM	398	CG	ASN	A	286	-1.216	20.635	0.373	1.00	44.25	
C											
ANISOU	398	CG	ASN	A	286	5821	5469	5519	47	-24	-56
C											
ATOM	399	OD1	ASN	A	286	-1.410	21.255	-0.676	1.00	43.91	
O											
ANISOU	399	OD1	ASN	A	286	5808	5508	5364	5	-68	-229
O											
ATOM	400	ND2	ASN	A	286	-0.803	19.376	0.391	1.00	44.62	
N											
ANISOU	400	ND2	ASN	A	286	5770	5592	5590	125	0	-53
N											
ATOM	401	C	ASN	A	286	0.568	22.816	1.625	1.00	44.26	
C											
ANISOU	401	C	ASN	A	286	5738	5529	5547	68	-18	-77
C											
ATOM	402	O	ASN	A	286	1.286	22.107	2.322	1.00	45.01	

O										
ANISOU	402	O	ASN A 286	5800	5597	5702	141	-25	-4	
O										
ATOM	403	N	ALA A 287	1.077	23.681	0.750	1.00	43.66		
N										
ANISOU	403	N	ALA A 287	5666	5502	5421	51	-13	-117	
N										
ATOM	404	CA	ALA A 287	2.530	23.836	0.631	1.00	43.65		
C										
ANISOU	404	CA	ALA A 287	5588	5531	5464	78	-35	-99	
C										
ATOM	405	CB	ALA A 287	2.881	24.633	-0.594	1.00	43.62		
C										
ANISOU	405	CB	ALA A 287	5586	5509	5477	102	-29	-107	
C										
ATOM	406	C	ALA A 287	3.178	24.463	1.879	1.00	43.97		
C										
ANISOU	406	C	ALA A 287	5604	5597	5503	92	-43	-106	
C										
ATOM	407	O	ALA A 287	2.539	25.238	2.598	1.00	43.85		
O										
ANISOU	407	O	ALA A 287	5569	5635	5454	105	-67	-115	
O										
ATOM	408	N	LYS A 288	4.453	24.128	2.104	1.00	44.17		
N										
ANISOU	408	N	LYS A 288	5627	5595	5558	72	-23	-103	
N										
ATOM	409	CA	LYS A 288	5.217	24.563	3.272	1.00	44.18		
C										
ANISOU	409	CA	LYS A 288	5625	5588	5572	29	-45	-99	
C										
ATOM	410	CB	LYS A 288	5.689	23.352	4.080	1.00	44.81		
C										
ANISOU	410	CB	LYS A 288	5699	5701	5626	40	-42	-150	
C										
ATOM	411	CG	LYS A 288	4.593	22.555	4.792	1.00	46.48		
C										
ANISOU	411	CG	LYS A 288	5865	5903	5892	-76	11	-29	
C										
ATOM	412	CD	LYS A 288	4.200	23.232	6.110	1.00	49.09		
C										
ANISOU	412	CD	LYS A 288	6127	6301	6221	-126	134	-75	
C										
ATOM	413	CE	LYS A 288	2.938	22.633	6.718	1.00	52.04		
C										
ANISOU	413	CE	LYS A 288	6488	6709	6575	43	-23	-39	
C										
ATOM	414	NZ	LYS A 288	1.723	22.869	5.865	1.00	52.37		
N										
ANISOU	414	NZ	LYS A 288	6568	6732	6598	74	-80	19	
N										
ATOM	415	C	LYS A 288	6.420	25.342	2.794	1.00	44.20		
C										
ANISOU	415	C	LYS A 288	5613	5591	5587	58	-50	-120	
C										
ATOM	416	O	LYS A 288	7.391	24.752	2.339	1.00	44.44		
O										
ANISOU	416	O	LYS A 288	5687	5545	5650	97	-149	-161	
O										
ATOM	417	N	THR A 289	6.354	26.670	2.864	1.00	44.16		
N										
ANISOU	417	N	THR A 289	5601	5569	5607	51	-24	-106	
N										

ATOM	418	CA	THR	A	289	7.461	27.508	2.418	1.00	44.15	
C											
ANISOU	418	CA	THR	A	289	5612	5539	5620	39	5	-85
C											
ATOM	419	CB	THR	A	289	6.970	28.884	1.928	1.00	44.07	
C											
ANISOU	419	CB	THR	A	289	5583	5531	5628	43	0	-85
C											
ATOM	420	OG1	THR	A	289	5.785	28.708	1.148	1.00	44.05	
O											
ANISOU	420	OG1	THR	A	289	5591	5462	5685	41	30	-182
O											
ATOM	421	CG2	THR	A	289	8.017	29.571	1.057	1.00	43.05	
C											
ANISOU	421	CG2	THR	A	289	5481	5379	5495	32	70	-140
C											
ATOM	422	C	THR	A	289	8.492	27.654	3.538	1.00	44.68	
C											
ANISOU	422	C	THR	A	289	5698	5604	5673	42	1	-63
C											
ATOM	423	O	THR	A	289	8.134	27.775	4.699	1.00	44.31	
O											
ANISOU	423	O	THR	A	289	5702	5521	5612	66	10	-51
O											
ATOM	424	N	LYS	A	290	9.774	27.609	3.180	1.00	45.81	
N											
ANISOU	424	N	LYS	A	290	5825	5733	5846	14	-29	-52
N											
ATOM	425	CA	LYS	A	290	10.851	27.684	4.165	1.00	46.81	
C											
ANISOU	425	CA	LYS	A	290	5945	5856	5982	13	-25	-36
C											
ATOM	426	CB	LYS	A	290	12.115	26.942	3.676	1.00	47.41	
C											
ANISOU	426	CB	LYS	A	290	6028	5957	6026	13	4	-53
C											
ATOM	427	CG	LYS	A	290	11.847	25.624	2.921	1.00	48.57	
C											
ANISOU	427	CG	LYS	A	290	6220	6021	6211	-2	67	-25
C											
ATOM	428	CD	LYS	A	290	11.104	24.615	3.765	1.00	51.96	
C											
ANISOU	428	CD	LYS	A	290	6717	6409	6614	73	185	3
C											
ATOM	429	CE	LYS	A	290	9.953	24.034	2.979	1.00	49.11	
C											
ANISOU	429	CE	LYS	A	290	6138	6223	6296	-248	15	22
C											
ATOM	430	NZ	LYS	A	290	9.085	23.115	3.801	1.00	53.79	
N											
ANISOU	430	NZ	LYS	A	290	6802	6907	6729	208	-33	-113
N											
ATOM	431	C	LYS	A	290	11.172	29.147	4.440	1.00	46.84	
C											
ANISOU	431	C	LYS	A	290	5963	5877	5957	0	-26	-24
C											
ATOM	432	O	LYS	A	290	11.011	29.996	3.549	1.00	47.40	
O											
ANISOU	432	O	LYS	A	290	5986	5914	6109	0	-16	-3
O											
ATOM	433	N	PRO	A	291	11.592	29.457	5.681	1.00	46.94	
N											
ANISOU	433	N	PRO	A	291	5985	5900	5950	-14	-59	-1

N										
ATOM	434	CA	PRO	A	291	12.091	30.804	5.994	1.00	46.84
C										
ANISOU	434	CA	PRO	A	291	5974	5891	5931	-18	-52 -2
C										
ATOM	435	CB	PRO	A	291	12.554	30.682	7.462	1.00	46.82
C										
ANISOU	435	CB	PRO	A	291	5971	5895	5921	-11	-80 -5
C										
ATOM	436	CG	PRO	A	291	12.624	29.199	7.753	1.00	46.92
C										
ANISOU	436	CG	PRO	A	291	6015	5881	5931	-28	-125 7
C										
ATOM	437	CD	PRO	A	291	11.585	28.578	6.870	1.00	47.19
C										
ANISOU	437	CD	PRO	A	291	6015	5909	6005	-25	-71 32
C										
ATOM	438	C	PRO	A	291	13.261	31.147	5.075	1.00	46.64
C										
ANISOU	438	C	PRO	A	291	5925	5886	5910	5	-30 -4
C										
ATOM	439	O	PRO	A	291	14.133	30.296	4.863	1.00	47.04
O										
ANISOU	439	O	PRO	A	291	5987	5882	6001	31	-44 -33
O										
ATOM	440	N	ARG	A	292	13.264	32.364	4.520	1.00	46.46
N										
ANISOU	440	N	ARG	A	292	5884	5850	5915	18	-40 -33
N										
ATOM	441	CA	ARG	A	292	14.214	32.738	3.462	1.00	46.02
C										
ANISOU	441	CA	ARG	A	292	5853	5808	5821	13	-28 -46
C										
ATOM	442	CB	ARG	A	292	13.794	34.046	2.798	1.00	46.45
C										
ANISOU	442	CB	ARG	A	292	5904	5847	5896	2	-27 -71
C										
ATOM	443	CG	ARG	A	292	13.611	35.259	3.741	1.00	47.04
C										
ANISOU	443	CG	ARG	A	292	6025	5960	5886	9	-27 -61
C										
ATOM	444	CD	ARG	A	292	13.483	36.560	2.938	1.00	47.13
C										
ANISOU	444	CD	ARG	A	292	6000	5923	5984	-61	-73 -30
C										
ATOM	445	NE	ARG	A	292	12.698	37.551	3.667	1.00	47.83
N										
ANISOU	445	NE	ARG	A	292	6097	5602	6472	-52	16 -335
N										
ATOM	446	CZ	ARG	A	292	13.127	38.770	4.014	1.00	57.33
C										
ANISOU	446	CZ	ARG	A	292	7795	7019	6967	93	-377 229
C										
ATOM	447	NH1	ARG	A	292	14.348	39.183	3.676	1.00	49.57
N										
ANISOU	447	NH1	ARG	A	292	5617	6420	6794	-337	306 19
N										
ATOM	448	NH2	ARG	A	292	12.320	39.589	4.688	1.00	48.78
N										
ANISOU	448	NH2	ARG	A	292	5976	6056	6501	282	328 -326
N										
ATOM	449	C	ARG	A	292	15.654	32.829	3.962	1.00	46.46
C										

186 / 279

ANISOU C	449	C	ARG A 292	5866	5923	5862	7	-4	-68
ATOM O	450	O	ARG A 292	15.881	33.227	5.111	1.00	46.71	
ANISOU O	450	O	ARG A 292	5920	5996	5831	8	24	-119
ATOM N	451	N	GLU A 293	16.617	32.446	3.108	1.00	46.36	
ANISOU N	451	N	GLU A 293	5854	5928	5831	24	-8	-73
ATOM C	452	CA	GLU A 293	18.053	32.436	3.465	1.00	46.15	
ANISOU C	452	CA	GLU A 293	5799	5867	5867	0	-8	-62
ATOM C	453	CB	GLU A 293	18.639	31.019	3.384	1.00	46.12	
ANISOU C	453	CB	GLU A 293	5824	5830	5866	1	-58	0
ATOM C	454	CG	GLU A 293	17.798	29.901	3.963	1.00	47.34	
ANISOU C	454	CG	GLU A 293	5940	5960	6085	-28	-21	-38
ATOM C	455	CD	GLU A 293	18.535	28.556	3.942	1.00	47.14	
ANISOU C	455	CD	GLU A 293	5934	5957	6020	39	-105	-55
ATOM O	456	OE1	GLU A 293	19.338	28.315	4.865	1.00	49.59	
ANISOU O	456	OE1	GLU A 293	6438	6317	6085	42	-160	10
ATOM O	457	OE2	GLU A 293	18.316	27.742	3.006	1.00	48.92	
ANISOU O	457	OE2	GLU A 293	6228	6211	6148	-49	-12	-85
ATOM C	458	C	GLU A 293	18.833	33.336	2.514	1.00	45.36	
ANISOU C	458	C	GLU A 293	5761	5721	5752	-18	-34	-35
ATOM O	459	O	GLU A 293	18.457	33.457	1.355	1.00	45.82	
ANISOU O	459	O	GLU A 293	5815	5803	5791	-15	0	-122
ATOM N	460	N	GLU A 294	19.926	33.938	2.994	1.00	45.28	
ANISOU N	460	N	GLU A 294	5733	5714	5756	-18	-2	-11
ATOM C	461	CA	GLU A 294	20.712	34.932	2.222	1.00	44.87	
ANISOU C	461	CA	GLU A 294	5685	5636	5725	-25	-11	-35
ATOM C	462	CB	GLU A 294	21.091	36.145	3.107	1.00	44.81	
ANISOU C	462	CB	GLU A 294	5705	5615	5706	-20	-7	-42
ATOM C	463	CG	GLU A 294	21.392	37.439	2.323	1.00	44.23	
ANISOU C	463	CG	GLU A 294	5601	5551	5653	-69	-25	-17
ATOM C	464	CD	GLU A 294	22.111	38.531	3.140	1.00	44.89	
ANISOU C	464	CD	GLU A 294	5751	5638	5664	-73	2	-26
ATOM	465	OE1	GLU A 294	22.680	39.462	2.517	1.00	44.05	

O										
ANISOU	465	OE1	GLU	A	294	5729	5440	5566	-143	73 -204
O										
ATOM	466	OE2	GLU	A	294	22.116	38.473	4.393	1.00	46.43
O										
ANISOU	466	OE2	GLU	A	294	5939	5975	5726	-261	-49 46
O										
ATOM	467	C	GLU	A	294	21.976	34.325	1.586	1.00	44.97
C										
ANISOU	467	C	GLU	A	294	5700	5636	5749	-24	-23 -39
C										
ATOM	468	O	GLU	A	294	22.738	33.611	2.247	1.00	45.23
O										
ANISOU	468	O	GLU	A	294	5722	5641	5823	4	-34 -91
O										
ATOM	469	N	GLN	A	295	22.211	34.628	0.315	1.00	45.12
N										
ANISOU	469	N	GLN	A	295	5687	5686	5771	-24	0 -36
N										
ATOM	470	CA	GLN	A	295	23.288	33.972	-0.424	1.00	45.81
C										
ANISOU	470	CA	GLN	A	295	5768	5739	5898	0	-23 -34
C										
ATOM	471	CB	GLN	A	295	22.770	33.466	-1.772	1.00	45.40
C										
ANISOU	471	CB	GLN	A	295	5746	5699	5802	14	-9 -34
C										
ATOM	472	CG	GLN	A	295	21.458	32.654	-1.658	1.00	45.05
C										
ANISOU	472	CG	GLN	A	295	5671	5623	5819	25	-48 39
C										
ATOM	473	CD	GLN	A	295	21.627	31.319	-0.930	1.00	50.11
C										
ANISOU	473	CD	GLN	A	295	6357	6206	6473	-225	-440 -126
C										
ATOM	474	OE1	GLN	A	295	22.456	30.493	-1.319	1.00	46.51
O										
ANISOU	474	OE1	GLN	A	295	5639	5846	6183	244	39 -244
O										
ATOM	475	NE2	GLN	A	295	20.831	31.098	0.119	1.00	44.53
N										
ANISOU	475	NE2	GLN	A	295	5399	5954	5566	-128	161 -70
N										
ATOM	476	C	GLN	A	295	24.555	34.838	-0.580	1.00	46.43
C										
ANISOU	476	C	GLN	A	295	5854	5802	5984	26	12 5
C										
ATOM	477	O	GLN	A	295	24.486	36.076	-0.703	1.00	47.58
O										
ANISOU	477	O	GLN	A	295	6015	5902	6161	59	10 -25
O										
ATOM	478	N	TYR	A	296	25.714	34.187	-0.561	1.00	46.40
N										
ANISOU	478	N	TYR	A	296	5836	5823	5968	44	40 12
N										
ATOM	479	CA	TYR	A	296	26.988	34.887	-0.681	1.00	46.22
C										
ANISOU	479	CA	TYR	A	296	5850	5807	5904	6	0 -13
C										
ATOM	480	CB	TYR	A	296	28.136	33.947	-0.299	1.00	46.54
C										
ANISOU	480	CB	TYR	A	296	5879	5805	5997	11	21 -4
C										

ATOM	481	CG	TYR	A	296	28.369	33.809	1.199	1.00	46.10	
C											
ANISOU	481	CG	TYR	A	296	5899	5814	5802	-12	36	13
C											
ATOM	482	CD1	TYR	A	296	27.454	33.149	2.015	1.00	46.85	
C											
ANISOU	482	CD1	TYR	A	296	5952	5814	6034	41	56	-47
C											
ATOM	483	CE1	TYR	A	296	27.676	33.022	3.393	1.00	47.39	
C											
ANISOU	483	CE1	TYR	A	296	6047	6058	5900	5	-74	8
C											
ATOM	484	CZ	TYR	A	296	28.836	33.551	3.951	1.00	46.56	
C											
ANISOU	484	CZ	TYR	A	296	5965	5924	5799	-82	4	31
C											
ATOM	485	OH	TYR	A	296	29.080	33.427	5.309	1.00	47.47	
O											
ANISOU	485	OH	TYR	A	296	6193	5903	5937	-47	-8	-40
O											
ATOM	486	CE2	TYR	A	296	29.756	34.202	3.145	1.00	47.62	
C											
ANISOU	486	CE2	TYR	A	296	5995	5884	6215	36	51	-59
C											
ATOM	487	CD2	TYR	A	296	29.520	34.324	1.786	1.00	45.57	
C											
ANISOU	487	CD2	TYR	A	296	5830	5826	5658	6	-68	15
C											
ATOM	488	C	TYR	A	296	27.193	35.501	-2.083	1.00	46.49	
C											
ANISOU	488	C	TYR	A	296	5907	5803	5951	6	-4	3
C											
ATOM	489	O	TYR	A	296	28.292	35.440	-2.666	1.00	46.50	
O											
ANISOU	489	O	TYR	A	296	5897	5779	5989	-14	-14	-11
O											
ATOM	490	N	ASN	A	297	26.119	36.064	-2.631	1.00	46.88	
N											
ANISOU	490	N	ASN	A	297	5965	5855	5991	17	-15	-17
N											
ATOM	491	CA	ASN	A	297	26.216	36.949	-3.792	1.00	47.71	
C											
ANISOU	491	CA	ASN	A	297	6085	5986	6055	26	-38	-12
C											
ATOM	492	CB	ASN	A	297	26.142	36.169	-5.117	1.00	48.85	
C											
ANISOU	492	CB	ASN	A	297	6260	6139	6160	64	0	-11
C											
ATOM	493	CG	ASN	A	297	24.947	35.221	-5.195	1.00	50.92	
C											
ANISOU	493	CG	ASN	A	297	6460	6440	6445	-63	58	-1
C											
ATOM	494	OD1	ASN	A	297	24.216	35.028	-4.220	1.00	52.42	
O											
ANISOU	494	OD1	ASN	A	297	6674	6584	6659	87	34	-103
O											
ATOM	495	ND2	ASN	A	297	24.768	34.605	-6.370	1.00	56.08	
N											
ANISOU	495	ND2	ASN	A	297	7171	7114	7021	-39	-31	-25
N											
ATOM	496	C	ASN	A	297	25.188	38.088	-3.729	1.00	47.37	
C											
ANISOU	496	C	ASN	A	297	6034	5962	6003	2	-36	-28

C									
ATOM	497	O	ASN A 297	24.879	38.733	-4.748	1.00	47.54	
O									
ANISOU	497	O	ASN A 297	6064	5970	6028	-37	-68	-27
O									
ATOM	498	N	SER A 298	24.679	38.332	-2.516	1.00	47.02	
N									
ANISOU	498	N	SER A 298	5921	5925	6017	5	-15	-17
N									
ATOM	499	CA	SER A 298	23.797	39.477	-2.220	1.00	46.71	
C									
ANISOU	499	CA	SER A 298	5868	5873	6005	-26	-29	0
C									
ATOM	500	CB	SER A 298	24.415	40.801	-2.693	1.00	46.68	
C									
ANISOU	500	CB	SER A 298	5861	5857	6015	-11	-30	45
C									
ATOM	501	OG	SER A 298	25.715	40.961	-2.150	1.00	48.13	
O									
ANISOU	501	OG	SER A 298	6019	6020	6244	-95	-25	-12
O									
ATOM	502	C	SER A 298	22.395	39.255	-2.792	1.00	46.18	
C									
ANISOU	502	C	SER A 298	5828	5812	5906	-33	-31	13
C									
ATOM	503	O	SER A 298	21.852	40.082	-3.545	1.00	46.36	
O									
ANISOU	503	O	SER A 298	5846	5850	5918	-31	-40	43
O									
ATOM	504	N	THR A 299	21.810	38.137	-2.365	1.00	45.58	
N									
ANISOU	504	N	THR A 299	5776	5728	5815	-47	-20	0
N									
ATOM	505	CA	THR A 299	20.634	37.558	-2.982	1.00	45.03	
C									
ANISOU	505	CA	THR A 299	5757	5632	5719	-42	-23	-30
C									
ATOM	506	CB	THR A 299	21.118	36.736	-4.229	1.00	45.29	
C									
ANISOU	506	CB	THR A 299	5793	5664	5749	-38	-58	-30
C									
ATOM	507	OG1	THR A 299	20.498	37.203	-5.433	1.00	46.45	
O									
ANISOU	507	OG1	THR A 299	5934	5743	5972	21	-92	-8
O									
ATOM	508	CG2	THR A 299	20.931	35.249	-4.066	1.00	45.09	
C									
ANISOU	508	CG2	THR A 299	5820	5677	5634	-42	-57	-34
C									
ATOM	509	C	THR A 299	19.994	36.667	-1.895	1.00	44.73	
C									
ANISOU	509	C	THR A 299	5717	5578	5700	-68	-31	-58
C									
ATOM	510	O	THR A 299	20.734	36.055	-1.103	1.00	44.52	
O									
ANISOU	510	O	THR A 299	5722	5570	5623	-99	-47	-90
O									
ATOM	511	N	TYR A 300	18.656	36.609	-1.809	1.00	44.50	
N									
ANISOU	511	N	TYR A 300	5713	5554	5640	-37	1	-53
N									
ATOM	512	CA	TYR A 300	18.007	35.534	-1.007	1.00	44.78	
C									

190 / 279

ANISOU	512	CA	TYR	A	300	5706	5632	5674	-53	22	-106
C											
ATOM	513	CB	TYR	A	300	16.841	36.048	-0.117	1.00	45.79	
C											
ANISOU	513	CB	TYR	A	300	5829	5719	5847	-42	30	-116
C											
ATOM	514	CG	TYR	A	300	17.195	37.233	0.822	1.00	47.96	
C											
ANISOU	514	CG	TYR	A	300	6051	6119	6052	4	19	-11
C											
ATOM	515	CD1	TYR	A	300	17.216	38.547	0.337	1.00	46.79	
C											
ANISOU	515	CD1	TYR	A	300	6033	5674	6069	-83	-3	-132
C											
ATOM	516	CE1	TYR	A	300	17.531	39.614	1.158	1.00	47.40	
C											
ANISOU	516	CE1	TYR	A	300	6116	6018	5876	-35	4	-148
C											
ATOM	517	CZ	TYR	A	300	17.834	39.387	2.495	1.00	47.96	
C											
ANISOU	517	CZ	TYR	A	300	6083	6090	6048	47	-15	45
C											
ATOM	518	OH	TYR	A	300	18.148	40.465	3.318	1.00	46.29	
O											
ANISOU	518	OH	TYR	A	300	6171	5754	5662	-44	-150	-180
O											
ATOM	519	CE2	TYR	A	300	17.804	38.096	3.006	1.00	47.39	
C											
ANISOU	519	CE2	TYR	A	300	6071	5825	6109	49	-44	-39
C											
ATOM	520	CD2	TYR	A	300	17.490	37.029	2.170	1.00	46.41	
C											
ANISOU	520	CD2	TYR	A	300	5977	5849	5807	-92	-119	-95
C											
ATOM	521	C	TYR	A	300	17.585	34.279	-1.817	1.00	44.23	
C											
ANISOU	521	C	TYR	A	300	5614	5568	5621	-41	28	-39
C											
ATOM	522	O	TYR	A	300	17.452	34.291	-3.056	1.00	44.14	
O											
ANISOU	522	O	TYR	A	300	5567	5606	5598	-57	27	-81
O											
ATOM	523	N	ARG	A	301	17.383	33.193	-1.085	1.00	43.82	
N											
ANISOU	523	N	ARG	A	301	5560	5519	5571	14	-13	-43
N											
ATOM	524	CA	ARG	A	301	16.918	31.936	-1.647	1.00	43.57	
C											
ANISOU	524	CA	ARG	A	301	5505	5506	5542	-3	-7	-33
C											
ATOM	525	CB	ARG	A	301	18.004	30.864	-1.516	1.00	43.36	
C											
ANISOU	525	CB	ARG	A	301	5504	5467	5501	15	-47	-49
C											
ATOM	526	CG	ARG	A	301	17.592	29.478	-2.000	1.00	44.07	
C											
ANISOU	526	CG	ARG	A	301	5519	5525	5699	-32	-46	-8
C											
ATOM	527	CD	ARG	A	301	18.816	28.611	-2.243	1.00	44.34	
C											
ANISOU	527	CD	ARG	A	301	5415	5556	5873	-21	-27	-130
C											
ATOM	528	NE	ARG	A	301	18.503	27.319	-2.846	1.00	45.93	

N										
ANISOU	528	NE	ARG A 301	5462	6031	5957	106	-48	-104	
N										
ATOM	529	CZ	ARG A 301	18.153	26.232	-2.170	1.00	42.24		
C										
ANISOU	529	CZ	ARG A 301	5643	5431	4975	-112	61	-40	
C										
ATOM	530	NH1	ARG A 301	18.055	26.272	-0.844	1.00	47.72		
N										
ANISOU	530	NH1	ARG A 301	5737	6114	6280	8	-101	-45	
N										
ATOM	531	NH2	ARG A 301	17.891	25.102	-2.821	1.00	46.14		
N										
ANISOU	531	NH2	ARG A 301	5495	6132	5903	156	108	67	
N										
ATOM	532	C	ARG A 301	15.674	31.523	-0.876	1.00	43.64		
C										
ANISOU	532	C	ARG A 301	5540	5535	5503	1	-17	-7	
C										
ATOM	533	O	ARG A 301	15.705	31.440	0.362	1.00	44.01		
O										
ANISOU	533	O	ARG A 301	5675	5632	5413	52	3	7	
O										
ATOM	534	N	VAL A 302	14.574	31.295	-1.598	1.00	43.14		
N										
ANISOU	534	N	VAL A 302	5467	5424	5499	-21	-5	-6	
N										
ATOM	535	CA	VAL A 302	13.342	30.854	-0.956	1.00	42.72		
C										
ANISOU	535	CA	VAL A 302	5403	5315	5512	-37	8	-17	
C										
ATOM	536	CB	VAL A 302	12.244	31.957	-0.857	1.00	43.01		
C										
ANISOU	536	CB	VAL A 302	5439	5350	5551	-47	13	-13	
C										
ATOM	537	CG1	VAL A 302	11.403	31.739	0.404	1.00	42.56		
C										
ANISOU	537	CG1	VAL A 302	5310	5394	5466	-110	-2	-109	
C										
ATOM	538	CG2	VAL A 302	12.860	33.368	-0.830	1.00	43.35		
C										
ANISOU	538	CG2	VAL A 302	5471	5351	5646	-38	32	-2	
C										
ATOM	539	C	VAL A 302	12.803	29.606	-1.643	1.00	42.39		
C										
ANISOU	539	C	VAL A 302	5389	5308	5407	-33	-5	-28	
C										
ATOM	540	O	VAL A 302	12.657	29.560	-2.863	1.00	41.88		
O										
ANISOU	540	O	VAL A 302	5326	5264	5320	-2	-39	-30	
O										
ATOM	541	N	VAL A 303	12.529	28.603	-0.810	1.00	42.33		
N										
ANISOU	541	N	VAL A 303	5387	5251	5445	-64	-2	-41	
N										
ATOM	542	CA	VAL A 303	12.107	27.279	-1.230	1.00	42.18		
C										
ANISOU	542	CA	VAL A 303	5328	5270	5427	-26	30	-33	
C										
ATOM	543	CB	VAL A 303	13.036	26.184	-0.605	1.00	42.24		
C										
ANISOU	543	CB	VAL A 303	5310	5283	5454	-22	24	-23	
C										

ATOM	544	CG1	VAL	A	303	12.534	24.790	-0.910	1.00	41.59
C										
ANISOU	544	CG1	VAL	A	303	5214	5202	5384	-38	86 -28
C										
ATOM	545	CG2	VAL	A	303	14.501	26.353	-1.073	1.00	42.85
C										
ANISOU	545	CG2	VAL	A	303	5375	5362	5542	-30	59 -55
C										
ATOM	546	C	VAL	A	303	10.674	27.041	-0.748	1.00	41.94
C										
ANISOU	546	C	VAL	A	303	5300	5258	5377	-12	27 -38
C										
ATOM	547	O	VAL	A	303	10.364	27.277	0.424	1.00	42.19
O										
ANISOU	547	O	VAL	A	303	5391	5257	5381	11	76 22
O										
ATOM	548	N	SER	A	304	9.801	26.596	-1.648	1.00	41.73
N										
ANISOU	548	N	SER	A	304	5238	5240	5375	4	30 -44
N										
ATOM	549	CA	SER	A	304	8.505	26.065	-1.231	1.00	41.38
C										
ANISOU	549	CA	SER	A	304	5196	5202	5323	-26	5 -31
C										
ATOM	550	CB	SER	A	304	7.339	26.861	-1.831	1.00	41.38
C										
ANISOU	550	CB	SER	A	304	5184	5211	5327	-22	-8 -54
C										
ATOM	551	OG	SER	A	304	6.152	26.629	-1.076	1.00	40.98
O										
ANISOU	551	OG	SER	A	304	5221	5152	5196	20	16 -154
O										
ATOM	552	C	SER	A	304	8.391	24.579	-1.579	1.00	41.13
C										
ANISOU	552	C	SER	A	304	5166	5191	5269	-40	12 -60
C										
ATOM	553	O	SER	A	304	8.646	24.190	-2.718	1.00	40.85
O										
ANISOU	553	O	SER	A	304	5073	5198	5250	-55	-3 -38
O										
ATOM	554	N	VAL	A	305	7.992	23.779	-0.583	1.00	41.00
N										
ANISOU	554	N	VAL	A	305	5201	5158	5219	-43	-30 -25
N										
ATOM	555	CA	VAL	A	305	7.796	22.329	-0.709	1.00	40.98
C										
ANISOU	555	CA	VAL	A	305	5182	5183	5204	-45	-18 -47
C										
ATOM	556	CB	VAL	A	305	8.559	21.550	0.407	1.00	40.91
C										
ANISOU	556	CB	VAL	A	305	5162	5158	5221	-31	-36 -13
C										
ATOM	557	CG1	VAL	A	305	8.340	20.053	0.282	1.00	40.60
C										
ANISOU	557	CG1	VAL	A	305	5114	5164	5145	-82	-121 -82
C										
ATOM	558	CG2	VAL	A	305	10.044	21.845	0.363	1.00	41.19
C										
ANISOU	558	CG2	VAL	A	305	5200	5121	5326	-85	-25 -36
C										
ATOM	559	C	VAL	A	305	6.306	21.921	-0.660	1.00	41.10
C										
ANISOU	559	C	VAL	A	305	5186	5211	5215	-36	-14 -73

C									
ATOM	560	O	VAL A 305	5.573	22.260	0.293	1.00	40.73	
O									
ANISOU	560	O	VAL A 305	5174	5103	5197	-37	9	-126
O									
ATOM	561	N	LEU A 306	5.887	21.153	-1.666	1.00	41.07	
N									
ANISOU	561	N	LEU A 306	5191	5259	5153	-10	-16	-73
N									
ATOM	562	CA	LEU A 306	4.535	20.592	-1.719	1.00	40.99	
C									
ANISOU	562	CA	LEU A 306	5188	5219	5166	-16	-40	-36
C									
ATOM	563	CB	LEU A 306	3.748	21.148	-2.918	1.00	41.06	
C									
ANISOU	563	CB	LEU A 306	5204	5163	5234	-12	-54	-29
C									
ATOM	564	CG	LEU A 306	2.268	20.728	-3.008	1.00	40.75	
C									
ANISOU	564	CG	LEU A 306	5172	5155	5154	53	-5	-10
C									
ATOM	565	CD1	LEU A 306	1.434	21.455	-1.976	1.00	40.43	
C									
ANISOU	565	CD1	LEU A 306	5289	5183	4888	-31	-17	50
C									
ATOM	566	CD2	LEU A 306	1.705	20.962	-4.394	1.00	40.87	
C									
ANISOU	566	CD2	LEU A 306	5213	5177	5135	-17	-41	-45
C									
ATOM	567	C	LEU A 306	4.544	19.069	-1.779	1.00	41.08	
C									
ANISOU	567	C	LEU A 306	5177	5234	5197	40	-34	-43
C									
ATOM	568	O	LEU A 306	5.110	18.481	-2.693	1.00	40.95	
O									
ANISOU	568	O	LEU A 306	5163	5223	5171	14	-57	-46
O									
ATOM	569	N	THR A 307	3.895	18.438	-0.807	1.00	41.54	
N									
ANISOU	569	N	THR A 307	5217	5276	5288	40	-35	-55
N									
ATOM	570	CA	THR A 307	3.718	17.004	-0.828	1.00	42.10	
C									
ANISOU	570	CA	THR A 307	5268	5362	5363	50	-25	-59
C									
ATOM	571	CB	THR A 307	3.238	16.490	0.534	1.00	42.33	
C									
ANISOU	571	CB	THR A 307	5295	5394	5391	46	-26	-62
C									
ATOM	572	OG1	THR A 307	4.261	16.717	1.510	1.00	43.20	
O									
ANISOU	572	OG1	THR A 307	5387	5546	5479	27	-27	-143
O									
ATOM	573	CG2	THR A 307	2.943	15.007	0.486	1.00	42.37	
C									
ANISOU	573	CG2	THR A 307	5388	5344	5365	25	-24	-57
C									
ATOM	574	C	THR A 307	2.738	16.624	-1.946	1.00	42.61	
C									
ANISOU	574	C	THR A 307	5343	5394	5449	60	-18	-56
C									
ATOM	575	O	THR A 307	1.695	17.279	-2.138	1.00	43.31	
O									

ANISOU	575	O	THR	A	307	5405	5457	5593	122	-38	-50
O											
ATOM	576	N	VAL	A	308	3.092	15.590	-2.705	1.00	41.88	
N											
ANISOU	576	N	VAL	A	308	5290	5285	5337	54	-5	-77
N											
ATOM	577	CA	VAL	A	308	2.175	15.039	-3.688	1.00	41.32	
C											
ANISOU	577	CA	VAL	A	308	5239	5211	5250	40	-12	-42
C											
ATOM	578	CB	VAL	A	308	2.772	15.033	-5.136	1.00	41.12	
C											
ANISOU	578	CB	VAL	A	308	5250	5192	5180	37	-40	-41
C											
ATOM	579	CG1	VAL	A	308	3.194	16.439	-5.532	1.00	40.83	
C											
ANISOU	579	CG1	VAL	A	308	5238	5210	5064	-11	-14	-71
C											
ATOM	580	CG2	VAL	A	308	3.956	14.098	-5.273	1.00	40.49	
C											
ANISOU	580	CG2	VAL	A	308	5160	5093	5131	11	-79	-30
C											
ATOM	581	C	VAL	A	308	1.678	13.663	-3.230	1.00	41.17	
C											
ANISOU	581	C	VAL	A	308	5209	5209	5223	41	-23	-66
C											
ATOM	582	O	VAL	A	308	2.346	12.959	-2.475	1.00	40.78	
O											
ANISOU	582	O	VAL	A	308	5262	5123	5107	24	-11	-56
O											
ATOM	583	N	LEU	A	309	0.480	13.302	-3.665	1.00	40.99	
N											
ANISOU	583	N	LEU	A	309	5170	5164	5238	33	-1	-65
N											
ATOM	584	CA	LEU	A	309	-0.019	11.972	-3.414	1.00	40.25	
C											
ANISOU	584	CA	LEU	A	309	5082	5101	5109	31	-12	-14
C											
ATOM	585	CB	LEU	A	309	-1.545	11.939	-3.388	1.00	40.44	
C											
ANISOU	585	CB	LEU	A	309	5114	5151	5098	6	-34	-12
C											
ATOM	586	CG	LEU	A	309	-2.214	12.728	-2.261	1.00	41.27	
C											
ANISOU	586	CG	LEU	A	309	5230	5236	5213	32	-21	0
C											
ATOM	587	CD1	LEU	A	309	-3.692	12.898	-2.547	1.00	42.21	
C											
ANISOU	587	CD1	LEU	A	309	5289	5393	5355	41	-69	23
C											
ATOM	588	CD2	LEU	A	309	-2.011	12.051	-0.896	1.00	42.35	
C											
ANISOU	588	CD2	LEU	A	309	5357	5365	5366	17	-14	3
C											
ATOM	589	C	LEU	A	309	0.561	10.988	-4.429	1.00	39.55	
C											
ANISOU	589	C	LEU	A	309	4964	5033	5027	-2	-36	-27
C											
ATOM	590	O	LEU	A	309	0.800	11.310	-5.591	1.00	38.60	
O											
ANISOU	590	O	LEU	A	309	4763	4962	4938	33	-16	-94
O											
ATOM	591	N	HIS	A	310	0.816	9.795	-3.922	1.00	39.07	

N										
ANISOU	591	N	HIS	A	310	4906	4954	4982	4	-10 -70
N										
ATOM	592	CA	HIS	A	310	1.381	8.692	-4.663	1.00	38.71
C										
ANISOU	592	CA	HIS	A	310	4886	4959	4862	-8	4 -35
C										
ATOM	593	CB	HIS	A	310	1.371	7.441	-3.778	1.00	37.81
C										
ANISOU	593	CB	HIS	A	310	4801	4808	4757	22	-8 -14
C										
ATOM	594	CG	HIS	A	310	1.655	6.180	-4.519	1.00	36.41
C										
ANISOU	594	CG	HIS	A	310	4652	4701	4480	-32	-3 59
C										
ATOM	595	ND1	HIS	A	310	2.932	5.690	-4.685	1.00	34.00
N										
ANISOU	595	ND1	HIS	A	310	4396	4421	4101	-33	-38 -4
N										
ATOM	596	CE1	HIS	A	310	2.880	4.568	-5.376	1.00	34.94
C										
ANISOU	596	CE1	HIS	A	310	4527	4316	4434	-5	-4 140
C										
ATOM	597	NE2	HIS	A	310	1.614	4.314	-5.667	1.00	34.85
N										
ANISOU	597	NE2	HIS	A	310	4517	4245	4480	61	16 113
N										
ATOM	598	CD2	HIS	A	310	0.829	5.307	-5.140	1.00	35.34
C										
ANISOU	598	CD2	HIS	A	310	4432	4621	4373	9	62 95
C										
ATOM	599	C	HIS	A	310	0.644	8.427	-5.973	1.00	38.70
C										
ANISOU	599	C	HIS	A	310	4902	4960	4840	-15	-27 -46
C										
ATOM	600	O	HIS	A	310	1.277	8.305	-7.027	1.00	37.82
O										
ANISOU	600	O	HIS	A	310	4807	4841	4722	-36	-23 -44
O										
ATOM	601	N	GLN	A	311	-0.684	8.335	-5.883	1.00	39.22
N										
ANISOU	601	N	GLN	A	311	5005	5002	4894	-3	19 -72
N										
ATOM	602	CA	GLN	A	311	-1.541	8.052	-7.037	1.00	39.83
C										
ANISOU	602	CA	GLN	A	311	5068	5069	4997	4	-14 -53
C										
ATOM	603	CB	GLN	A	311	-2.941	7.575	-6.615	1.00	39.64
C										
ANISOU	603	CB	GLN	A	311	5050	5101	4910	8	-4 -67
C										
ATOM	604	CG	GLN	A	311	-3.814	8.592	-5.859	1.00	41.81
C										
ANISOU	604	CG	GLN	A	311	5349	5334	5203	34	4 3
C										
ATOM	605	CD	GLN	A	311	-3.637	8.590	-4.319	1.00	44.78
C										
ANISOU	605	CD	GLN	A	311	5943	5685	5387	-47	37 -57
C										
ATOM	606	OE1	GLN	A	311	-2.590	8.195	-3.771	1.00	43.08
O										
ANISOU	606	OE1	GLN	A	311	5380	5867	5120	97	-37 -211
O										

ATOM N	607	NE2	GLN	A	311	-4.681	9.036	-3.622	1.00	43.39	
ANISOU N	607	NE2	GLN	A	311	5563	5667	5256	170	135	-45
ATOM C	608	C	GLN	A	311	-1.594	9.229	-7.995	1.00	39.90	
ANISOU C	608	C	GLN	A	311	5049	5064	5045	-16	-7	-58
ATOM O	609	O	GLN	A	311	-1.555	9.046	-9.229	1.00	40.38	
ANISOU O	609	O	GLN	A	311	5051	5083	5207	-72	45	-44
ATOM N	610	N	ASP	A	312	-1.642	10.431	-7.425	1.00	39.64	
ANISOU N	610	N	ASP	A	312	5014	5048	4998	-22	-10	-70
ATOM C	611	CA	ASP	A	312	-1.723	11.662	-8.196	1.00	39.61	
ANISOU C	611	CA	ASP	A	312	5003	5033	5013	-9	-1	-80
ATOM C	612	CB	ASP	A	312	-1.841	12.891	-7.276	1.00	39.79	
ANISOU C	612	CB	ASP	A	312	5039	5090	4987	-8	-26	-109
ATOM C	613	CG	ASP	A	312	-3.202	13.029	-6.639	1.00	40.70	
ANISOU C	613	CG	ASP	A	312	5104	5172	5186	-39	18	-131
ATOM O	614	OD1	ASP	A	312	-4.081	12.167	-6.863	1.00	42.10	
ANISOU O	614	OD1	ASP	A	312	5286	5405	5303	51	91	-230
ATOM O	615	OD2	ASP	A	312	-3.389	14.010	-5.888	1.00	43.00	
ANISOU O	615	OD2	ASP	A	312	5297	5347	5692	-20	69	1
ATOM C	616	C	ASP	A	312	-0.518	11.833	-9.091	1.00	38.73	
ANISOU C	616	C	ASP	A	312	4902	4899	4914	11	12	-121
ATOM O	617	O	ASP	A	312	-0.655	12.241	-10.251	1.00	39.28	
ANISOU O	617	O	ASP	A	312	4946	4963	5014	-3	85	-129
ATOM N	618	N	TRP	A	313	0.656	11.537	-8.543	1.00	37.61	
ANISOU N	618	N	TRP	A	313	4772	4760	4758	-8	10	-110
ATOM C	619	CA	TRP	A	313	1.907	11.678	-9.279	1.00	36.85	
ANISOU C	619	CA	TRP	A	313	4619	4730	4649	-7	-60	-88
ATOM C	620	CB	TRP	A	313	3.129	11.487	-8.357	1.00	36.13	
ANISOU C	620	CB	TRP	A	313	4550	4680	4494	-8	-75	-20
ATOM C	621	CG	TRP	A	313	4.441	11.751	-9.093	1.00	35.34	
ANISOU C	621	CG	TRP	A	313	4466	4697	4264	43	-176	-103
ATOM C	622	CD1	TRP	A	313	5.343	10.827	-9.512	1.00	35.07	
ANISOU	622	CD1	TRP	A	313	4501	4715	4109	-17	-197	-29

C										
ATOM	623	NE1	TRP	A	313	6.406	11.442	-10.135	1.00	34.18
N										
ANISOU	623	NE1	TRP	A	313	4463	4332	4191	-11	-148 20
N										
ATOM	624	CE2	TRP	A	313	6.187	12.796	-10.146	1.00	35.05
C										
ANISOU	624	CE2	TRP	A	313	4446	4707	4162	-75	-196 -97
C										
ATOM	625	CD2	TRP	A	313	4.954	13.028	-9.497	1.00	33.56
C										
ANISOU	625	CD2	TRP	A	313	4353	4503	3893	-30	-139 4
C										
ATOM	626	CE3	TRP	A	313	4.501	14.348	-9.354	1.00	32.76
C										
ANISOU	626	CE3	TRP	A	313	4229	4481	3734	0	-202 82
C										
ATOM	627	CZ3	TRP	A	313	5.279	15.377	-9.862	1.00	35.07
C										
ANISOU	627	CZ3	TRP	A	313	4469	4665	4192	-3	-238 41
C										
ATOM	628	CH2	TRP	A	313	6.493	15.113	-10.532	1.00	34.15
C										
ANISOU	628	CH2	TRP	A	313	4324	4418	4233	-22	-142 86
C										
ATOM	629	CZ2	TRP	A	313	6.959	13.833	-10.685	1.00	35.30
C										
ANISOU	629	CZ2	TRP	A	313	4442	4682	4288	-11	-136 -64
C										
ATOM	630	C	TRP	A	313	1.998	10.709	-10.457	1.00	36.14
C										
ANISOU	630	C	TRP	A	313	4477	4717	4537	0	-78 -55
C										
ATOM	631	O	TRP	A	313	2.313	11.107	-11.562	1.00	35.50
O										
ANISOU	631	O	TRP	A	313	4328	4708	4450	45	-104 -91
O										
ATOM	632	N	LEU	A	314	1.765	9.438	-10.157	1.00	35.58
N										
ANISOU	632	N	LEU	A	314	4401	4613	4503	-13	-76 -52
N										
ATOM	633	CA	LEU	A	314	1.729	8.348	-11.105	1.00	35.56
C										
ANISOU	633	CA	LEU	A	314	4445	4567	4497	28	5 -28
C										
ATOM	634	CB	LEU	A	314	1.574	7.016	-10.361	1.00	35.07
C										
ANISOU	634	CB	LEU	A	314	4405	4507	4410	-12	18 -47
C										
ATOM	635	CG	LEU	A	314	2.750	6.390	-9.621	1.00	34.91
C										
ANISOU	635	CG	LEU	A	314	4444	4487	4331	-14	-28 -14
C										
ATOM	636	CD1	LEU	A	314	2.290	5.110	-8.980	1.00	35.56
C										
ANISOU	636	CD1	LEU	A	314	4432	4609	4471	17	-104 -47
C										
ATOM	637	CD2	LEU	A	314	3.922	6.091	-10.522	1.00	34.75
C										
ANISOU	637	CD2	LEU	A	314	4491	4405	4306	41	-118 -7
C										
ATOM	638	C	LEU	A	314	0.618	8.461	-12.146	1.00	35.53
C										

ANISOU C	638	C	LEU A 314	4500	4504	4495	-33	-16	-32
ATOM O	639	O	LEU A 314	0.782	7.941	-13.236	1.00	35.75	
ANISOU O	639	O	LEU A 314	4455	4563	4564	-36	-3	17
ATOM N	640	N	ASN A 315	-0.504	9.110	-11.802	1.00	35.21	
ANISOU N	640	N	ASN A 315	4478	4419	4481	-76	-52	-36
ATOM C	641	CA	ASN A 315	-1.580	9.402	-12.763	1.00	35.05	
ANISOU C	641	CA	ASN A 315	4531	4373	4411	-33	2	-57
ATOM C	642	CB	ASN A 315	-2.958	9.466	-12.074	1.00	35.00	
ANISOU C	642	CB	ASN A 315	4513	4349	4433	-40	-16	-16
ATOM C	643	CG	ASN A 315	-3.500	8.086	-11.725	1.00	35.48	
ANISOU C	643	CG	ASN A 315	4451	4447	4582	-119	-42	-126
ATOM O	644	OD1	ASN A 315	-3.252	7.128	-12.445	1.00	33.89	
ANISOU O	644	OD1	ASN A 315	4226	4285	4363	-276	-266	-225
ATOM N	645	ND2	ASN A 315	-4.209	7.977	-10.601	1.00	34.22	
ANISOU N	645	ND2	ASN A 315	4214	4375	4410	-223	34	-77
ATOM C	646	C	ASN A 315	-1.379	10.647	-13.620	1.00	34.87	
ANISOU C	646	C	ASN A 315	4516	4388	4343	-23	1	-67
ATOM O	647	O	ASN A 315	-2.321	11.112	-14.237	1.00	34.63	
ANISOU O	647	O	ASN A 315	4549	4319	4289	-30	41	-65
ATOM N	648	N	GLY A 316	-0.171	11.197	-13.639	1.00	35.22	
ANISOU N	648	N	GLY A 316	4517	4502	4360	6	3	-37
ATOM C	649	CA	GLY A 316	0.165	12.331	-14.516	1.00	35.71	
ANISOU C	649	CA	GLY A 316	4494	4573	4500	-5	-1	-46
ATOM C	650	C	GLY A 316	-0.397	13.709	-14.206	1.00	35.78	
ANISOU C	650	C	GLY A 316	4467	4612	4516	-28	-42	-50
ATOM O	651	O	GLY A 316	-0.366	14.597	-15.058	1.00	35.56	
ANISOU O	651	O	GLY A 316	4332	4654	4522	-7	-66	-97
ATOM N	652	N	LYS A 317	-0.902	13.890	-12.991	1.00	36.31	
ANISOU N	652	N	LYS A 317	4528	4698	4570	-30	-42	-59
ATOM C	653	CA	LYS A 317	-1.315	15.203	-12.493	1.00	37.07	
ANISOU C	653	CA	LYS A 317	4699	4780	4606	-7	-28	-47
ATOM	654	CB	LYS A 317	-1.755	15.110	-11.031	1.00	37.28	

C										
ANISOU	654	CB	LYS A 317	4696	4803	4663	-25	-9	-80	
C										
ATOM	655	CG	LYS A 317	-3.033	14.325	-10.813	1.00	38.63		
C										
ANISOU	655	CG	LYS A 317	4886	4905	4884	-49	-2	-35	
C										
ATOM	656	CD	LYS A 317	-3.784	14.865	-9.616	1.00	39.92		
C										
ANISOU	656	CD	LYS A 317	4984	5172	5010	19	65	-11	
C										
ATOM	657	CE	LYS A 317	-5.138	14.188	-9.434	1.00	40.77		
C										
ANISOU	657	CE	LYS A 317	5161	5227	5100	116	79	-35	
C										
ATOM	658	NZ	LYS A 317	-6.015	15.042	-8.572	1.00	41.78		
N										
ANISOU	658	NZ	LYS A 317	5263	5525	5086	124	26	96	
N										
ATOM	659	C	LYS A 317	-0.180	16.214	-12.629	1.00	37.17		
C										
ANISOU	659	C	LYS A 317	4747	4823	4551	-27	-28	-80	
C										
ATOM	660	O	LYS A 317	0.980	15.859	-12.440	1.00	37.06		
O										
ANISOU	660	O	LYS A 317	4756	4804	4520	-34	84	-155	
O										
ATOM	661	N	GLU A 318	-0.525	17.462	-12.941	1.00	37.60		
N										
ANISOU	661	N	GLU A 318	4848	4817	4621	-12	-30	-99	
N										
ATOM	662	CA	GLU A 318	0.452	18.519	-13.238	1.00	40.15		
C										
ANISOU	662	CA	GLU A 318	5164	5032	5058	-54	-30	-117	
C										
ATOM	663	CB	GLU A 318	0.052	19.263	-14.523	1.00	39.10		
C										
ANISOU	663	CB	GLU A 318	5034	4963	4859	-60	-36	-45	
C										
ATOM	664	CG	GLU A 318	0.271	18.492	-15.799	1.00	41.10		
C										
ANISOU	664	CG	GLU A 318	5181	5159	5275	-19	9	-184	
C										
ATOM	665	CD	GLU A 318	0.118	19.357	-17.031	1.00	38.29		
C										
ANISOU	665	CD	GLU A 318	4479	5157	4911	107	25	128	
C										
ATOM	666	OE1	GLU A 318	1.126	19.619	-17.700	1.00	46.87		
O										
ANISOU	666	OE1	GLU A 318	6088	5866	5854	-27	-89	-299	
O										
ATOM	667	OE2	GLU A 318	-0.997	19.815	-17.354	1.00	46.71		
O										
ANISOU	667	OE2	GLU A 318	6297	5852	5598	-240	197	-211	
O										
ATOM	668	C	GLU A 318	0.583	19.530	-12.092	1.00	38.57		
C										
ANISOU	668	C	GLU A 318	4938	4896	4818	-31	-53	-85	
C										
ATOM	669	O	GLU A 318	-0.425	20.012	-11.578	1.00	38.13		
O										
ANISOU	669	O	GLU A 318	4923	4789	4774	-39	-135	-122	
O										

ATOM	670	N	TYR A 319	1.821	19.851	-11.705	1.00	38.78	
N									
ANISOU	670	N	TYR A 319	4998	4868	4867	-48	-21	-87
N									
ATOM	671	CA	TYR A 319	2.079	20.701	-10.529	1.00	39.04	
C									
ANISOU	671	CA	TYR A 319	5000	4916	4916	-26	-53	-60
C									
ATOM	672	CB	TYR A 319	2.884	19.937	-9.476	1.00	38.84	
C									
ANISOU	672	CB	TYR A 319	4972	4905	4879	-26	-72	-93
C									
ATOM	673	CG	TYR A 319	2.172	18.689	-8.973	1.00	37.38	
C									
ANISOU	673	CG	TYR A 319	4832	4650	4719	-86	32	-11
C									
ATOM	674	CD1	TYR A 319	2.258	17.460	-9.673	1.00	38.12	
C									
ANISOU	674	CD1	TYR A 319	4829	4759	4893	7	-6	-24
C									
ATOM	675	CE1	TYR A 319	1.593	16.320	-9.215	1.00	36.71	
C									
ANISOU	675	CE1	TYR A 319	4646	4520	4781	-18	-157	-183
C									
ATOM	676	CZ	TYR A 319	0.834	16.411	-8.065	1.00	36.25	
C									
ANISOU	676	CZ	TYR A 319	4621	4505	4646	-178	-20	-20
C									
ATOM	677	OH	TYR A 319	0.166	15.322	-7.573	1.00	39.25	
O									
ANISOU	677	OH	TYR A 319	5143	5009	4759	54	-255	-66
O									
ATOM	678	CE2	TYR A 319	0.725	17.612	-7.374	1.00	37.40	
C									
ANISOU	678	CE2	TYR A 319	4648	4766	4794	39	-30	-82
C									
ATOM	679	CD2	TYR A 319	1.389	18.736	-7.836	1.00	36.44	
C									
ANISOU	679	CD2	TYR A 319	4701	4522	4622	68	-116	-138
C									
ATOM	680	C	TYR A 319	2.745	22.028	-10.889	1.00	39.24	
C									
ANISOU	680	C	TYR A 319	5014	4957	4938	-40	-57	-97
C									
ATOM	681	O	TYR A 319	3.918	22.071	-11.266	1.00	39.11	
O									
ANISOU	681	O	TYR A 319	4977	4930	4951	-22	-85	-124
O									
ATOM	682	N	LYS A 320	1.961	23.101	-10.790	1.00	39.64	
N									
ANISOU	682	N	LYS A 320	5077	5012	4970	-1	-53	-107
N									
ATOM	683	CA	LYS A 320	2.398	24.454	-11.109	1.00	40.77	
C									
ANISOU	683	CA	LYS A 320	5193	5147	5150	-23	-13	-85
C									
ATOM	684	CB	LYS A 320	1.310	25.173	-11.921	1.00	40.27	
C									
ANISOU	684	CB	LYS A 320	5129	5063	5107	21	-64	-45
C									
ATOM	685	CG	LYS A 320	1.704	26.535	-12.547	1.00	46.09	
C									
ANISOU	685	CG	LYS A 320	6665	5282	5563	-484	537	-253

C										
ATOM	686	CD	LYS A 320	0.609	27.084	-13.492	1.00	38.31		
C										
ANISOU	686	CD	LYS A 320	4594	5097	4864	287	-177	117	
C										
ATOM	687	CE	LYS A 320	-0.733	27.374	-12.771	1.00	47.84		
C										
ANISOU	687	CE	LYS A 320	6419	5509	6250	-354	338	-151	
C										
ATOM	688	NZ	LYS A 320	-1.892	27.744	-13.695	1.00	37.09		
N										
ANISOU	688	NZ	LYS A 320	4077	5276	4737	675	-795	197	
N										
ATOM	689	C	LYS A 320	2.759	25.250	-9.840	1.00	40.86		
C										
ANISOU	689	C	LYS A 320	5229	5123	5173	18	-10	-35	
C										
ATOM	690	O	LYS A 320	2.030	25.259	-8.843	1.00	40.72		
O										
ANISOU	690	O	LYS A 320	5252	5105	5111	38	-28	-57	
O										
ATOM	691	N	CYS A 321	3.915	25.888	-9.894	1.00	41.68		
N										
ANISOU	691	N	CYS A 321	5350	5199	5287	18	-5	-32	
N										
ATOM	692	CA	CYS A 321	4.373	26.788	-8.860	1.00	42.24		
C										
ANISOU	692	CA	CYS A 321	5408	5260	5381	31	1	-18	
C										
ATOM	693	CB	CYS A 321	5.763	26.361	-8.379	1.00	42.35		
C										
ANISOU	693	CB	CYS A 321	5400	5274	5415	9	-9	-35	
C										
ATOM	694	SG	CYS A 321	6.500	27.426	-7.128	1.00	42.58		
S										
ANISOU	694	SG	CYS A 321	5484	5270	5421	50	-14	-77	
S										
ATOM	695	C	CYS A 321	4.411	28.191	-9.472	1.00	42.81		
C										
ANISOU	695	C	CYS A 321	5475	5310	5480	8	16	-9	
C										
ATOM	696	O	CYS A 321	5.156	28.422	-10.460	1.00	42.92		
O										
ANISOU	696	O	CYS A 321	5461	5316	5528	24	61	-9	
O										
ATOM	697	N	LYS A 322	3.570	29.085	-8.924	1.00	42.76		
N										
ANISOU	697	N	LYS A 322	5459	5348	5439	17	33	-26	
N										
ATOM	698	CA	LYS A 322	3.565	30.511	-9.287	1.00	42.86		
C										
ANISOU	698	CA	LYS A 322	5437	5374	5471	56	-15	9	
C										
ATOM	699	CB	LYS A 322	2.147	31.078	-9.435	1.00	43.24		
C										
ANISOU	699	CB	LYS A 322	5551	5409	5468	25	18	-36	
C										
ATOM	700	CG	LYS A 322	2.064	32.254	-10.426	1.00	44.33		
C										
ANISOU	700	CG	LYS A 322	5694	5515	5634	14	-35	-25	
C										
ATOM	701	CD	LYS A 322	0.634	32.831	-10.569	1.00	45.76		
C										

ANISOU	701	CD	LYS A 322	5744	5672	5970	-51	35	-111
C									
ATOM	702	CE	LYS A 322	0.468	33.530	-11.933	1.00	40.52	
C									
ANISOU	702	CE	LYS A 322	4781	4752	5862	1225	-190	243
C									
ATOM	703	NZ	LYS A 322	-0.714	34.463	-12.029	1.00	52.37	
N									
ANISOU	703	NZ	LYS A 322	7085	6923	5891	-760	97	-81
N									
ATOM	704	C	LYS A 322	4.352	31.332	-8.284	1.00	42.99	
C									
ANISOU	704	C	LYS A 322	5456	5381	5497	1	30	0
C									
ATOM	705	O	LYS A 322	4.196	31.206	-7.065	1.00	42.73	
O									
ANISOU	705	O	LYS A 322	5391	5361	5482	50	28	-24
O									
ATOM	706	N	VAL A 323	5.220	32.172	-8.823	1.00	43.35	
N									
ANISOU	706	N	VAL A 323	5501	5422	5545	-16	-11	12
N									
ATOM	707	CA	VAL A 323	6.125	32.979	-8.025	1.00	42.78	
C									
ANISOU	707	CA	VAL A 323	5428	5354	5472	-14	-20	-20
C									
ATOM	708	CB	VAL A 323	7.586	32.528	-8.212	1.00	42.83	
C									
ANISOU	708	CB	VAL A 323	5397	5384	5491	-25	-20	12
C									
ATOM	709	CG1	VAL A 323	8.557	33.587	-7.703	1.00	41.95	
C									
ANISOU	709	CG1	VAL A 323	5327	5304	5305	17	-15	-62
C									
ATOM	710	CG2	VAL A 323	7.811	31.192	-7.509	1.00	43.44	
C									
ANISOU	710	CG2	VAL A 323	5415	5409	5681	24	-7	-27
C									
ATOM	711	C	VAL A 323	5.942	34.423	-8.432	1.00	42.81	
C									
ANISOU	711	C	VAL A 323	5441	5360	5463	-14	-20	-44
C									
ATOM	712	O	VAL A 323	6.102	34.796	-9.621	1.00	42.57	
O									
ANISOU	712	O	VAL A 323	5408	5357	5408	-89	29	-68
O									
ATOM	713	N	SER A 324	5.597	35.219	-7.421	1.00	42.64	
N									
ANISOU	713	N	SER A 324	5419	5369	5414	-2	-9	-59
N									
ATOM	714	CA	SER A 324	5.207	36.605	-7.584	1.00	42.51	
C									
ANISOU	714	CA	SER A 324	5426	5317	5408	-11	-3	-71
C									
ATOM	715	CB	SER A 324	3.750	36.783	-7.154	1.00	42.22	
C									
ANISOU	715	CB	SER A 324	5364	5281	5394	16	-26	-72
C									
ATOM	716	OG	SER A 324	2.864	36.502	-8.216	1.00	41.92	
O									
ANISOU	716	OG	SER A 324	5332	5206	5387	19	53	-145
O									
ATOM	717	C	SER A 324	6.104	37.522	-6.760	1.00	43.07	

C										
ANISOU	717	C	SER A 324	5479	5404	5481	-32	-10	-59	
C										
ATOM	718	O	SER A 324	6.352	37.271	-5.575	1.00	42.70		
O										
ANISOU	718	O	SER A 324	5452	5352	5420	-41	-68	-72	
O										
ATOM	719	N	ASN A 325	6.571	38.596	-7.396	1.00	44.33		
N										
ANISOU	719	N	ASN A 325	5633	5581	5628	-43	19	-83	
N										
ATOM	720	CA	ASN A 325	7.437	39.570	-6.724	1.00	45.40		
C										
ANISOU	720	CA	ASN A 325	5802	5719	5727	-31	13	-62	
C										
ATOM	721	CB	ASN A 325	8.886	39.074	-6.668	1.00	45.78		
C										
ANISOU	721	CB	ASN A 325	5807	5817	5767	-17	24	-48	
C										
ATOM	722	CG	ASN A 325	9.749	39.887	-5.724	1.00	47.87		
C										
ANISOU	722	CG	ASN A 325	6012	6087	6088	-56	-15	-90	
C										
ATOM	723	OD1	ASN A 325	9.252	40.493	-4.758	1.00	51.73		
O										
ANISOU	723	OD1	ASN A 325	6606	6613	6436	43	24	-165	
O										
ATOM	724	ND2	ASN A 325	11.055	39.898	-5.986	1.00	49.10		
N										
ANISOU	724	ND2	ASN A 325	6088	6256	6312	27	72	40	
N										
ATOM	725	C	ASN A 325	7.379	40.924	-7.396	1.00	45.82		
C										
ANISOU	725	C	ASN A 325	5904	5749	5757	-16	29	-60	
C										
ATOM	726	O	ASN A 325	7.568	41.032	-8.624	1.00	46.11		
O										
ANISOU	726	O	ASN A 325	5966	5817	5735	8	24	-72	
O										
ATOM	727	N	LYS A 326	7.106	41.945	-6.581	1.00	46.40		
N										
ANISOU	727	N	LYS A 326	5999	5832	5798	6	54	-106	
N										
ATOM	728	CA	LYS A 326	7.088	43.359	-6.999	1.00	46.62		
C										
ANISOU	728	CA	LYS A 326	6011	5855	5844	-28	75	-54	
C										
ATOM	729	CB	LYS A 326	6.596	44.250	-5.847	1.00	46.66		
C										
ANISOU	729	CB	LYS A 326	6026	5795	5908	-14	78	-87	
C										
ATOM	730	CG	LYS A 326	5.693	43.541	-4.808	1.00	46.45		
C										
ANISOU	730	CG	LYS A 326	6008	5829	5811	1	106	-66	
C										
ATOM	731	CD	LYS A 326	5.224	44.500	-3.730	1.00	46.76		
C										
ANISOU	731	CD	LYS A 326	6052	5871	5842	-23	128	-26	
C										
ATOM	732	CE	LYS A 326	4.627	43.755	-2.527	1.00	47.92		
C										
ANISOU	732	CE	LYS A 326	6179	6075	5951	-22	57	57	
C										

ATOM	733	NZ	LYS	A	326	3.645	44.615	-1.795	1.00	46.79	
N											
ANISOU	733	NZ	LYS	A	326	6086	5950	5742	84	143	63
N											
ATOM	734	C	LYS	A	326	8.492	43.774	-7.398	1.00	47.27	
C											
ANISOU	734	C	LYS	A	326	6099	5947	5913	-66	66	-56
C											
ATOM	735	O	LYS	A	326	9.180	44.487	-6.654	1.00	48.18	
O											
ANISOU	735	O	LYS	A	326	6284	6034	5987	-48	39	-1
O											
ATOM	736	N	ALA	A	327	8.916	43.299	-8.570	1.00	48.04	
N											
ANISOU	736	N	ALA	A	327	6153	6097	6003	-80	76	-72
N											
ATOM	737	CA	ALA	A	327	10.266	43.501	-9.120	1.00	48.25	
C											
ANISOU	737	CA	ALA	A	327	6151	6154	6027	-80	65	-43
C											
ATOM	738	CB	ALA	A	327	11.322	42.844	-8.247	1.00	48.36	
C											
ANISOU	738	CB	ALA	A	327	6156	6153	6064	-60	40	-40
C											
ATOM	739	C	ALA	A	327	10.305	42.901	-10.522	1.00	48.66	
C											
ANISOU	739	C	ALA	A	327	6209	6190	6089	-90	89	-47
C											
ATOM	740	O	ALA	A	327	11.017	43.403	-11.396	1.00	49.36	
O											
ANISOU	740	O	ALA	A	327	6216	6343	6195	-143	160	-32
O											
ATOM	741	N	LEU	A	328	9.531	41.834	-10.732	1.00	48.61	
N											
ANISOU	741	N	LEU	A	328	6214	6128	6125	-66	61	-36
N											
ATOM	742	CA	LEU	A	328	9.411	41.216	-12.056	1.00	48.46	
C											
ANISOU	742	CA	LEU	A	328	6198	6118	6096	-1	44	-5
C											
ATOM	743	CB	LEU	A	328	8.993	39.743	-11.934	1.00	48.19	
C											
ANISOU	743	CB	LEU	A	328	6138	6070	6100	13	48	9
C											
ATOM	744	CG	LEU	A	328	10.002	38.667	-11.520	1.00	48.23	
C											
ANISOU	744	CG	LEU	A	328	6153	6038	6133	9	15	36
C											
ATOM	745	CD1	LEU	A	328	9.283	37.550	-10.802	1.00	46.88	
C											
ANISOU	745	CD1	LEU	A	328	5933	5924	5956	-6	2	89
C											
ATOM	746	CD2	LEU	A	328	10.797	38.134	-12.728	1.00	46.84	
C											
ANISOU	746	CD2	LEU	A	328	6059	5772	5966	30	-18	8
C											
ATOM	747	C	LEU	A	328	8.377	41.962	-12.905	1.00	48.82	
C											
ANISOU	747	C	LEU	A	328	6215	6170	6161	42	47	3
C											
ATOM	748	O	LEU	A	328	7.346	42.391	-12.370	1.00	49.39	
O											
ANISOU	748	O	LEU	A	328	6288	6214	6264	62	78	-17

O										
ATOM	749	N	PRO A 329	8.627	42.096	-14.233	1.00	48.99		
N										
ANISOU	749	N	PRO A 329	6230	6210	6172	52	35	20	
N										
ATOM	750	CA	PRO A 329	7.583	42.691	-15.083	1.00	48.98		
C										
ANISOU	750	CA	PRO A 329	6183	6202	6224	38	16	11	
C										
ATOM	751	CB	PRO A 329	8.121	42.512	-16.512	1.00	48.81		
C										
ANISOU	751	CB	PRO A 329	6180	6199	6165	26	5	20	
C										
ATOM	752	CG	PRO A 329	9.255	41.473	-16.402	1.00	49.03		
C										
ANISOU	752	CG	PRO A 329	6235	6230	6164	50	-11	24	
C										
ATOM	753	CD	PRO A 329	9.824	41.712	-15.016	1.00	49.11		
C										
ANISOU	753	CD	PRO A 329	6245	6228	6184	54	26	18	
C										
ATOM	754	C	PRO A 329	6.275	41.925	-14.898	1.00	49.47		
C										
ANISOU	754	C	PRO A 329	6237	6232	6324	32	28	24	
C										
ATOM	755	O	PRO A 329	5.199	42.555	-14.828	1.00	50.19		
O										
ANISOU	755	O	PRO A 329	6307	6296	6465	82	62	20	
O										
ATOM	756	N	ALA A 330	6.386	40.588	-14.815	1.00	49.21		
N										
ANISOU	756	N	ALA A 330	6236	6180	6279	31	21	35	
N										
ATOM	757	CA	ALA A 330	5.267	39.685	-14.511	1.00	48.97		
C										
ANISOU	757	CA	ALA A 330	6221	6162	6220	0	15	46	
C										
ATOM	758	C	ALA A 330	5.734	38.538	-13.611	1.00	48.44		
C										
ANISOU	758	C	ALA A 330	6145	6082	6176	14	16	18	
C										
ATOM	759	O	ALA A 330	6.938	38.338	-13.433	1.00	48.63		
O										
ANISOU	759	O	ALA A 330	6183	6095	6196	22	6	21	
O										
ATOM	760	CB	ALA A 330	4.638	39.170	-15.796	1.00	49.45		
C										
ANISOU	760	CB	ALA A 330	6282	6264	6242	-3	41	22	
C										
ATOM	761	N	SER A 331	4.774	37.789	-13.057	1.00	47.86		
N										
ANISOU	761	N	SER A 331	6127	5988	6070	15	23	18	
N										
ATOM	762	CA	SER A 331	5.044	36.573	-12.279	1.00	47.47		
C										
ANISOU	762	CA	SER A 331	6076	5962	5998	20	52	-2	
C										
ATOM	763	CB	SER A 331	3.732	35.989	-11.759	1.00	47.76		
C										
ANISOU	763	CB	SER A 331	6111	5968	6068	-34	62	-6	
C										
ATOM	764	OG	SER A 331	3.328	36.636	-10.566	1.00	49.07		
O										

ANISOU O	764	OG	SER A 331	6264	6200	6180	-65	112	-82
ATOM C	765	C	SER A 331	5.784	35.490	-13.063	1.00	46.93	
ANISOU C	765	C	SER A 331	6026	5870	5936	45	11	17
ATOM O	766	O	SER A 331	5.841	35.530	-14.306	1.00	46.88	
ANISOU O	766	O	SER A 331	6028	5874	5910	64	-8	49
ATOM N	767	N	ILE A 332	6.349	34.524	-12.326	1.00	46.46	
ANISOU N	767	N	ILE A 332	5955	5859	5838	52	8	10
ATOM C	768	CA	ILE A 332	6.997	33.345	-12.921	1.00	45.16	
ANISOU C	768	CA	ILE A 332	5784	5664	5710	32	1	-50
ATOM C	769	CB	ILE A 332	8.447	33.111	-12.418	1.00	45.49	
ANISOU C	769	CB	ILE A 332	5827	5705	5750	38	30	-55
ATOM C	770	CG1	ILE A 332	9.226	34.425	-12.299	1.00	45.00	
ANISOU C	770	CG1	ILE A 332	5746	5597	5752	3	1	-96
ATOM C	771	CD1	ILE A 332	10.603	34.263	-11.676	1.00	44.54	
ANISOU C	771	CD1	ILE A 332	5753	5514	5657	62	-2	-95
ATOM C	772	CG2	ILE A 332	9.199	32.107	-13.353	1.00	46.08	
ANISOU C	772	CG2	ILE A 332	5899	5694	5914	5	5	-81
ATOM C	773	C	ILE A 332	6.212	32.091	-12.614	1.00	45.22	
ANISOU C	773	C	ILE A 332	5786	5699	5695	11	19	-20
ATOM O	774	O	ILE A 332	5.959	31.784	-11.447	1.00	45.15	
ANISOU O	774	O	ILE A 332	5742	5739	5670	47	-18	-46
ATOM N	775	N	GLU A 333	5.846	31.365	-13.675	1.00	45.30	
ANISOU N	775	N	GLU A 333	5774	5702	5736	-22	17	4
ATOM C	776	CA	GLU A 333	5.198	30.059	-13.561	1.00	45.04	
ANISOU C	776	CA	GLU A 333	5702	5658	5752	6	34	-3
ATOM C	777	CB	GLU A 333	3.920	30.002	-14.403	1.00	45.11	
ANISOU C	777	CB	GLU A 333	5759	5677	5704	-3	34	16
ATOM C	778	CG	GLU A 333	2.743	30.808	-13.893	1.00	46.10	
ANISOU C	778	CG	GLU A 333	5802	5868	5845	9	-6	18
ATOM C	779	CD	GLU A 333	1.567	30.734	-14.839	1.00	47.62	
ANISOU C	779	CD	GLU A 333	6049	5979	6064	-46	8	80
ATOM	780	OE1	GLU A 333	0.502	31.308	-14.524	1.00	49.66	

O	ANISOU	780	OE1	GLU	A	333	6257	6258	6355	147	141	19
O	ATOM	781	OE2	GLU	A	333	1.706	30.101	-15.911	1.00	49.76	
O	ANISOU	781	OE2	GLU	A	333	6561	6209	6136	66	28	-65
O	ATOM	782	C	GLU	A	333	6.112	28.961	-14.076	1.00	44.61	
C	ANISOU	782	C	GLU	A	333	5648	5599	5700	-8	55	47
C	ATOM	783	O	GLU	A	333	6.661	29.064	-15.180	1.00	44.56	
O	ANISOU	783	O	GLU	A	333	5623	5595	5712	-41	123	71
O	ATOM	784	N	LYS	A	334	6.230	27.892	-13.290	1.00	44.01	
N	ANISOU	784	N	LYS	A	334	5544	5539	5638	18	36	50
N	ATOM	785	CA	LYS	A	334	6.873	26.659	-13.734	1.00	42.98	
C	ANISOU	785	CA	LYS	A	334	5422	5388	5518	15	17	31
C	ATOM	786	CB	LYS	A	334	8.212	26.486	-13.006	1.00	43.19	
C	ANISOU	786	CB	LYS	A	334	5438	5429	5541	15	10	54
C	ATOM	787	CG	LYS	A	334	9.342	27.415	-13.491	1.00	43.78	
C	ANISOU	787	CG	LYS	A	334	5486	5549	5597	-63	48	-57
C	ATOM	788	CD	LYS	A	334	9.999	26.862	-14.756	1.00	47.27	
C	ANISOU	788	CD	LYS	A	334	6256	5959	5746	137	-131	-161
C	ATOM	789	CE	LYS	A	334	11.210	27.670	-15.180	1.00	41.47	
C	ANISOU	789	CE	LYS	A	334	5573	4547	5633	-141	-13	547
C	ATOM	790	NZ	LYS	A	334	10.822	28.944	-15.871	1.00	48.95	
N	ANISOU	790	NZ	LYS	A	334	5949	6476	6171	-108	-137	-288
N	ATOM	791	C	LYS	A	334	5.942	25.479	-13.449	1.00	42.38	
C	ANISOU	791	C	LYS	A	334	5339	5347	5415	47	18	4
C	ATOM	792	O	LYS	A	334	5.416	25.373	-12.342	1.00	41.36	
O	ANISOU	792	O	LYS	A	334	5235	5235	5242	88	46	19
O	ATOM	793	N	THR	A	335	5.737	24.606	-14.448	1.00	42.28	
N	ANISOU	793	N	THR	A	335	5315	5358	5388	22	-3	5
N	ATOM	794	CA	THR	A	335	4.887	23.413	-14.297	1.00	42.27	
C	ANISOU	794	CA	THR	A	335	5328	5336	5394	20	-27	-22
C	ATOM	795	CB	THR	A	335	3.669	23.442	-15.297	1.00	42.66	
C	ANISOU	795	CB	THR	A	335	5389	5366	5451	24	-40	7
C												

ATOM	796	OG1	THR	A	335	2.797	24.540	-14.973	1.00	43.84	
O											
ANISOU	796	OG1	THR	A	335	5548	5558	5551	61	-31	-90
O											
ATOM	797	CG2	THR	A	335	2.849	22.137	-15.256	1.00	42.03	
C											
ANISOU	797	CG2	THR	A	335	5251	5336	5381	1	-34	33
C											
ATOM	798	C	THR	A	335	5.691	22.094	-14.399	1.00	42.02	
C											
ANISOU	798	C	THR	A	335	5275	5343	5344	6	-2	3
C											
ATOM	799	O	THR	A	335	6.591	21.962	-15.233	1.00	42.24	
O											
ANISOU	799	O	THR	A	335	5317	5422	5307	-6	27	-4
O											
ATOM	800	N	ILE	A	336	5.364	21.130	-13.536	1.00	41.53	
N											
ANISOU	800	N	ILE	A	336	5220	5253	5307	-22	0	-2
N											
ATOM	801	CA	ILE	A	336	6.033	19.830	-13.521	1.00	41.14	
C											
ANISOU	801	CA	ILE	A	336	5192	5158	5280	-5	-6	-31
C											
ATOM	802	CB	ILE	A	336	7.112	19.767	-12.399	1.00	41.49	
C											
ANISOU	802	CB	ILE	A	336	5260	5196	5307	8	7	-66
C											
ATOM	803	CG1	ILE	A	336	8.130	18.656	-12.661	1.00	41.08	
C											
ANISOU	803	CG1	ILE	A	336	5207	5068	5332	72	-8	-97
C											
ATOM	804	CD1	ILE	A	336	9.561	19.137	-12.634	1.00	40.27	
C											
ANISOU	804	CD1	ILE	A	336	5179	4874	5247	-8	-10	-97
C											
ATOM	805	CG2	ILE	A	336	6.480	19.580	-11.011	1.00	42.34	
C											
ANISOU	805	CG2	ILE	A	336	5379	5259	5448	-35	90	0
C											
ATOM	806	C	ILE	A	336	5.046	18.664	-13.378	1.00	40.65	
C											
ANISOU	806	C	ILE	A	336	5139	5100	5203	-7	0	-31
C											
ATOM	807	O	ILE	A	336	4.003	18.801	-12.761	1.00	41.39	
O											
ANISOU	807	O	ILE	A	336	5205	5207	5311	-38	-23	-17
O											
ATOM	808	N	SER	A	337	5.387	17.522	-13.967	1.00	39.94	
N											
ANISOU	808	N	SER	A	337	5084	5004	5084	-68	-53	-17
N											
ATOM	809	CA	SER	A	337	4.678	16.250	-13.746	1.00	38.58	
C											
ANISOU	809	CA	SER	A	337	4946	4829	4883	-42	-91	-14
C											
ATOM	810	CB	SER	A	337	3.495	16.104	-14.717	1.00	38.30	
C											
ANISOU	810	CB	SER	A	337	4878	4805	4869	-19	-98	-9
C											
ATOM	811	OG	SER	A	337	3.996	15.979	-16.037	1.00	37.12	
O											
ANISOU	811	OG	SER	A	337	4890	4556	4658	-36	-329	74

O										
ATOM	812	C	SER A 337	5.671	15.117	-13.992	1.00	37.26		
C										
ANISOU	812	C	SER A 337	4761	4669	4727	-28	-55	-53	
C										
ATOM	813	O	SER A 337	6.763	15.356	-14.454	1.00	36.64		
O										
ANISOU	813	O	SER A 337	4712	4560	4646	-72	-77	-119	
O										
ATOM	814	N	LYS A 338	5.259	13.888	-13.696	1.00	36.86		
N										
ANISOU	814	N	LYS A 338	4689	4665	4651	34	-19	-58	
N										
ATOM	815	CA	LYS A 338	5.995	12.667	-14.048	1.00	36.00		
C										
ANISOU	815	CA	LYS A 338	4571	4534	4570	-3	-18	-52	
C										
ATOM	816	CB	LYS A 338	5.191	11.468	-13.542	1.00	35.29		
C										
ANISOU	816	CB	LYS A 338	4455	4494	4457	5	24	-42	
C										
ATOM	817	CG	LYS A 338	5.828	10.099	-13.681	1.00	33.67		
C										
ANISOU	817	CG	LYS A 338	4244	4375	4173	27	-21	32	
C										
ATOM	818	CD	LYS A 338	4.832	8.999	-13.385	1.00	30.62		
C										
ANISOU	818	CD	LYS A 338	3883	4010	3741	34	-66	1	
C										
ATOM	819	CE	LYS A 338	3.843	8.803	-14.522	1.00	29.42		
C										
ANISOU	819	CE	LYS A 338	3949	3572	3656	25	104	81	
C										
ATOM	820	NZ	LYS A 338	4.576	8.396	-15.745	1.00	27.21		
N										
ANISOU	820	NZ	LYS A 338	3843	3118	3374	-83	-117	132	
N										
ATOM	821	C	LYS A 338	6.258	12.571	-15.572	1.00	35.50		
C										
ANISOU	821	C	LYS A 338	4535	4440	4512	-21	-20	-80	
C										
ATOM	822	O	LYS A 338	5.479	13.073	-16.374	1.00	34.30		
O										
ANISOU	822	O	LYS A 338	4439	4209	4381	-34	4	-116	
O										
ATOM	823	N	ALA A 339	7.366	11.950	-15.968	1.00	35.70		
N										
ANISOU	823	N	ALA A 339	4573	4471	4517	-35	-30	-65	
N										
ATOM	824	CA	ALA A 339	7.638	11.750	-17.393	1.00	36.15		
C										
ANISOU	824	CA	ALA A 339	4615	4521	4599	-15	-13	-58	
C										
ATOM	825	CB	ALA A 339	8.837	10.811	-17.606	1.00	36.05		
C										
ANISOU	825	CB	ALA A 339	4546	4589	4559	-45	-58	-37	
C										
ATOM	826	C	ALA A 339	6.373	11.204	-18.084	1.00	36.01		
C										
ANISOU	826	C	ALA A 339	4591	4506	4583	-12	-7	-66	
C										
ATOM	827	O	ALA A 339	5.767	10.235	-17.626	1.00	35.29		
O										

210 / 279

ANISOU	827	O	ALA	A	339	4495	4403	4508	20	0	-69
O											
ATOM	828	N	LYS	A	340	5.957	11.871	-19.150	1.00	36.06	
N											
ANISOU	828	N	LYS	A	340	4636	4483	4580	-50	15	-31
N											
ATOM	829	CA	LYS	A	340	4.776	11.478	-19.901	1.00	36.79	
C											
ANISOU	829	CA	LYS	A	340	4727	4622	4626	-22	-2	-23
C											
ATOM	830	CB	LYS	A	340	4.201	12.675	-20.674	1.00	37.11	
C											
ANISOU	830	CB	LYS	A	340	4729	4625	4746	-33	22	-34
C											
ATOM	831	CG	LYS	A	340	3.417	13.646	-19.808	1.00	38.15	
C											
ANISOU	831	CG	LYS	A	340	4951	4783	4759	-17	8	-23
C											
ATOM	832	CD	LYS	A	340	3.035	14.930	-20.552	1.00	38.31	
C											
ANISOU	832	CD	LYS	A	340	4857	4845	4852	-53	-56	-11
C											
ATOM	833	CE	LYS	A	340	2.454	15.928	-19.583	1.00	39.66	
C											
ANISOU	833	CE	LYS	A	340	4859	5039	5171	67	-10	-26
C											
ATOM	834	NZ	LYS	A	340	2.557	17.333	-20.080	1.00	42.09	
N											
ANISOU	834	NZ	LYS	A	340	5215	5411	5363	-28	21	40
N											
ATOM	835	C	LYS	A	340	5.120	10.297	-20.833	1.00	36.19	
C											
ANISOU	835	C	LYS	A	340	4615	4591	4545	0	0	-14
C											
ATOM	836	O	LYS	A	340	6.286	9.917	-20.940	1.00	36.01	
O											
ANISOU	836	O	LYS	A	340	4613	4608	4461	-17	-8	-9
O											
ATOM	837	N	GLY	A	341	4.109	9.717	-21.486	1.00	35.13	
N											
ANISOU	837	N	GLY	A	341	4487	4443	4417	-7	9	-27
N											
ATOM	838	CA	GLY	A	341	4.315	8.552	-22.351	1.00	33.53	
C											
ANISOU	838	CA	GLY	A	341	4232	4341	4165	28	-19	20
C											
ATOM	839	C	GLY	A	341	3.679	7.281	-21.845	1.00	32.52	
C											
ANISOU	839	C	GLY	A	341	4085	4155	4114	71	-32	-34
C											
ATOM	840	O	GLY	A	341	3.552	7.075	-20.628	1.00	31.86	
O											
ANISOU	840	O	GLY	A	341	3925	4073	4106	82	-44	-75
O											
ATOM	841	N	GLN	A	342	3.276	6.427	-22.781	1.00	31.81	
N											
ANISOU	841	N	GLN	A	342	4021	4126	3939	78	-15	-18
N											
ATOM	842	CA	GLN	A	342	2.697	5.123	-22.472	1.00	31.42	
C											
ANISOU	842	CA	GLN	A	342	4041	3988	3909	45	-37	-59
C											
ATOM	843	CB	GLN	A	342	2.283	4.401	-23.770	1.00	31.69	

C										
ANISOU	843	CB	GLN A 342	4054	3993	3992	79	-26	-40	
C										
ATOM	844	CG	GLN A 342	1.017	4.931	-24.463	1.00	30.27		
C										
ANISOU	844	CG	GLN A 342	4081	3823	3597	2	-53	-130	
C										
ATOM	845	CD	GLN A 342	-0.282	4.551	-23.748	1.00	28.05		
C										
ANISOU	845	CD	GLN A 342	3804	3406	3445	149	-27	92	
C										
ATOM	846	OE1	GLN A 342	-0.345	3.562	-22.997	1.00	31.57		
O										
ANISOU	846	OE1	GLN A 342	4346	4036	3611	80	115	-150	
O										
ATOM	847	NE2	GLN A 342	-1.324	5.329	-23.982	1.00	27.78		
N										
ANISOU	847	NE2	GLN A 342	3742	3685	3128	63	86	28	
N										
ATOM	848	C	GLN A 342	3.699	4.278	-21.678	1.00	31.71		
C										
ANISOU	848	C	GLN A 342	4108	3972	3968	2	-33	-40	
C										
ATOM	849	O	GLN A 342	4.828	4.083	-22.128	1.00	31.42		
O										
ANISOU	849	O	GLN A 342	4162	3884	3891	-39	-112	-23	
O										
ATOM	850	N	PRO A 343	3.301	3.785	-20.489	1.00	32.23		
N										
ANISOU	850	N	PRO A 343	4160	4035	4051	10	-31	-23	
N										
ATOM	851	CA	PRO A 343	4.181	2.960	-19.638	1.00	32.69		
C										
ANISOU	851	CA	PRO A 343	4213	4109	4098	-3	-4	6	
C										
ATOM	852	CB	PRO A 343	3.380	2.837	-18.349	1.00	32.19		
C										
ANISOU	852	CB	PRO A 343	4159	4011	4060	30	-13	10	
C										
ATOM	853	CG	PRO A 343	1.964	2.866	-18.832	1.00	32.66		
C										
ANISOU	853	CG	PRO A 343	4242	4047	4116	0	21	-24	
C										
ATOM	854	CD	PRO A 343	1.968	3.940	-19.879	1.00	32.17		
C										
ANISOU	854	CD	PRO A 343	4181	4052	3987	16	-21	-13	
C										
ATOM	855	C	PRO A 343	4.431	1.555	-20.220	1.00	33.20		
C										
ANISOU	855	C	PRO A 343	4284	4187	4141	-16	-2	31	
C										
ATOM	856	O	PRO A 343	3.523	0.944	-20.760	1.00	32.66		
O										
ANISOU	856	O	PRO A 343	4246	4100	4061	-46	-31	42	
O										
ATOM	857	N	ARG A 344	5.661	1.059	-20.113	1.00	34.11		
N										
ANISOU	857	N	ARG A 344	4385	4381	4194	-20	-12	7	
N										
ATOM	858	CA	ARG A 344	5.966	-0.318	-20.495	1.00	34.88		
C										
ANISOU	858	CA	ARG A 344	4443	4484	4326	4	-8	-16	
C										

ATOM	859	CB	ARG	A	344	6.837	-0.389	-21.766	1.00	35.47
C										
ANISOU	859	CB	ARG	A	344	4420	4544	4511	-12	-30 -52
C										
ATOM	860	CG	ARG	A	344	6.369	0.413	-22.984	1.00	35.46
C										
ANISOU	860	CG	ARG	A	344	4558	4556	4357	-10	103 -41
C										
ATOM	861	CD	ARG	A	344	7.187	-0.019	-24.224	1.00	42.30
C										
ANISOU	861	CD	ARG	A	344	5121	5594	5357	27	-186 -291
C										
ATOM	862	NE	ARG	A	344	7.453	1.068	-25.179	1.00	34.97
N										
ANISOU	862	NE	ARG	A	344	4759	4835	3690	-15	779 214
N										
ATOM	863	CZ	ARG	A	344	8.223	0.943	-26.268	1.00	46.83
C										
ANISOU	863	CZ	ARG	A	344	5377	6384	6029	-370	-579 -303
C										
ATOM	864	NH1	ARG	A	344	8.798	-0.225	-26.541	1.00	36.80
N										
ANISOU	864	NH1	ARG	A	344	4533	4393	5057	477	227 -349
N										
ATOM	865	NH2	ARG	A	344	8.406	1.976	-27.085	1.00	32.95
N										
ANISOU	865	NH2	ARG	A	344	4473	3988	4058	-185	138 349
N										
ATOM	866	C	ARG	A	344	6.652	-1.014	-19.326	1.00	35.55
C										
ANISOU	866	C	ARG	A	344	4503	4565	4439	-1	2 -55
C										
ATOM	867	O	ARG	A	344	7.600	-0.490	-18.751	1.00	35.51
O										
ANISOU	867	O	ARG	A	344	4476	4590	4426	24	-11 -37
O										
ATOM	868	N	GLU	A	345	6.144	-2.186	-18.971	1.00	35.97
N										
ANISOU	868	N	GLU	A	345	4588	4586	4489	-8	-41 -78
N										
ATOM	869	CA	GLU	A	345	6.656	-2.995	-17.880	1.00	36.16
C										
ANISOU	869	CA	GLU	A	345	4630	4626	4481	3	-56 -31
C										
ATOM	870	CB	GLU	A	345	5.668	-4.114	-17.573	1.00	36.66
C										
ANISOU	870	CB	GLU	A	345	4710	4666	4553	2	-39 -45
C										
ATOM	871	CG	GLU	A	345	5.939	-4.802	-16.249	1.00	38.92
C										
ANISOU	871	CG	GLU	A	345	5030	4961	4795	50	-70 23
C										
ATOM	872	CD	GLU	A	345	5.466	-6.244	-16.197	1.00	39.25
C										
ANISOU	872	CD	GLU	A	345	4949	4976	4987	-33	-88 12
C										
ATOM	873	OE1	GLU	A	345	6.215	-7.086	-15.680	1.00	41.62
O										
ANISOU	873	OE1	GLU	A	345	5509	5056	5247	-30	46 -48
O										
ATOM	874	OE2	GLU	A	345	4.360	-6.544	-16.660	1.00	41.29
O										
ANISOU	874	OE2	GLU	A	345	5302	5254	5132	24	-6 -54

O										
ATOM	875	C	GLU	A	345	8.014	-3.607	-18.213	1.00	36.11
C										
ANISOU	875	C	GLU	A	345	4648	4610	4459	-14	-51 -17
C										
ATOM	876	O	GLU	A	345	8.151	-4.270	-19.242	1.00	35.55
O										
ANISOU	876	O	GLU	A	345	4678	4510	4316	-23	-92 -1
O										
ATOM	877	N	PRO	A	346	9.029	-3.396	-17.338	1.00	35.96
N										
ANISOU	877	N	PRO	A	346	4575	4638	4446	-16	-46 -18
N										
ATOM	878	CA	PRO	A	346	10.320	-4.041	-17.561	1.00	35.46
C										
ANISOU	878	CA	PRO	A	346	4492	4581	4399	4	-42 -18
C										
ATOM	879	CB	PRO	A	346	11.182	-3.552	-16.380	1.00	35.73
C										
ANISOU	879	CB	PRO	A	346	4524	4597	4452	12	-21 4
C										
ATOM	880	CG	PRO	A	346	10.228	-3.061	-15.358	1.00	35.62
C										
ANISOU	880	CG	PRO	A	346	4572	4580	4380	38	-12 -22
C										
ATOM	881	CD	PRO	A	346	9.046	-2.540	-16.136	1.00	35.89
C										
ANISOU	881	CD	PRO	A	346	4545	4611	4479	-7	-43 -41
C										
ATOM	882	C	PRO	A	346	10.299	-5.561	-17.570	1.00	35.18
C										
ANISOU	882	C	PRO	A	346	4416	4581	4370	-24	-79 -24
C										
ATOM	883	O	PRO	A	346	9.494	-6.194	-16.877	1.00	34.62
O										
ANISOU	883	O	PRO	A	346	4353	4580	4219	-12	-186 -66
O										
ATOM	884	N	GLN	A	347	11.219	-6.120	-18.349	1.00	35.18
N										
ANISOU	884	N	GLN	A	347	4543	4504	4317	-46	-63 -72
N										
ATOM	885	CA	GLN	A	347	11.631	-7.507	-18.254	1.00	35.53
C										
ANISOU	885	CA	GLN	A	347	4553	4530	4414	0	-45 -78
C										
ATOM	886	CB	GLN	A	347	11.789	-8.075	-19.670	1.00	36.10
C										
ANISOU	886	CB	GLN	A	347	4629	4569	4515	5	-25 -114
C										
ATOM	887	CG	GLN	A	347	10.539	-7.907	-20.521	1.00	37.59
C										
ANISOU	887	CG	GLN	A	347	4887	4687	4707	85	-90 -113
C										
ATOM	888	CD	GLN	A	347	10.854	-7.408	-21.902	1.00	40.93
C										
ANISOU	888	CD	GLN	A	347	5327	5075	5147	-59	-3 9
C										
ATOM	889	OE1	GLN	A	347	11.724	-7.946	-22.587	1.00	42.38
O										
ANISOU	889	OE1	GLN	A	347	5289	5375	5436	61	68 117
O										
ATOM	890	NE2	GLN	A	347	10.135	-6.381	-22.337	1.00	41.52
N										

ANISOU N	890	NE2	GLN	A	347	5299	5090	5385	92	-137	-75
ATOM C	891	C	GLN	A	347	12.969	-7.538	-17.513	1.00	34.81	
ANISOU C	891	C	GLN	A	347	4451	4436	4337	-31	7	-68
ATOM O	892	O	GLN	A	347	13.907	-6.895	-17.937	1.00	34.34	
ANISOU O	892	O	GLN	A	347	4438	4322	4286	-90	-26	-42
ATOM N	893	N	VAL	A	348	13.034	-8.283	-16.409	1.00	34.50	
ANISOU N	893	N	VAL	A	348	4388	4352	4366	-33	16	-8
ATOM C	894	CA	VAL	A	348	14.195	-8.336	-15.520	1.00	34.25	
ANISOU C	894	CA	VAL	A	348	4345	4345	4324	-31	17	-6
ATOM C	895	CB	VAL	A	348	13.798	-8.061	-14.027	1.00	34.35	
ANISOU C	895	CB	VAL	A	348	4334	4344	4372	-35	28	27
ATOM C	896	CG1	VAL	A	348	14.988	-8.250	-13.096	1.00	33.51	
ANISOU C	896	CG1	VAL	A	348	4238	4355	4138	-36	50	-12
ATOM C	897	CG2	VAL	A	348	13.222	-6.668	-13.844	1.00	33.93	
ANISOU C	897	CG2	VAL	A	348	4281	4316	4294	5	17	-7
ATOM C	898	C	VAL	A	348	14.833	-9.720	-15.601	1.00	34.64	
ANISOU C	898	C	VAL	A	348	4404	4383	4373	-32	6	27
ATOM O	899	O	VAL	A	348	14.156	-10.730	-15.359	1.00	34.49	
ANISOU O	899	O	VAL	A	348	4366	4418	4317	-11	-34	44
ATOM N	900	N	TYR	A	349	16.126	-9.769	-15.935	1.00	34.98	
ANISOU N	900	N	TYR	A	349	4437	4393	4459	-54	12	32
ATOM C	901	CA	TYR	A	349	16.835	-11.040	-16.125	1.00	35.60	
ANISOU C	901	CA	TYR	A	349	4504	4476	4547	-57	-29	71
ATOM C	902	CB	TYR	A	349	17.128	-11.334	-17.612	1.00	33.85	
ANISOU C	902	CB	TYR	A	349	4148	4389	4323	-53	-206	-7
ATOM C	903	CG	TYR	A	349	15.930	-11.322	-18.532	1.00	37.15	
ANISOU C	903	CG	TYR	A	349	4880	4508	4724	99	192	-36
ATOM C	904	CD1	TYR	A	349	14.882	-12.237	-18.364	1.00	33.27	
ANISOU C	904	CD1	TYR	A	349	4290	4016	4335	-10	-59	97
ATOM C	905	CE1	TYR	A	349	13.785	-12.242	-19.206	1.00	31.99	
ANISOU C	905	CE1	TYR	A	349	4268	3911	3974	66	-115	123
ATOM	906	CZ	TYR	A	349	13.707	-11.324	-20.253	1.00	36.97	

C										
ANISOU	906	CZ	TYR	A	349	5013	4524	4509	156	357 -207
C										
ATOM	907	OH	TYR	A	349	12.592	-11.340	-21.085	1.00	32.56
O										
ANISOU	907	OH	TYR	A	349	3951	4398	4022	-11	-218 -91
O										
ATOM	908	CE2	TYR	A	349	14.726	-10.404	-20.457	1.00	31.78
C										
ANISOU	908	CE2	TYR	A	349	4079	4051	3944	-130	10 -26
C										
ATOM	909	CD2	TYR	A	349	15.850	-10.416	-19.605	1.00	34.01
C										
ANISOU	909	CD2	TYR	A	349	4476	4272	4172	69	-61 92
C										
ATOM	910	C	TYR	A	349	18.143	-11.028	-15.368	1.00	36.74
C										
ANISOU	910	C	TYR	A	349	4676	4594	4687	-68	-58 59
C										
ATOM	911	O	TYR	A	349	18.887	-10.037	-15.418	1.00	37.20
O										
ANISOU	911	O	TYR	A	349	4797	4592	4743	-80	-156 107
O										
ATOM	912	N	THR	A	350	18.432	-12.130	-14.680	1.00	37.32
N										
ANISOU	912	N	THR	A	350	4742	4621	4817	-56	-66 36
N										
ATOM	913	CA	THR	A	350	19.718	-12.304	-14.026	1.00	38.14
C										
ANISOU	913	CA	THR	A	350	4825	4721	4943	-21	-81 20
C										
ATOM	914	CB	THR	A	350	19.559	-12.839	-12.597	1.00	38.40
C										
ANISOU	914	CB	THR	A	350	4860	4761	4966	-31	-61 7
C										
ATOM	915	OG1	THR	A	350	18.731	-14.018	-12.598	1.00	39.46
O										
ANISOU	915	OG1	THR	A	350	4927	4782	5282	-54	-167 -97
O										
ATOM	916	CG2	THR	A	350	18.928	-11.782	-11.709	1.00	37.43
C										
ANISOU	916	CG2	THR	A	350	4800	4532	4887	17	-112 -76
C										
ATOM	917	C	THR	A	350	20.611	-13.217	-14.868	1.00	38.74
C										
ANISOU	917	C	THR	A	350	4927	4769	5022	1	-79 18
C										
ATOM	918	O	THR	A	350	20.123	-14.185	-15.444	1.00	38.86
O										
ANISOU	918	O	THR	A	350	4914	4739	5112	8	-126 13
O										
ATOM	919	N	LEU	A	351	21.898	-12.871	-14.979	1.00	39.30
N										
ANISOU	919	N	LEU	A	351	4977	4875	5078	7	-62 40
N										
ATOM	920	CA	LEU	A	351	22.867	-13.658	-15.755	1.00	40.29
C										
ANISOU	920	CA	LEU	A	351	5136	5014	5156	0	-38 5
C										
ATOM	921	CB	LEU	A	351	23.357	-12.912	-17.004	1.00	40.56
C										
ANISOU	921	CB	LEU	A	351	5169	5086	5156	-3	-7 -12
C										

ATOM C	922	CG	LEU	A	351	22.508	-11.927	-17.836	1.00	41.22	
ANISOU C	922	CG	LEU	A	351	5191	5222	5247	-1	-7	19
ATOM C	923	CD1	LEU	A	351	23.198	-11.617	-19.177	1.00	42.94	
ANISOU C	923	CD1	LEU	A	351	5594	5366	5355	47	57	-43
ATOM C	924	CD2	LEU	A	351	21.117	-12.418	-18.099	1.00	41.57	
ANISOU C	924	CD2	LEU	A	351	5226	5213	5354	23	-32	-39
ATOM C	925	C	LEU	A	351	24.076	-14.028	-14.888	1.00	40.94	
ANISOU C	925	C	LEU	A	351	5192	5092	5268	4	-33	-14
ATOM O	926	O	LEU	A	351	24.582	-13.189	-14.116	1.00	41.33	
ANISOU O	926	O	LEU	A	351	5233	5217	5252	6	-14	2
ATOM N	927	N	PRO	A	352	24.561	-15.277	-15.020	1.00	41.37	
ANISOU N	927	N	PRO	A	352	5252	5155	5309	-9	-38	-17
ATOM C	928	CA	PRO	A	352	25.657	-15.706	-14.168	1.00	41.43	
ANISOU C	928	CA	PRO	A	352	5288	5166	5287	4	-22	0
ATOM C	929	CB	PRO	A	352	25.512	-17.225	-14.185	1.00	41.27	
ANISOU C	929	CB	PRO	A	352	5261	5141	5277	-45	-23	-16
ATOM C	930	CG	PRO	A	352	25.003	-17.514	-15.565	1.00	41.74	
ANISOU C	930	CG	PRO	A	352	5297	5231	5329	-13	-41	16
ATOM C	931	CD	PRO	A	352	24.147	-16.336	-15.966	1.00	41.31	
ANISOU C	931	CD	PRO	A	352	5282	5099	5315	6	7	-17
ATOM C	932	C	PRO	A	352	27.006	-15.272	-14.759	1.00	41.59	
ANISOU C	932	C	PRO	A	352	5340	5165	5297	-16	0	11
ATOM O	933	O	PRO	A	352	27.064	-14.880	-15.928	1.00	42.08	
ANISOU O	933	O	PRO	A	352	5477	5215	5295	16	16	-12
ATOM N	934	N	PRO	A	353	28.089	-15.328	-13.967	1.00	41.79	
ANISOU N	934	N	PRO	A	353	5347	5197	5334	-44	8	11
ATOM C	935	CA	PRO	A	353	29.375	-14.972	-14.556	1.00	42.47	
ANISOU C	935	CA	PRO	A	353	5405	5319	5412	-10	26	-14
ATOM C	936	CB	PRO	A	353	30.363	-15.451	-13.503	1.00	42.11	
ANISOU C	936	CB	PRO	A	353	5366	5274	5359	6	19	1
ATOM C	937	CG	PRO	A	353	29.616	-15.312	-12.210	1.00	41.83	
ANISOU	937	CG	PRO	A	353	5318	5207	5368	-12	18	34

C										
ATOM	938	CD	PRO A 353	28.212	-15.662	-12.533	1.00	41.62		
C										
ANISOU	938	CD	PRO A 353	5287	5204	5320	-37	9	-1	
C										
ATOM	939	C	PRO A 353	29.664	-15.642	-15.914	1.00	43.38		
C										
ANISOU	939	C	PRO A 353	5539	5438	5506	-59	7	0	
C										
ATOM	940	O	PRO A 353	29.099	-16.686	-16.238	1.00	43.79		
O										
ANISOU	940	O	PRO A 353	5568	5453	5616	-92	-13	7	
O										
ATOM	941	N	SER A 354	30.550	-15.029	-16.692	1.00	44.02		
N										
ANISOU	941	N	SER A 354	5647	5507	5570	-62	32	25	
N										
ATOM	942	CA	SER A 354	31.029	-15.600	-17.947	1.00	44.25		
C										
ANISOU	942	CA	SER A 354	5684	5544	5581	-36	2	16	
C										
ATOM	943	CB	SER A 354	31.801	-14.533	-18.728	1.00	43.63		
C										
ANISOU	943	CB	SER A 354	5643	5426	5508	-42	5	44	
C										
ATOM	944	OG	SER A 354	32.102	-14.957	-20.044	1.00	43.43		
O										
ANISOU	944	OG	SER A 354	5647	5312	5541	-41	-107	63	
O										
ATOM	945	C	SER A 354	31.932	-16.816	-17.684	1.00	44.69		
C										
ANISOU	945	C	SER A 354	5752	5587	5640	-28	-2	53	
C										
ATOM	946	O	SER A 354	32.576	-16.911	-16.628	1.00	45.23		
O										
ANISOU	946	O	SER A 354	5780	5703	5700	-78	-15	91	
O										
ATOM	947	N	ARG A 355	31.978	-17.740	-18.639	1.00	45.17		
N										
ANISOU	947	N	ARG A 355	5825	5641	5696	-10	22	54	
N										
ATOM	948	CA	ARG A 355	32.923	-18.860	-18.570	1.00	45.90		
C										
ANISOU	948	CA	ARG A 355	5863	5750	5824	12	-2	65	
C										
ATOM	949	CB	ARG A 355	32.871	-19.735	-19.832	1.00	46.10		
C										
ANISOU	949	CB	ARG A 355	5934	5737	5845	20	17	36	
C										
ATOM	950	CG	ARG A 355	33.824	-20.954	-19.799	1.00	47.55		
C										
ANISOU	950	CG	ARG A 355	6059	5947	6060	67	78	50	
C										
ATOM	951	CD	ARG A 355	33.145	-22.221	-19.262	1.00	49.46		
C										
ANISOU	951	CD	ARG A 355	6372	5960	6459	-34	23	14	
C										
ATOM	952	NE	ARG A 355	34.055	-23.376	-19.231	1.00	51.31		
N										
ANISOU	952	NE	ARG A 355	6419	6227	6849	47	33	24	
N										
ATOM	953	CZ	ARG A 355	33.662	-24.659	-19.211	1.00	49.87		
C										

ANISOU C	953	CZ	ARG	A	355	5961	6130	6856	36	60	63
ATOM N	954	NH1	ARG	A	355	32.368	-24.974	-19.225	1.00	51.01	
ANISOU N	954	NH1	ARG	A	355	6530	6058	6792	-50	14	64
ATOM N	955	NH2	ARG	A	355	34.566	-25.636	-19.183	1.00	51.06	
ANISOU N	955	NH2	ARG	A	355	6527	6353	6518	-114	122	111
ATOM C	956	C	ARG	A	355	34.337	-18.338	-18.363	1.00	46.16	
ANISOU C	956	C	ARG	A	355	5873	5790	5874	3	-27	85
ATOM O	957	O	ARG	A	355	35.002	-18.735	-17.402	1.00	46.73	
ANISOU O	957	O	ARG	A	355	5996	5863	5893	12	-54	137
ATOM N	958	N	GLU	A	356	34.784	-17.436	-19.244	1.00	46.08	
ANISOU N	958	N	GLU	A	356	5863	5771	5872	22	-47	101
ATOM C	959	CA	GLU	A	356	36.160	-16.914	-19.201	1.00	45.95	
ANISOU C	959	CA	GLU	A	356	5824	5716	5915	-12	-25	83
ATOM C	960	CB	GLU	A	356	36.460	-16.024	-20.406	1.00	46.56	
ANISOU C	960	CB	GLU	A	356	5923	5802	5963	-14	-29	55
ATOM C	961	CG	GLU	A	356	35.478	-16.076	-21.574	1.00	48.71	
ANISOU C	961	CG	GLU	A	356	6157	6172	6178	-18	-52	-43
ATOM C	962	CD	GLU	A	356	35.388	-14.734	-22.325	1.00	44.20	
ANISOU C	962	CD	GLU	A	356	5022	5601	6171	-315	-566	188
ATOM O	963	OE1	GLU	A	356	36.355	-13.927	-22.227	1.00	50.80	
ANISOU O	963	OE1	GLU	A	356	6751	6418	6131	327	68	47
ATOM O	964	OE2	GLU	A	356	34.348	-14.493	-23.006	1.00	52.20	
ANISOU O	964	OE2	GLU	A	356	7079	5919	6833	-107	191	-53
ATOM C	965	C	GLU	A	356	36.487	-16.133	-17.917	1.00	45.96	
ANISOU C	965	C	GLU	A	356	5812	5714	5934	-1	-14	67
ATOM O	966	O	GLU	A	356	37.654	-16.022	-17.533	1.00	46.16	
ANISOU O	966	O	GLU	A	356	5833	5670	6036	10	-15	75
ATOM N	967	N	GLU	A	357	35.465	-15.585	-17.259	1.00	46.00	
ANISOU N	967	N	GLU	A	357	5832	5718	5928	-5	-1	46
ATOM C	968	CA	GLU	A	357	35.658	-14.822	-16.022	1.00	46.17	
ANISOU C	968	CA	GLU	A	357	5858	5789	5893	-19	-29	37
ATOM	969	CB	GLU	A	357	34.500	-13.832	-15.807	1.00	46.20	

C										
ANISOU	969	CB	GLU A 357	5855	5775	5922	-22	-31	25	
C										
ATOM	970	CG	GLU A 357	34.741	-12.830	-14.672	1.00	46.03		
C										
ANISOU	970	CG	GLU A 357	5890	5813	5786	-3	20	5	
C										
ATOM	971	CD	GLU A 357	33.511	-12.050	-14.288	1.00	45.84		
C										
ANISOU	971	CD	GLU A 357	5810	5736	5870	18	-15	23	
C										
ATOM	972	OE1	GLU A 357	32.394	-12.574	-14.466	1.00	47.43		
O										
ANISOU	972	OE1	GLU A 357	5997	5800	6223	-69	19	64	
O										
ATOM	973	OE2	GLU A 357	33.665	-10.908	-13.793	1.00	47.18		
O										
ANISOU	973	OE2	GLU A 357	6018	5915	5990	-47	69	47	
O										
ATOM	974	C	GLU A 357	35.791	-15.713	-14.789	1.00	46.48		
C										
ANISOU	974	C	GLU A 357	5902	5797	5962	2	-60	36	
C										
ATOM	975	O	GLU A 357	36.116	-15.242	-13.695	1.00	46.82		
O										
ANISOU	975	O	GLU A 357	5954	5880	5956	12	-81	46	
O										
ATOM	976	N	MET A 358	35.527	-17.000	-14.966	1.00	47.05		
N										
ANISOU	976	N	MET A 358	5945	5879	6053	-19	-52	49	
N										
ATOM	977	CA	MET A 358	35.559	-17.963	-13.864	1.00	47.74		
C										
ANISOU	977	CA	MET A 358	6017	5957	6164	-17	-69	67	
C										
ATOM	978	CB	MET A 358	34.728	-19.192	-14.238	1.00	48.21		
C										
ANISOU	978	CB	MET A 358	6105	5944	6269	-34	-75	93	
C										
ATOM	979	CG	MET A 358	33.208	-18.945	-14.199	1.00	49.31		
C										
ANISOU	979	CG	MET A 358	6165	6106	6465	-8	-14	71	
C										
ATOM	980	SD	MET A 358	32.552	-19.075	-12.527	1.00	52.44		
S										
ANISOU	980	SD	MET A 358	6730	6476	6717	-163	20	106	
S										
ATOM	981	CE	MET A 358	32.822	-17.454	-11.834	1.00	51.39		
C										
ANISOU	981	CE	MET A 358	6475	6527	6523	47	-35	165	
C										
ATOM	982	C	MET A 358	36.981	-18.353	-13.440	1.00	47.84		
C										
ANISOU	982	C	MET A 358	6037	5968	6170	-13	-76	65	
C										
ATOM	983	O	MET A 358	37.261	-19.524	-13.131	1.00	48.04		
O										
ANISOU	983	O	MET A 358	6128	5948	6176	-23	-92	42	
O										
ATOM	984	N	THR A 359	37.855	-17.348	-13.399	1.00	47.68		
N										
ANISOU	984	N	THR A 359	6033	5948	6134	-20	-77	59	
N										

ATOM	985	CA	THR	A	359	39.290	-17.516	-13.163	1.00	47.64	
C											
ANISOU	985	CA	THR	A	359	6020	5995	6085	0	-63	39
C											
ATOM	986	CB	THR	A	359	40.100	-17.070	-14.403	1.00	47.73	
C											
ANISOU	986	CB	THR	A	359	6003	6022	6108	15	-50	37
C											
ATOM	987	OG1	THR	A	359	39.769	-17.914	-15.522	1.00	49.09	
O											
ANISOU	987	OG1	THR	A	359	6271	6170	6209	91	-41	16
O											
ATOM	988	CG2	THR	A	359	41.608	-17.130	-14.143	1.00	48.38	
C											
ANISOU	988	CG2	THR	A	359	6138	6071	6172	-8	-78	7
C											
ATOM	989	C	THR	A	359	39.722	-16.691	-11.958	1.00	47.42	
C											
ANISOU	989	C	THR	A	359	5966	5981	6070	-5	-71	67
C											
ATOM	990	O	THR	A	359	40.618	-17.090	-11.219	1.00	47.99	
O											
ANISOU	990	O	THR	A	359	6050	6064	6120	6	-66	108
O											
ATOM	991	N	LYS	A	360	39.081	-15.545	-11.763	1.00	46.86	
N											
ANISOU	991	N	LYS	A	360	5868	5926	6009	11	-50	41
N											
ATOM	992	CA	LYS	A	360	39.494	-14.595	-10.743	1.00	47.00	
C											
ANISOU	992	CA	LYS	A	360	5889	5971	5996	29	-30	61
C											
ATOM	993	CB	LYS	A	360	39.110	-13.153	-11.142	1.00	46.95	
C											
ANISOU	993	CB	LYS	A	360	5886	5968	5983	21	-5	46
C											
ATOM	994	CG	LYS	A	360	38.907	-12.927	-12.637	1.00	47.63	
C											
ANISOU	994	CG	LYS	A	360	5963	6082	6050	61	-16	111
C											
ATOM	995	CD	LYS	A	360	40.223	-12.855	-13.426	1.00	50.53	
C											
ANISOU	995	CD	LYS	A	360	6261	6404	6531	60	21	9
C											
ATOM	996	CE	LYS	A	360	39.961	-12.875	-14.932	1.00	49.77	
C											
ANISOU	996	CE	LYS	A	360	6180	6480	6250	30	132	33
C											
ATOM	997	NZ	LYS	A	360	41.160	-12.482	-15.751	1.00	53.54	
N											
ANISOU	997	NZ	LYS	A	360	6756	6647	6937	76	9	-32
N											
ATOM	998	C	LYS	A	360	38.846	-15.001	-9.427	1.00	47.06	
C											
ANISOU	998	C	LYS	A	360	5905	5954	6021	12	-44	84
C											
ATOM	999	O	LYS	A	360	38.141	-16.004	-9.374	1.00	47.87	
O											
ANISOU	999	O	LYS	A	360	6011	6041	6135	7	-64	106
O											
ATOM	1000	N	ASN	A	361	39.081	-14.239	-8.368	1.00	46.80	
N											
ANISOU	1000	N	ASN	A	361	5895	5940	5944	39	-18	64

N										
ATOM	1001	CA	ASN A 361	38.505	-14.578	-7.076	1.00	47.13		
C										
ANISOU	1001	CA	ASN A 361	5932	5982	5992	48	-3	96	
C										
ATOM	1002	CB	ASN A 361	39.554	-14.470	-5.963	1.00	47.64		
C										
ANISOU	1002	CB	ASN A 361	5962	6070	6066	49	-24	69	
C										
ATOM	1003	CG	ASN A 361	40.414	-13.225	-6.085	1.00	48.35		
C										
ANISOU	1003	CG	ASN A 361	6032	6093	6242	20	57	53	
C										
ATOM	1004	OD1	ASN A 361	39.932	-12.094	-5.891	1.00	50.52		
O										
ANISOU	1004	OD1	ASN A 361	6442	6402	6351	180	54	178	
O										
ATOM	1005	ND2	ASN A 361	41.709	-13.426	-6.389	1.00	49.41		
N										
ANISOU	1005	ND2	ASN A 361	6268	6360	6143	31	14	44	
N										
ATOM	1006	C	ASN A 361	37.271	-13.744	-6.746	1.00	46.75		
C										
ANISOU	1006	C	ASN A 361	5840	5963	5960	64	-21	151	
C										
ATOM	1007	O	ASN A 361	36.510	-14.058	-5.815	1.00	47.14		
O										
ANISOU	1007	O	ASN A 361	5925	6049	5938	101	-35	168	
O										
ATOM	1008	N	GLN A 362	37.081	-12.666	-7.503	1.00	46.36		
N										
ANISOU	1008	N	GLN A 362	5775	5900	5936	28	11	116	
N										
ATOM	1009	CA	GLN A 362	35.802	-11.967	-7.500	1.00	45.32		
C										
ANISOU	1009	CA	GLN A 362	5680	5745	5794	29	-4	84	
C										
ATOM	1010	CB	GLN A 362	35.974	-10.507	-7.118	1.00	45.41		
C										
ANISOU	1010	CB	GLN A 362	5707	5735	5811	14	-8	83	
C										
ATOM	1011	CG	GLN A 362	36.150	-10.334	-5.621	1.00	45.58		
C										
ANISOU	1011	CG	GLN A 362	5724	5792	5802	-53	11	71	
C										
ATOM	1012	CD	GLN A 362	36.166	-8.891	-5.204	1.00	45.91		
C										
ANISOU	1012	CD	GLN A 362	5751	5817	5875	17	163	20	
C										
ATOM	1013	OE1	GLN A 362	35.381	-8.478	-4.363	1.00	47.89		
O										
ANISOU	1013	OE1	GLN A 362	6152	5957	6085	-12	83	107	
O										
ATOM	1014	NE2	GLN A 362	37.063	-8.105	-5.797	1.00	48.21		
N										
ANISOU	1014	NE2	GLN A 362	6100	5959	6259	38	0	10	
N										
ATOM	1015	C	GLN A 362	35.119	-12.139	-8.842	1.00	44.69		
C										
ANISOU	1015	C	GLN A 362	5577	5712	5689	45	2	97	
C										
ATOM	1016	O	GLN A 362	35.779	-12.142	-9.875	1.00	45.00		
O										

ANISOU	1016	O	GLN	A	362	5562	5769	5766	68	40	92
O											
ATOM	1017	N	VAL	A	363	33.799	-12.329	-8.807	1.00	44.15	
N											
ANISOU	1017	N	VAL	A	363	5530	5638	5605	38	-12	83
N											
ATOM	1018	CA	VAL	A	363	32.983	-12.486	-10.023	1.00	43.03	
C											
ANISOU	1018	CA	VAL	A	363	5413	5445	5488	52	-6	43
C											
ATOM	1019	CB	VAL	A	363	32.402	-13.912	-10.140	1.00	43.18	
C											
ANISOU	1019	CB	VAL	A	363	5453	5459	5492	67	13	28
C											
ATOM	1020	CG1	VAL	A	363	33.520	-14.906	-10.390	1.00	43.95	
C											
ANISOU	1020	CG1	VAL	A	363	5470	5624	5603	82	29	48
C											
ATOM	1021	CG2	VAL	A	363	31.600	-14.302	-8.882	1.00	42.30	
C											
ANISOU	1021	CG2	VAL	A	363	5359	5266	5446	80	-4	36
C											
ATOM	1022	C	VAL	A	363	31.853	-11.440	-10.120	1.00	42.52	
C											
ANISOU	1022	C	VAL	A	363	5376	5398	5380	63	-27	59
C											
ATOM	1023	O	VAL	A	363	31.447	-10.834	-9.104	1.00	42.81	
O											
ANISOU	1023	O	VAL	A	363	5403	5365	5495	71	-45	3
O											
ATOM	1024	N	SER	A	364	31.354	-11.252	-11.343	1.00	41.31	
N											
ANISOU	1024	N	SER	A	364	5256	5207	5231	62	-5	118
N											
ATOM	1025	CA	SER	A	364	30.298	-10.280	-11.635	1.00	40.20	
C											
ANISOU	1025	CA	SER	A	364	5150	5057	5065	36	-19	138
C											
ATOM	1026	CB	SER	A	364	30.652	-9.403	-12.850	1.00	39.70	
C											
ANISOU	1026	CB	SER	A	364	5109	4974	5002	54	-65	171
C											
ATOM	1027	OG	SER	A	364	31.895	-8.732	-12.692	1.00	37.97	
O											
ANISOU	1027	OG	SER	A	364	5007	4675	4744	119	-32	315
O											
ATOM	1028	C	SER	A	364	28.962	-10.967	-11.868	1.00	39.95	
C											
ANISOU	1028	C	SER	A	364	5127	5016	5034	45	-31	160
C											
ATOM	1029	O	SER	A	364	28.831	-11.854	-12.735	1.00	39.44	
O											
ANISOU	1029	O	SER	A	364	5142	4888	4955	54	-17	221
O											
ATOM	1030	N	LEU	A	365	27.981	-10.554	-11.071	1.00	39.87	
N											
ANISOU	1030	N	LEU	A	365	5068	5037	5042	61	-21	140
N											
ATOM	1031	CA	LEU	A	365	26.589	-10.955	-11.269	1.00	39.99	
C											
ANISOU	1031	CA	LEU	A	365	5074	5073	5045	9	-33	86
C											
ATOM	1032	CB	LEU	A	365	25.924	-11.321	-9.937	1.00	40.04	

C	ANISOU	1032	CB	LEU	A	365	5074	5098	5040	-11	-44	81
C	ATOM	1033	CG	LEU	A	365	26.530	-12.451	-9.066	1.00	40.30	
C	ANISOU	1033	CG	LEU	A	365	5182	5030	5100	14	-46	30
C	ATOM	1034	CD1	LEU	A	365	25.665	-12.646	-7.874	1.00	39.40	
C	ANISOU	1034	CD1	LEU	A	365	5149	4949	4869	-42	31	113
C	ATOM	1035	CD2	LEU	A	365	26.697	-13.782	-9.784	1.00	39.06	
C	ANISOU	1035	CD2	LEU	A	365	5102	4928	4808	-9	-43	35
C	ATOM	1036	C	LEU	A	365	25.801	-9.848	-11.985	1.00	39.79	
C	ANISOU	1036	C	LEU	A	365	4994	5066	5057	24	-48	75
C	ATOM	1037	O	LEU	A	365	25.823	-8.677	-11.582	1.00	38.88	
C	ANISOU	1037	O	LEU	A	365	4910	4982	4882	74	-17	36
C	ATOM	1038	N	THR	A	366	25.099	-10.244	-13.044	1.00	39.92	
C	ANISOU	1038	N	THR	A	366	5000	5095	5069	45	-33	66
C	ATOM	1039	CA	THR	A	366	24.421	-9.292	-13.933	1.00	39.88	
C	ANISOU	1039	CA	THR	A	366	4988	5034	5128	11	-42	67
C	ATOM	1040	CB	THR	A	366	24.903	-9.487	-15.393	1.00	39.60	
C	ANISOU	1040	CB	THR	A	366	4964	5029	5051	11	-16	62
C	ATOM	1041	OG1	THR	A	366	26.320	-9.308	-15.459	1.00	38.90	
C	ANISOU	1041	OG1	THR	A	366	5015	4949	4816	-20	-181	162
C	ATOM	1042	CG2	THR	A	366	24.235	-8.512	-16.335	1.00	38.62	
C	ANISOU	1042	CG2	THR	A	366	4770	4839	5062	-13	46	66
C	ATOM	1043	C	THR	A	366	22.871	-9.311	-13.869	1.00	39.94	
C	ANISOU	1043	C	THR	A	366	4957	5035	5180	37	-21	65
C	ATOM	1044	O	THR	A	366	22.232	-10.335	-14.103	1.00	39.93	
C	ANISOU	1044	O	THR	A	366	4869	5040	5262	43	12	60
C	ATOM	1045	N	CYS	A	367	22.280	-8.161	-13.565	1.00	39.76	
C	ANISOU	1045	N	CYS	A	367	4930	5062	5115	29	-27	86
C	ATOM	1046	CA	CYS	A	367	20.852	-7.960	-13.805	1.00	39.32	
C	ANISOU	1046	CA	CYS	A	367	4931	4985	5022	26	-8	80
C	ATOM	1047	CB	CYS	A	367	20.233	-7.205	-12.634	1.00	39.39	
C	ANISOU	1047	CB	CYS	A	367	4944	5076	4946	21	-2	117

ATOM	1048	SG	CYS	A	367	18.472	-7.483	-12.391	1.00	39.53	
S											
ANISOU	1048	SG	CYS	A	367	4830	5094	5094	24	-129	170
S											
ATOM	1049	C	CYS	A	367	20.601	-7.210	-15.139	1.00	38.81	
C											
ANISOU	1049	C	CYS	A	367	4865	4957	4923	15	-1	46
C											
ATOM	1050	O	CYS	A	367	21.014	-6.067	-15.311	1.00	38.63	
O											
ANISOU	1050	O	CYS	A	367	4817	5047	4814	9	43	133
O											
ATOM	1051	N	LEU	A	368	19.929	-7.861	-16.076	1.00	38.38	
N											
ANISOU	1051	N	LEU	A	368	4830	4891	4859	14	7	46
N											
ATOM	1052	CA	LEU	A	368	19.456	-7.190	-17.282	1.00	37.80	
C											
ANISOU	1052	CA	LEU	A	368	4781	4779	4800	-21	24	8
C											
ATOM	1053	CB	LEU	A	368	19.625	-8.079	-18.516	1.00	37.58	
C											
ANISOU	1053	CB	LEU	A	368	4733	4775	4770	-33	5	0
C											
ATOM	1054	CG	LEU	A	368	18.982	-7.599	-19.827	1.00	37.13	
C											
ANISOU	1054	CG	LEU	A	368	4703	4665	4738	-43	63	-35
C											
ATOM	1055	CD1	LEU	A	368	19.398	-6.178	-20.237	1.00	34.47	
C											
ANISOU	1055	CD1	LEU	A	368	4419	4312	4366	-26	110	-219
C											
ATOM	1056	CD2	LEU	A	368	19.275	-8.606	-20.956	1.00	37.22	
C											
ANISOU	1056	CD2	LEU	A	368	4639	4690	4810	-62	-1	-69
C											
ATOM	1057	C	LEU	A	368	17.999	-6.740	-17.158	1.00	37.59	
C											
ANISOU	1057	C	LEU	A	368	4799	4734	4747	-15	12	21
C											
ATOM	1058	O	LEU	A	368	17.086	-7.556	-17.070	1.00	38.09	
O											
ANISOU	1058	O	LEU	A	368	4826	4762	4883	0	0	19
O											
ATOM	1059	N	VAL	A	369	17.785	-5.433	-17.182	1.00	36.66	
N											
ANISOU	1059	N	VAL	A	369	4710	4628	4590	-14	8	-31
N											
ATOM	1060	CA	VAL	A	369	16.437	-4.899	-17.150	1.00	35.51	
C											
ANISOU	1060	CA	VAL	A	369	4618	4432	4441	-32	24	-25
C											
ATOM	1061	CB	VAL	A	369	16.240	-3.901	-15.978	1.00	35.04	
C											
ANISOU	1061	CB	VAL	A	369	4579	4397	4336	-16	9	-42
C											
ATOM	1062	CG1	VAL	A	369	14.774	-3.571	-15.809	1.00	32.99	
C											
ANISOU	1062	CG1	VAL	A	369	4372	4088	4074	-154	64	-67
C											
ATOM	1063	CG2	VAL	A	369	16.828	-4.445	-14.690	1.00	33.45	
C											
ANISOU	1063	CG2	VAL	A	369	4399	4030	4280	-68	82	-84

C										
ATOM	1064	C	VAL A 369	16.149	-4.214	-18.495	1.00	35.59		
C										
ANISOU	1064	C	VAL A 369	4633	4477	4411	-5	55	-52	
C										
ATOM	1065	O	VAL A 369	16.819	-3.261	-18.862	1.00	33.94		
O										
ANISOU	1065	O	VAL A 369	4433	4347	4113	-86	75	14	
O										
ATOM	1066	N	LYS A 370	15.142	-4.699	-19.212	1.00	35.68		
N										
ANISOU	1066	N	LYS A 370	4629	4439	4486	5	61	-52	
N										
ATOM	1067	CA	LYS A 370	14.862	-4.155	-20.524	1.00	36.56		
C										
ANISOU	1067	CA	LYS A 370	4733	4538	4619	-4	54	-72	
C										
ATOM	1068	CB	LYS A 370	15.582	-4.963	-21.616	1.00	37.40		
C										
ANISOU	1068	CB	LYS A 370	4812	4631	4766	21	15	-67	
C										
ATOM	1069	CG	LYS A 370	14.926	-6.255	-22.047	1.00	38.42		
C										
ANISOU	1069	CG	LYS A 370	4880	4762	4953	-43	-18	-43	
C										
ATOM	1070	CD	LYS A 370	15.576	-6.722	-23.346	1.00	38.00		
C										
ANISOU	1070	CD	LYS A 370	4710	5016	4710	-111	-78	-144	
C										
ATOM	1071	CE	LYS A 370	14.530	-7.210	-24.325	1.00	42.54		
C										
ANISOU	1071	CE	LYS A 370	5280	5298	5583	88	107	-138	
C										
ATOM	1072	NZ	LYS A 370	14.737	-6.578	-25.665	1.00	40.11		
N										
ANISOU	1072	NZ	LYS A 370	5090	5259	4890	-7	15	108	
N										
ATOM	1073	C	LYS A 370	13.393	-3.913	-20.847	1.00	36.36		
C										
ANISOU	1073	C	LYS A 370	4750	4479	4586	26	55	-79	
C										
ATOM	1074	O	LYS A 370	12.496	-4.426	-20.174	1.00	35.86		
O										
ANISOU	1074	O	LYS A 370	4750	4336	4537	38	36	-46	
O										
ATOM	1075	N	GLY A 371	13.164	-3.101	-21.873	1.00	36.40		
N										
ANISOU	1075	N	GLY A 371	4754	4514	4560	14	101	-70	
N										
ATOM	1076	CA	GLY A 371	11.821	-2.792	-22.348	1.00	36.43		
C										
ANISOU	1076	CA	GLY A 371	4719	4559	4561	16	44	-51	
C										
ATOM	1077	C	GLY A 371	10.981	-1.871	-21.467	1.00	36.58		
C										
ANISOU	1077	C	GLY A 371	4751	4566	4581	22	1	-59	
C										
ATOM	1078	O	GLY A 371	9.739	-1.850	-21.601	1.00	36.50		
O										
ANISOU	1078	O	GLY A 371	4704	4546	4617	42	12	-66	
O										
ATOM	1079	N	PHE A 372	11.624	-1.118	-20.566	1.00	35.97		
N										

ANISOU	1079	N	PHE	A	372	4631	4483	4552	-15	-16	-47
N											
ATOM	1080	CA	PHE	A	372	10.853	-0.250	-19.635	1.00	34.98	
C											
ANISOU	1080	CA	PHE	A	372	4543	4431	4315	-24	-65	-38
C											
ATOM	1081	CB	PHE	A	372	11.347	-0.338	-18.188	1.00	34.15	
C											
ANISOU	1081	CB	PHE	A	372	4462	4305	4208	-30	-25	7
C											
ATOM	1082	CG	PHE	A	372	12.732	0.220	-17.952	1.00	31.81	
C											
ANISOU	1082	CG	PHE	A	372	4269	4040	3776	7	34	78
C											
ATOM	1083	CD1	PHE	A	372	12.902	1.534	-17.521	1.00	29.99	
C											
ANISOU	1083	CD1	PHE	A	372	4046	4049	3299	-75	66	87
C											
ATOM	1084	CE1	PHE	A	372	14.158	2.046	-17.270	1.00	29.52	
C											
ANISOU	1084	CE1	PHE	A	372	4091	3871	3254	-37	73	41
C											
ATOM	1085	CZ	PHE	A	372	15.278	1.245	-17.432	1.00	30.63	
C											
ANISOU	1085	CZ	PHE	A	372	4204	3924	3509	-6	99	84
C											
ATOM	1086	CE2	PHE	A	372	15.126	-0.073	-17.842	1.00	30.13	
C											
ANISOU	1086	CE2	PHE	A	372	4163	4003	3281	-10	108	120
C											
ATOM	1087	CD2	PHE	A	372	13.849	-0.580	-18.094	1.00	29.81	
C											
ANISOU	1087	CD2	PHE	A	372	4076	3919	3330	-84	142	106
C											
ATOM	1088	C	PHE	A	372	10.664	1.198	-20.081	1.00	34.59	
C											
ANISOU	1088	C	PHE	A	372	4487	4398	4257	-43	-112	-70
C											
ATOM	1089	O	PHE	A	372	11.487	1.745	-20.787	1.00	33.11	
O											
ANISOU	1089	O	PHE	A	372	4403	4216	3961	-15	-136	-82
O											
ATOM	1090	N	TYR	A	373	9.549	1.783	-19.647	1.00	34.91	
N											
ANISOU	1090	N	TYR	A	373	4521	4486	4255	-49	-176	-43
N											
ATOM	1091	CA	TYR	A	373	9.193	3.175	-19.910	1.00	35.31	
C											
ANISOU	1091	CA	TYR	A	373	4589	4543	4284	-16	-143	-35
C											
ATOM	1092	CB	TYR	A	373	8.567	3.358	-21.307	1.00	35.68	
C											
ANISOU	1092	CB	TYR	A	373	4580	4691	4283	-10	-157	-87
C											
ATOM	1093	CG	TYR	A	373	8.621	4.789	-21.762	1.00	34.18	
C											
ANISOU	1093	CG	TYR	A	373	4411	4534	4041	-21	-162	-10
C											
ATOM	1094	CD1	TYR	A	373	9.690	5.243	-22.509	1.00	34.45	
C											
ANISOU	1094	CD1	TYR	A	373	4413	4527	4147	23	-212	-54
C											
ATOM	1095	CE1	TYR	A	373	9.774	6.554	-22.912	1.00	34.42	

C	ANISOU	1095	CE1	TYR	A	373	4358	4572	4148	-101	-173	-16
C	ATOM	1096	CZ	TYR	A	373	8.780	7.423	-22.558	1.00	34.48	
C	ANISOU	1096	CZ	TYR	A	373	4422	4435	4243	-45	-91	0
O	ATOM	1097	OH	TYR	A	373	8.873	8.715	-22.969	1.00	36.84	
O	ANISOU	1097	OH	TYR	A	373	4769	4819	4407	-28	-199	64
C	ATOM	1098	CE2	TYR	A	373	7.702	7.007	-21.797	1.00	35.52	
C	ANISOU	1098	CE2	TYR	A	373	4524	4712	4258	83	-192	-76
C	ATOM	1099	CD2	TYR	A	373	7.622	5.698	-21.414	1.00	33.27	
C	ANISOU	1099	CD2	TYR	A	373	4467	4373	3798	-92	-214	63
C	ATOM	1100	C	TYR	A	373	8.202	3.675	-18.866	1.00	35.10	
C	ANISOU	1100	C	TYR	A	373	4544	4556	4234	-5	-101	20
O	ATOM	1101	O	TYR	A	373	7.290	2.959	-18.526	1.00	35.49	
O	ANISOU	1101	O	TYR	A	373	4648	4556	4281	-4	-149	-115
N	ATOM	1102	N	PRO	A	374	8.373	4.908	-18.352	1.00	34.96	
N	ANISOU	1102	N	PRO	A	374	4537	4551	4194	45	-66	59
C	ATOM	1103	CA	PRO	A	374	9.466	5.844	-18.520	1.00	35.26	
C	ANISOU	1103	CA	PRO	A	374	4581	4561	4251	42	-69	28
C	ATOM	1104	CB	PRO	A	374	8.950	7.099	-17.813	1.00	35.21	
C	ANISOU	1104	CB	PRO	A	374	4553	4560	4265	58	-42	60
C	ATOM	1105	CG	PRO	A	374	7.997	6.614	-16.837	1.00	35.05	
C	ANISOU	1105	CG	PRO	A	374	4419	4469	4428	84	-49	79
C	ATOM	1106	CD	PRO	A	374	7.309	5.495	-17.527	1.00	35.26	
C	ANISOU	1106	CD	PRO	A	374	4566	4516	4316	65	-103	72
C	ATOM	1107	C	PRO	A	374	10.783	5.361	-17.913	1.00	35.32	
C	ANISOU	1107	C	PRO	A	374	4595	4588	4236	62	-26	0
O	ATOM	1108	O	PRO	A	374	10.835	4.264	-17.344	1.00	35.13	
O	ANISOU	1108	O	PRO	A	374	4500	4669	4178	31	-57	-52
N	ATOM	1109	N	SER	A	375	11.825	6.180	-18.055	1.00	35.27	
N	ANISOU	1109	N	SER	A	375	4649	4543	4206	33	-50	-18
C	ATOM	1110	CA	SER	A	375	13.189	5.833	-17.672	1.00	35.64	
C	ANISOU	1110	CA	SER	A	375	4661	4565	4316	56	-9	-5

ATOM	1111	CB	SER A 375	14.180	6.826	-18.293	1.00	35.47	
C									
ANISOU	1111	CB	SER A 375	4643	4554	4277	90	-42	37
C									
ATOM	1112	OG	SER A 375	14.059	8.122	-17.713	1.00	35.13	
O									
ANISOU	1112	OG	SER A 375	4615	4635	4097	-15	-115	99
O									
ATOM	1113	C	SER A 375	13.422	5.744	-16.151	1.00	36.11	
C									
ANISOU	1113	C	SER A 375	4725	4626	4366	77	20	5
C									
ATOM	1114	O	SER A 375	14.398	5.153	-15.722	1.00	35.49	
O									
ANISOU	1114	O	SER A 375	4766	4553	4165	116	99	-42
O									
ATOM	1115	N	ASP A 376	12.533	6.347	-15.358	1.00	36.79	
N									
ANISOU	1115	N	ASP A 376	4838	4675	4462	79	35	8
N									
ATOM	1116	CA	ASP A 376	12.622	6.326	-13.893	1.00	37.26	
C									
ANISOU	1116	CA	ASP A 376	4809	4708	4637	54	59	-73
C									
ATOM	1117	CB	ASP A 376	11.505	7.175	-13.281	1.00	37.66	
C									
ANISOU	1117	CB	ASP A 376	4923	4705	4679	39	24	-73
C									
ATOM	1118	CG	ASP A 376	11.316	8.474	-14.010	1.00	37.98	
C									
ANISOU	1118	CG	ASP A 376	5073	4681	4676	103	74	-82
C									
ATOM	1119	OD1	ASP A 376	10.191	8.720	-14.495	1.00	38.29	
O									
ANISOU	1119	OD1	ASP A 376	5022	4872	4652	110	58	-124
O									
ATOM	1120	OD2	ASP A 376	12.302	9.227	-14.118	1.00	35.66	
O									
ANISOU	1120	OD2	ASP A 376	4760	4253	4535	135	89	-76
O									
ATOM	1121	C	ASP A 376	12.549	4.905	-13.354	1.00	37.15	
C									
ANISOU	1121	C	ASP A 376	4817	4718	4579	80	84	-76
C									
ATOM	1122	O	ASP A 376	11.569	4.191	-13.564	1.00	36.68	
O									
ANISOU	1122	O	ASP A 376	4770	4615	4551	97	140	-112
O									
ATOM	1123	N	ILE A 377	13.600	4.508	-12.657	1.00	37.17	
N									
ANISOU	1123	N	ILE A 377	4813	4723	4588	72	69	-107
N									
ATOM	1124	CA	ILE A 377	13.763	3.128	-12.208	1.00	37.39	
C									
ANISOU	1124	CA	ILE A 377	4797	4801	4607	45	40	-64
C									
ATOM	1125	CB	ILE A 377	14.301	2.230	-13.385	1.00	37.15	
C									
ANISOU	1125	CB	ILE A 377	4748	4758	4609	63	21	-92
C									
ATOM	1126	CG1	ILE A 377	14.247	0.732	-13.024	1.00	36.97	
C									
ANISOU	1126	CG1	ILE A 377	4634	4816	4597	20	-23	-72

C										
ATOM	1127	CD1	ILE	A	377	14.240	-0.238	-14.232	1.00	36.57
C										
ANISOU	1127	CD1	ILE	A	377	4633	4701	4559	59	46 -11
C										
ATOM	1128	CG2	ILE	A	377	15.680	2.712	-13.815	1.00	35.92
C										
ANISOU	1128	CG2	ILE	A	377	4679	4583	4385	86	48 -83
C										
ATOM	1129	C	ILE	A	377	14.714	3.107	-11.004	1.00	37.34
C										
ANISOU	1129	C	ILE	A	377	4800	4829	4556	19	37 -66
C										
ATOM	1130	O	ILE	A	377	15.420	4.080	-10.762	1.00	37.26
O										
ANISOU	1130	O	ILE	A	377	4794	4872	4491	24	40 -63
O										
ATOM	1131	N	ALA	A	378	14.715	2.004	-10.259	1.00	37.20
N										
ANISOU	1131	N	ALA	A	378	4763	4859	4511	46	40 -67
N										
ATOM	1132	CA	ALA	A	378	15.600	1.828	-9.108	1.00	37.25
C										
ANISOU	1132	CA	ALA	A	378	4784	4835	4533	7	69 -43
C										
ATOM	1133	CB	ALA	A	378	14.914	2.277	-7.836	1.00	36.48
C										
ANISOU	1133	CB	ALA	A	378	4699	4751	4411	9	47 -91
C										
ATOM	1134	C	ALA	A	378	16.010	0.362	-9.005	1.00	36.92
C										
ANISOU	1134	C	ALA	A	378	4754	4825	4447	10	95 -25
C										
ATOM	1135	O	ALA	A	378	15.193	-0.530	-9.200	1.00	36.27
O										
ANISOU	1135	O	ALA	A	378	4740	4750	4291	-5	121 -49
O										
ATOM	1136	N	VAL	A	379	17.279	0.120	-8.715	1.00	36.82
N										
ANISOU	1136	N	VAL	A	379	4725	4842	4420	2	94 1
N										
ATOM	1137	CA	VAL	A	379	17.784	-1.248	-8.628	1.00	37.12
C										
ANISOU	1137	CA	VAL	A	379	4726	4809	4568	-25	45 13
C										
ATOM	1138	CB	VAL	A	379	18.544	-1.709	-9.905	1.00	36.60
C										
ANISOU	1138	CB	VAL	A	379	4604	4751	4550	-2	47 -13
C										
ATOM	1139	CG1	VAL	A	379	18.767	-3.219	-9.875	1.00	35.07
C										
ANISOU	1139	CG1	VAL	A	379	4394	4622	4307	-46	-4 35
C										
ATOM	1140	CG2	VAL	A	379	17.795	-1.317	-11.182	1.00	35.08
C										
ANISOU	1140	CG2	VAL	A	379	4482	4481	4363	10	124 -1
C										
ATOM	1141	C	VAL	A	379	18.671	-1.420	-7.396	1.00	38.16
C										
ANISOU	1141	C	VAL	A	379	4798	4927	4773	-24	7 3
C										
ATOM	1142	O	VAL	A	379	19.429	-0.532	-7.037	1.00	38.18
O										

ANISOU	1142	O	VAL	A	379	4785	4914	4805	-16	-25	12
O											
ATOM	1143	N	GLU	A	380	18.537	-2.590	-6.782	1.00	39.23	
N											
ANISOU	1143	N	GLU	A	380	4938	5049	4919	-34	-11	35
N											
ATOM	1144	CA	GLU	A	380	19.132	-2.979	-5.521	1.00	39.91	
C											
ANISOU	1144	CA	GLU	A	380	5001	5151	5009	-14	-15	58
C											
ATOM	1145	CB	GLU	A	380	18.105	-2.836	-4.402	1.00	40.43	
C											
ANISOU	1145	CB	GLU	A	380	5124	5190	5045	-5	-16	64
C											
ATOM	1146	CG	GLU	A	380	18.362	-1.738	-3.389	1.00	42.17	
C											
ANISOU	1146	CG	GLU	A	380	5360	5320	5342	32	-171	80
C											
ATOM	1147	CD	GLU	A	380	17.614	-2.017	-2.100	1.00	42.78	
C											
ANISOU	1147	CD	GLU	A	380	5158	5727	5370	116	5	121
C											
ATOM	1148	OE1	GLU	A	380	18.231	-2.566	-1.163	1.00	47.83	
O											
ANISOU	1148	OE1	GLU	A	380	6101	6126	5945	-126	75	20
O											
ATOM	1149	OE2	GLU	A	380	16.400	-1.757	-2.035	1.00	44.96	
O											
ANISOU	1149	OE2	GLU	A	380	5954	5476	5650	139	-62	98
O											
ATOM	1150	C	GLU	A	380	19.455	-4.455	-5.653	1.00	39.85	
C											
ANISOU	1150	C	GLU	A	380	5002	5135	5004	-37	4	77
C											
ATOM	1151	O	GLU	A	380	18.764	-5.188	-6.373	1.00	40.25	
O											
ANISOU	1151	O	GLU	A	380	5041	5193	5055	-78	-3	155
O											
ATOM	1152	N	TRP	A	381	20.525	-4.883	-4.991	1.00	39.62	
N											
ANISOU	1152	N	TRP	A	381	4988	5103	4960	-22	19	92
N											
ATOM	1153	CA	TRP	A	381	20.811	-6.302	-4.832	1.00	39.46	
C											
ANISOU	1153	CA	TRP	A	381	4896	5090	5004	38	-4	35
C											
ATOM	1154	CB	TRP	A	381	22.186	-6.672	-5.399	1.00	36.87	
C											
ANISOU	1154	CB	TRP	A	381	4655	4832	4520	30	23	-91
C											
ATOM	1155	CG	TRP	A	381	22.339	-6.667	-6.907	1.00	35.55	
C											
ANISOU	1155	CG	TRP	A	381	4204	4698	4603	56	-104	34
C											
ATOM	1156	CD1	TRP	A	381	22.580	-5.579	-7.708	1.00	34.03	
C											
ANISOU	1156	CD1	TRP	A	381	4124	4434	4368	59	-71	-36
C											
ATOM	1157	NE1	TRP	A	381	22.702	-5.972	-9.020	1.00	32.72	
N											
ANISOU	1157	NE1	TRP	A	381	4017	4085	4329	60	-50	143
N											
ATOM	1158	CE2	TRP	A	381	22.554	-7.332	-9.093	1.00	33.85	

C										
ANISOU	1158	CE2	TRP	A	381	3981	4555	4323	111	-94 101
C										
ATOM	1159	CD2	TRP	A	381	22.337	-7.806	-7.779	1.00	33.47
C										
ANISOU	1159	CD2	TRP	A	381	3886	4432	4397	76	-69 127
C										
ATOM	1160	CE3	TRP	A	381	22.170	-9.179	-7.580	1.00	32.88
C										
ANISOU	1160	CE3	TRP	A	381	3976	4447	4068	-65	-127 39
C										
ATOM	1161	CZ3	TRP	A	381	22.231	-10.030	-8.681	1.00	35.44
C										
ANISOU	1161	CZ3	TRP	A	381	4009	4794	4660	101	-42 213
C										
ATOM	1162	CH2	TRP	A	381	22.435	-9.520	-9.972	1.00	34.99
C										
ANISOU	1162	CH2	TRP	A	381	4060	4680	4552	47	1 121
C										
ATOM	1163	CZ2	TRP	A	381	22.611	-8.179	-10.191	1.00	33.99
C										
ANISOU	1163	CZ2	TRP	A	381	4025	4431	4455	65	-84 182
C										
ATOM	1164	C	TRP	A	381	20.740	-6.654	-3.337	1.00	40.26
C										
ANISOU	1164	C	TRP	A	381	5035	5192	5067	47	-30 55
C										
ATOM	1165	O	TRP	A	381	20.945	-5.799	-2.475	1.00	39.66
O										
ANISOU	1165	O	TRP	A	381	4949	5140	4979	133	-91 17
O										
ATOM	1166	N	GLU	A	382	20.443	-7.914	-3.051	1.00	41.50
N										
ANISOU	1166	N	GLU	A	382	5218	5300	5247	27	-21 45
N										
ATOM	1167	CA	GLU	A	382	20.251	-8.407	-1.685	1.00	42.87
C										
ANISOU	1167	CA	GLU	A	382	5409	5466	5411	39	-22 74
C										
ATOM	1168	CB	GLU	A	382	18.793	-8.269	-1.244	1.00	43.55
C										
ANISOU	1168	CB	GLU	A	382	5498	5513	5534	40	6 64
C										
ATOM	1169	CG	GLU	A	382	18.342	-6.887	-0.771	1.00	46.25
C										
ANISOU	1169	CG	GLU	A	382	5998	5768	5807	-22	21 16
C										
ATOM	1170	CD	GLU	A	382	16.931	-6.573	-1.248	1.00	44.15
C										
ANISOU	1170	CD	GLU	A	382	5607	6334	4832	111	89 195
C										
ATOM	1171	OE1	GLU	A	382	16.003	-6.614	-0.420	1.00	48.91
O										
ANISOU	1171	OE1	GLU	A	382	6266	6173	6143	76	-184 -79
O										
ATOM	1172	OE2	GLU	A	382	16.748	-6.330	-2.470	1.00	51.39
O										
ANISOU	1172	OE2	GLU	A	382	6325	6387	6814	-32	-58 41
O										
ATOM	1173	C	GLU	A	382	20.600	-9.891	-1.653	1.00	43.58
C										
ANISOU	1173	C	GLU	A	382	5532	5524	5502	23	-11 78
C										

ATOM	1174	O	GLU A 382	20.553	-10.579	-2.697	1.00	42.96	
O									
ANISOU	1174	O	GLU A 382	5527	5460	5335	-5	-20	53
O									
ATOM	1175	N	SER A 383	20.946	-10.360	-0.445	1.00	44.09	
N									
ANISOU	1175	N	SER A 383	5623	5628	5499	25	18	122
N									
ATOM	1176	CA	SER A 383	21.216	-11.777	-0.161	1.00	44.79	
C									
ANISOU	1176	CA	SER A 383	5700	5676	5639	6	37	118
C									
ATOM	1177	CB	SER A 383	22.699	-12.113	-0.341	1.00	44.80	
C									
ANISOU	1177	CB	SER A 383	5702	5678	5642	31	37	101
C									
ATOM	1178	OG	SER A 383	22.882	-13.478	-0.685	1.00	45.36	
O									
ANISOU	1178	OG	SER A 383	5763	5641	5831	-6	83	127
O									
ATOM	1179	C	SER A 383	20.796	-12.028	1.283	1.00	45.26	
C									
ANISOU	1179	C	SER A 383	5775	5768	5653	-9	11	120
C									
ATOM	1180	O	SER A 383	20.992	-11.161	2.160	1.00	45.04	
O									
ANISOU	1180	O	SER A 383	5758	5784	5569	19	43	149
O									
ATOM	1181	N	ASN A 384	20.208	-13.202	1.518	1.00	46.24	
N									
ANISOU	1181	N	ASN A 384	5912	5856	5798	7	-6	130
N									
ATOM	1182	CA	ASN A 384	19.541	-13.516	2.797	1.00	47.30	
C									
ANISOU	1182	CA	ASN A 384	5994	6002	5973	9	40	89
C									
ATOM	1183	CB	ASN A 384	20.223	-14.686	3.546	1.00	47.81	
C									
ANISOU	1183	CB	ASN A 384	6076	6055	6032	50	28	85
C									
ATOM	1184	CG	ASN A 384	21.711	-14.835	3.202	1.00	49.23	
C									
ANISOU	1184	CG	ASN A 384	6239	6244	6220	11	-19	15
C									
ATOM	1185	OD1	ASN A 384	22.561	-14.139	3.771	1.00	51.62	
O									
ANISOU	1185	OD1	ASN A 384	6694	6509	6407	-81	-122	-51
O									
ATOM	1186	ND2	ASN A 384	22.030	-15.768	2.276	1.00	50.24	
N									
ANISOU	1186	ND2	ASN A 384	6461	6386	6242	154	-7	90
N									
ATOM	1187	C	ASN A 384	19.305	-12.315	3.720	1.00	47.46	
C									
ANISOU	1187	C	ASN A 384	6002	5998	6034	3	30	68
C									
ATOM	1188	O	ASN A 384	19.988	-12.138	4.745	1.00	47.50	
O									
ANISOU	1188	O	ASN A 384	5997	6046	6002	-31	14	128
O									
ATOM	1189	N	GLY A 385	18.354	-11.468	3.321	1.00	48.01	
N									
ANISOU	1189	N	GLY A 385	6027	6061	6150	-4	39	51

N										
ATOM	1190	CA	GLY A 385	17.871	-10.396	4.198	1.00	48.23		
C										
ANISOU	1190	CA	GLY A 385	6064	6061	6200	13	51	19	
C										
ATOM	1191	C	GLY A 385	18.621	-9.098	4.087	1.00	48.46		
C										
ANISOU	1191	C	GLY A 385	6080	6127	6205	-3	47	15	
C										
ATOM	1192	O	GLY A 385	18.014	-8.041	3.849	1.00	49.13		
O										
ANISOU	1192	O	GLY A 385	6172	6193	6300	0	74	-4	
O										
ATOM	1193	N	GLN A 386	19.938	-9.186	4.258	1.00	48.32		
N										
ANISOU	1193	N	GLN A 386	6069	6151	6136	-3	-15	14	
N										
ATOM	1194	CA	GLN A 386	20.841	-8.054	4.091	1.00	48.32		
C										
ANISOU	1194	CA	GLN A 386	6053	6229	6077	-28	-15	30	
C										
ATOM	1195	CB	GLN A 386	22.184	-8.360	4.790	1.00	48.91		
C										
ANISOU	1195	CB	GLN A 386	6138	6313	6130	-23	-19	49	
C										
ATOM	1196	CG	GLN A 386	22.173	-8.184	6.332	1.00	49.93		
C										
ANISOU	1196	CG	GLN A 386	6349	6323	6297	12	17	-18	
C										
ATOM	1197	CD	GLN A 386	21.542	-6.872	6.784	1.00	53.93		
C										
ANISOU	1197	CD	GLN A 386	7210	6843	6437	62	21	77	
C										
ATOM	1198	OE1	GLN A 386	22.249	-5.898	7.064	1.00	52.63		
O										
ANISOU	1198	OE1	GLN A 386	6586	6564	6846	-191	-29	-6	
O										
ATOM	1199	NE2	GLN A 386	20.209	-6.839	6.856	1.00	50.58		
N										
ANISOU	1199	NE2	GLN A 386	6207	6607	6405	-46	59	43	
N										
ATOM	1200	C	GLN A 386	21.064	-7.587	2.620	1.00	47.59		
C										
ANISOU	1200	C	GLN A 386	5946	6111	6025	-11	-32	25	
C										
ATOM	1201	O	GLN A 386	20.871	-8.355	1.660	1.00	47.43		
O										
ANISOU	1201	O	GLN A 386	5872	6171	5978	-14	5	-8	
O										
ATOM	1202	N	PRO A 387	21.469	-6.317	2.452	1.00	46.79		
N										
ANISOU	1202	N	PRO A 387	5884	5981	5912	8	-30	38	
N										
ATOM	1203	CA	PRO A 387	21.779	-5.739	1.158	1.00	46.49		
C										
ANISOU	1203	CA	PRO A 387	5862	5936	5864	6	-19	30	
C										
ATOM	1204	CB	PRO A 387	21.498	-4.243	1.368	1.00	46.62		
C										
ANISOU	1204	CB	PRO A 387	5909	5918	5886	-16	-15	26	
C										
ATOM	1205	CG	PRO A 387	21.249	-4.046	2.854	1.00	46.58		
C										

ANISOU	1205	CG	PRO A	387	5910	5950	5836	-20	-43	57
C										
ATOM	1206	CD	PRO A	387	21.622	-5.325	3.529	1.00	47.03	
C										
ANISOU	1206	CD	PRO A	387	5913	5996	5958	15	-45	16
C										
ATOM	1207	C	PRO A	387	23.235	-5.928	0.705	1.00	46.20	
C										
ANISOU	1207	C	PRO A	387	5849	5892	5812	-33	-23	39
C										
ATOM	1208	O	PRO A	387	24.173	-5.617	1.452	1.00	46.11	
O										
ANISOU	1208	O	PRO A	387	5879	5882	5758	-50	-52	64
O										
ATOM	1209	N	GLU A	388	23.408	-6.433	-0.517	1.00	45.47	
N										
ANISOU	1209	N	GLU A	388	5756	5801	5720	-47	-20	52
N										
ATOM	1210	CA	GLU A	388	24.694	-6.403	-1.195	1.00	44.97	
C										
ANISOU	1210	CA	GLU A	388	5683	5738	5662	-18	-10	44
C										
ATOM	1211	CB	GLU A	388	24.706	-7.402	-2.338	1.00	44.97	
C										
ANISOU	1211	CB	GLU A	388	5665	5761	5658	-20	-28	47
C										
ATOM	1212	CG	GLU A	388	24.340	-8.830	-1.945	1.00	46.39	
C										
ANISOU	1212	CG	GLU A	388	5861	5872	5891	-63	-42	82
C										
ATOM	1213	CD	GLU A	388	25.323	-9.460	-0.970	1.00	48.03	
C										
ANISOU	1213	CD	GLU A	388	6158	6071	6019	-44	-74	23
C										
ATOM	1214	OE1	GLU A	388	26.552	-9.400	-1.201	1.00	47.49	
O										
ANISOU	1214	OE1	GLU A	388	6152	6000	5891	0	39	1
O										
ATOM	1215	OE2	GLU A	388	24.856	-10.029	0.035	1.00	49.67	
O										
ANISOU	1215	OE2	GLU A	388	6394	6329	6149	-70	29	56
O										
ATOM	1216	C	GLU A	388	24.879	-4.998	-1.738	1.00	44.67	
C										
ANISOU	1216	C	GLU A	388	5627	5760	5582	-57	10	43
C										
ATOM	1217	O	GLU A	388	24.084	-4.530	-2.545	1.00	45.07	
O										
ANISOU	1217	O	GLU A	388	5666	5799	5660	-63	32	78
O										
ATOM	1218	N	ASN A	389	25.901	-4.298	-1.279	1.00	44.47	
N										
ANISOU	1218	N	ASN A	389	5659	5699	5537	-59	24	35
N										
ATOM	1219	CA	ASN A	389	26.079	-2.904	-1.704	1.00	44.04	
C										
ANISOU	1219	CA	ASN A	389	5629	5641	5462	-27	10	35
C										
ATOM	1220	CB	ASN A	389	26.024	-1.961	-0.492	1.00	44.59	
C										
ANISOU	1220	CB	ASN A	389	5722	5687	5532	-8	38	20
C										
ATOM	1221	CG	ASN A	389	24.585	-1.678	-0.037	1.00	46.42	

C	ANISOU	1221	CG	ASN	A	389	5840	6045	5752	-29	-7	33
C	ATOM	1222	OD1	ASN	A	389	23.682	-1.555	-0.863	1.00	47.34	
O	ANISOU	1222	OD1	ASN	A	389	6045	6314	5625	-18	-114	-3
O	ATOM	1223	ND2	ASN	A	389	24.374	-1.565	1.288	1.00	48.67	
N	ANISOU	1223	ND2	ASN	A	389	6260	6364	5865	-48	-31	-51
N	ATOM	1224	C	ASN	A	389	27.307	-2.672	-2.610	1.00	43.16	
C	ANISOU	1224	C	ASN	A	389	5533	5513	5352	-26	18	33
C	ATOM	1225	O	ASN	A	389	27.627	-1.534	-2.972	1.00	43.60	
O	ANISOU	1225	O	ASN	A	389	5592	5599	5374	-86	14	23
O	ATOM	1226	N	ASN	A	390	27.945	-3.773	-2.997	1.00	41.86	
N	ANISOU	1226	N	ASN	A	390	5352	5379	5173	23	45	56
N	ATOM	1227	CA	ASN	A	390	29.083	-3.793	-3.919	1.00	41.00	
C	ANISOU	1227	CA	ASN	A	390	5220	5249	5109	20	7	74
C	ATOM	1228	CB	ASN	A	390	29.966	-4.979	-3.549	1.00	41.19	
C	ANISOU	1228	CB	ASN	A	390	5221	5310	5120	45	27	70
C	ATOM	1229	CG	ASN	A	390	31.368	-4.870	-4.090	1.00	41.56	
C	ANISOU	1229	CG	ASN	A	390	5312	5363	5115	-2	43	34
C	ATOM	1230	OD1	ASN	A	390	31.868	-3.776	-4.364	1.00	41.19	
O	ANISOU	1230	OD1	ASN	A	390	5395	5253	5003	-42	153	41
O	ATOM	1231	ND2	ASN	A	390	32.025	-6.025	-4.233	1.00	41.17	
N	ANISOU	1231	ND2	ASN	A	390	5229	5437	4976	143	37	31
N	ATOM	1232	C	ASN	A	390	28.594	-3.918	-5.382	1.00	40.10	
C	ANISOU	1232	C	ASN	A	390	5080	5147	5009	44	50	76
C	ATOM	1233	O	ASN	A	390	28.961	-4.838	-6.130	1.00	39.50	
O	ANISOU	1233	O	ASN	A	390	5007	5028	4970	3	76	100
O	ATOM	1234	N	TYR	A	391	27.732	-2.989	-5.776	1.00	38.85	
N	ANISOU	1234	N	TYR	A	391	4892	5023	4845	30	31	97
N	ATOM	1235	CA	TYR	A	391	27.123	-3.060	-7.093	1.00	37.67	
C	ANISOU	1235	CA	TYR	A	391	4723	4859	4729	39	55	30
C	ATOM	1236	CB	TYR	A	391	25.674	-3.607	-7.023	1.00	37.59	
C	ANISOU	1236	CB	TYR	A	391	4770	4816	4693	80	13	10
C												

ATOM	1237	CG	TYR	A	391	24.671	-2.674	-6.375	1.00	38.73	
C											
ANISOU	1237	CG	TYR	A	391	4872	5036	4808	-63	-19	82
C											
ATOM	1238	CD1	TYR	A	391	24.362	-2.780	-5.014	1.00	37.63	
C											
ANISOU	1238	CD1	TYR	A	391	4713	4862	4722	177	116	46
C											
ATOM	1239	CE1	TYR	A	391	23.443	-1.907	-4.407	1.00	38.01	
C											
ANISOU	1239	CE1	TYR	A	391	4865	4872	4702	-18	48	130
C											
ATOM	1240	CZ	TYR	A	391	22.846	-0.928	-5.185	1.00	38.97	
C											
ANISOU	1240	CZ	TYR	A	391	4955	4954	4896	-4	-26	90
C											
ATOM	1241	OH	TYR	A	391	21.946	-0.056	-4.628	1.00	37.74	
O											
ANISOU	1241	OH	TYR	A	391	4898	4791	4649	209	262	-75
O											
ATOM	1242	CE2	TYR	A	391	23.138	-0.815	-6.539	1.00	35.97	
C											
ANISOU	1242	CE2	TYR	A	391	4646	4399	4619	38	163	83
C											
ATOM	1243	CD2	TYR	A	391	24.039	-1.671	-7.119	1.00	36.37	
C											
ANISOU	1243	CD2	TYR	A	391	4651	4617	4551	-25	77	44
C											
ATOM	1244	C	TYR	A	391	27.200	-1.701	-7.765	1.00	36.92	
C											
ANISOU	1244	C	TYR	A	391	4614	4817	4594	42	51	55
C											
ATOM	1245	O	TYR	A	391	27.351	-0.657	-7.114	1.00	36.53	
O											
ANISOU	1245	O	TYR	A	391	4501	4815	4562	-50	-10	88
O											
ATOM	1246	N	LYS	A	392	27.118	-1.716	-9.081	1.00	36.62	
N											
ANISOU	1246	N	LYS	A	392	4561	4727	4624	54	58	1
N											
ATOM	1247	CA	LYS	A	392	27.049	-0.484	-9.842	1.00	35.22	
C											
ANISOU	1247	CA	LYS	A	392	4471	4551	4359	25	92	57
C											
ATOM	1248	CB	LYS	A	392	28.381	-0.165	-10.507	1.00	34.96	
C											
ANISOU	1248	CB	LYS	A	392	4479	4541	4263	56	38	59
C											
ATOM	1249	CG	LYS	A	392	29.467	0.393	-9.610	1.00	33.97	
C											
ANISOU	1249	CG	LYS	A	392	4364	4380	4162	9	118	142
C											
ATOM	1250	CD	LYS	A	392	29.178	1.783	-9.077	1.00	30.65	
C											
ANISOU	1250	CD	LYS	A	392	3873	4093	3676	-50	-59	22
C											
ATOM	1251	CE	LYS	A	392	30.097	2.063	-7.905	1.00	34.02	
C											
ANISOU	1251	CE	LYS	A	392	4211	4391	4322	54	232	178
C											
ATOM	1252	NZ	LYS	A	392	29.956	3.443	-7.308	1.00	33.12	
N											
ANISOU	1252	NZ	LYS	A	392	4344	4095	4143	80	8	56

N										
ATOM	1253	C	LYS	A	392	25.990	-0.715	-10.856	1.00	34.87
C										
ANISOU	1253	C	LYS	A	392	4403	4536	4310	11	107 58
C										
ATOM	1254	O	LYS	A	392	25.872	-1.819	-11.377	1.00	35.62
O										
ANISOU	1254	O	LYS	A	392	4423	4675	4433	32	181 150
O										
ATOM	1255	N	THR	A	393	25.182	0.301	-11.113	1.00	34.71
N										
ANISOU	1255	N	THR	A	393	4367	4517	4301	-7	76 10
N										
ATOM	1256	CA	THR	A	393	24.148	0.202	-12.152	1.00	34.16
C										
ANISOU	1256	CA	THR	A	393	4265	4432	4281	0	19 3
C										
ATOM	1257	CB	THR	A	393	22.709	0.335	-11.564	1.00	34.10
C										
ANISOU	1257	CB	THR	A	393	4267	4421	4266	-9	30 -26
C										
ATOM	1258	OG1	THR	A	393	22.539	-0.610	-10.500	1.00	33.81
O										
ANISOU	1258	OG1	THR	A	393	4259	4412	4172	-1	-82 -7
O										
ATOM	1259	CG2	THR	A	393	21.632	0.074	-12.619	1.00	32.60
C										
ANISOU	1259	CG2	THR	A	393	4085	4261	4038	42	66 47
C										
ATOM	1260	C	THR	A	393	24.399	1.248	-13.221	1.00	33.43
C										
ANISOU	1260	C	THR	A	393	4164	4382	4153	14	6 11
C										
ATOM	1261	O	THR	A	393	24.712	2.402	-12.916	1.00	32.42
O										
ANISOU	1261	O	THR	A	393	3933	4348	4036	27	-28 52
O										
ATOM	1262	N	THR	A	394	24.280	0.831	-14.475	1.00	33.41
N										
ANISOU	1262	N	THR	A	394	4194	4326	4173	-21	1 -3
N										
ATOM	1263	CA	THR	A	394	24.354	1.770	-15.604	1.00	32.96
C										
ANISOU	1263	CA	THR	A	394	4273	4227	4022	-7	8 -20
C										
ATOM	1264	CB	THR	A	394	24.438	1.072	-17.010	1.00	32.13
C										
ANISOU	1264	CB	THR	A	394	4197	4083	3928	-5	10 -4
C										
ATOM	1265	OG1	THR	A	394	23.164	0.562	-17.403	1.00	30.15
O										
ANISOU	1265	OG1	THR	A	394	4301	3693	3462	100	189 -92
O										
ATOM	1266	CG2	THR	A	394	25.420	-0.023	-17.015	1.00	32.17
C										
ANISOU	1266	CG2	THR	A	394	4155	4105	3960	10	-1 -49
C										
ATOM	1267	C	THR	A	394	23.180	2.745	-15.578	1.00	33.10
C										
ANISOU	1267	C	THR	A	394	4317	4262	3996	22	-31 -57
C										
ATOM	1268	O	THR	A	394	22.111	2.399	-15.084	1.00	31.47
O										

ANISOU	1268	O	THR	A	394	4242	4074	3640	41	-14	-63
O											
ATOM	1269	N	PRO	A	395	23.384	3.974	-16.096	1.00	33.99	
N											
ANISOU	1269	N	PRO	A	395	4452	4367	4095	17	0	-46
N											
ATOM	1270	CA	PRO	A	395	22.219	4.810	-16.436	1.00	34.48	
C											
ANISOU	1270	CA	PRO	A	395	4508	4400	4191	5	0	-2
C											
ATOM	1271	CB	PRO	A	395	22.838	6.025	-17.138	1.00	34.62	
C											
ANISOU	1271	CB	PRO	A	395	4510	4435	4207	39	10	16
C											
ATOM	1272	CG	PRO	A	395	24.252	6.053	-16.758	1.00	34.22	
C											
ANISOU	1272	CG	PRO	A	395	4486	4452	4064	2	-63	-21
C											
ATOM	1273	CD	PRO	A	395	24.661	4.648	-16.377	1.00	33.86	
C											
ANISOU	1273	CD	PRO	A	395	4399	4344	4121	12	-25	-108
C											
ATOM	1274	C	PRO	A	395	21.270	4.066	-17.399	1.00	34.85	
C											
ANISOU	1274	C	PRO	A	395	4538	4450	4251	-27	24	75
C											
ATOM	1275	O	PRO	A	395	21.690	3.069	-18.027	1.00	33.16	
O											
ANISOU	1275	O	PRO	A	395	4370	4274	3952	-56	11	94
O											
ATOM	1276	N	PRO	A	396	19.994	4.510	-17.489	1.00	35.07	
N											
ANISOU	1276	N	PRO	A	396	4573	4414	4338	-15	31	90
N											
ATOM	1277	CA	PRO	A	396	19.125	3.923	-18.487	1.00	35.48	
C											
ANISOU	1277	CA	PRO	A	396	4599	4477	4402	-4	21	48
C											
ATOM	1278	CB	PRO	A	396	17.743	4.529	-18.186	1.00	35.53	
C											
ANISOU	1278	CB	PRO	A	396	4659	4433	4407	-25	75	67
C											
ATOM	1279	CG	PRO	A	396	17.867	5.217	-16.873	1.00	35.18	
C											
ANISOU	1279	CG	PRO	A	396	4624	4408	4334	-59	3	93
C											
ATOM	1280	CD	PRO	A	396	19.303	5.531	-16.681	1.00	35.32	
C											
ANISOU	1280	CD	PRO	A	396	4594	4469	4356	-36	28	82
C											
ATOM	1281	C	PRO	A	396	19.586	4.324	-19.886	1.00	35.60	
C											
ANISOU	1281	C	PRO	A	396	4558	4488	4477	-4	25	45
C											
ATOM	1282	O	PRO	A	396	19.954	5.475	-20.105	1.00	34.99	
O											
ANISOU	1282	O	PRO	A	396	4438	4447	4409	-29	-6	-1
O											
ATOM	1283	N	VAL	A	397	19.574	3.361	-20.811	1.00	35.51	
N											
ANISOU	1283	N	VAL	A	397	4544	4506	4441	17	17	29
N											
ATOM	1284	CA	VAL	A	397	19.934	3.603	-22.199	1.00	35.28	

C										
ANISOU	1284	CA	VAL A 397	4527	4479	4397	49	41	-32	
C										
ATOM	1285	CB	VAL A 397	21.078	2.664	-22.649	1.00	35.15		
C										
ANISOU	1285	CB	VAL A 397	4516	4432	4406	15	-5	15	
C										
ATOM	1286	CG1	VAL A 397	21.631	3.022	-24.077	1.00	32.51		
C										
ANISOU	1286	CG1	VAL A 397	4128	4063	4159	162	-111	-9	
C										
ATOM	1287	CG2	VAL A 397	22.212	2.715	-21.598	1.00	34.48		
C										
ANISOU	1287	CG2	VAL A 397	4490	4344	4264	57	-19	107	
C										
ATOM	1288	C	VAL A 397	18.679	3.500	-23.052	1.00	35.75		
C										
ANISOU	1288	C	VAL A 397	4638	4562	4383	61	96	-101	
C										
ATOM	1289	O	VAL A 397	17.902	2.554	-22.928	1.00	35.03		
O										
ANISOU	1289	O	VAL A 397	4596	4513	4200	112	126	-186	
O										
ATOM	1290	N	LEU A 398	18.454	4.511	-23.882	1.00	36.47		
N										
ANISOU	1290	N	LEU A 398	4739	4629	4488	94	73	-100	
N										
ATOM	1291	CA	LEU A 398	17.325	4.490	-24.793	1.00	37.45		
C										
ANISOU	1291	CA	LEU A 398	4793	4772	4664	41	20	-48	
C										
ATOM	1292	CB	LEU A 398	17.122	5.874	-25.398	1.00	37.18		
C										
ANISOU	1292	CB	LEU A 398	4747	4739	4639	16	-9	-44	
C										
ATOM	1293	CG	LEU A 398	16.080	5.972	-26.506	1.00	37.09		
C										
ANISOU	1293	CG	LEU A 398	4734	4681	4674	50	-12	25	
C										
ATOM	1294	CD1	LEU A 398	14.703	6.031	-25.905	1.00	33.79		
C										
ANISOU	1294	CD1	LEU A 398	4353	4255	4230	41	-3	61	
C										
ATOM	1295	CD2	LEU A 398	16.370	7.193	-27.347	1.00	35.57		
C										
ANISOU	1295	CD2	LEU A 398	4571	4494	4446	-15	49	72	
C										
ATOM	1296	C	LEU A 398	17.556	3.429	-25.888	1.00	38.23		
C										
ANISOU	1296	C	LEU A 398	4890	4908	4728	11	15	-44	
C										
ATOM	1297	O	LEU A 398	18.563	3.460	-26.582	1.00	38.51		
O										
ANISOU	1297	O	LEU A 398	4999	4941	4690	0	55	-39	
O										
ATOM	1298	N	ASP A 399	16.635	2.480	-25.991	1.00	38.60		
N										
ANISOU	1298	N	ASP A 399	4899	4972	4792	-36	-27	-45	
N										
ATOM	1299	CA	ASP A 399	16.765	1.320	-26.873	1.00	39.01		
C										
ANISOU	1299	CA	ASP A 399	4912	5053	4854	-29	24	-35	
C										

ATOM	1300	CB	ASP	A	399	16.199	0.086	-26.161	1.00	38.88
C										
ANISOU	1300	CB	ASP	A	399	4905	4978	4887	15	-41 -51
C										
ATOM	1301	CG	ASP	A	399	16.844	-1.192	-26.597	1.00	38.32
C										
ANISOU	1301	CG	ASP	A	399	4804	4963	4792	-65	-106 -121
C										
ATOM	1302	OD1	ASP	A	399	17.484	-1.181	-27.654	1.00	37.78
O										
ANISOU	1302	OD1	ASP	A	399	4733	4944	4677	-131	237 20
O										
ATOM	1303	OD2	ASP	A	399	16.695	-2.218	-25.888	1.00	34.88
O										
ANISOU	1303	OD2	ASP	A	399	4527	4630	4095	-144	-197 -160
O										
ATOM	1304	C	ASP	A	399	16.021	1.580	-28.189	1.00	39.56
C										
ANISOU	1304	C	ASP	A	399	4970	5121	4940	-44	-39 -55
C										
ATOM	1305	O	ASP	A	399	15.173	2.463	-28.256	1.00	39.73
O										
ANISOU	1305	O	ASP	A	399	4986	5183	4925	-115	-74 -71
O										
ATOM	1306	N	SER	A	400	16.337	0.812	-29.230	1.00	40.64
N										
ANISOU	1306	N	SER	A	400	5096	5273	5071	-57	-46 -54
N										
ATOM	1307	CA	SER	A	400	15.840	1.082	-30.596	1.00	41.15
C										
ANISOU	1307	CA	SER	A	400	5251	5323	5061	-17	-32 -8
C										
ATOM	1308	CB	SER	A	400	16.537	0.177	-31.634	1.00	41.51
C										
ANISOU	1308	CB	SER	A	400	5316	5343	5111	-10	-34 -7
C										
ATOM	1309	OG	SER	A	400	16.267	-1.193	-31.421	1.00	41.13
O										
ANISOU	1309	OG	SER	A	400	5528	5227	4871	-68	-46 -78
O										
ATOM	1310	C	SER	A	400	14.306	1.094	-30.795	1.00	41.37
C										
ANISOU	1310	C	SER	A	400	5252	5362	5103	-45	-34 -4
C										
ATOM	1311	O	SER	A	400	13.809	1.646	-31.793	1.00	41.91
O										
ANISOU	1311	O	SER	A	400	5272	5451	5198	-42	-44 15
O										
ATOM	1312	N	ASP	A	401	13.567	0.507	-29.850	1.00	40.91
N										
ANISOU	1312	N	ASP	A	401	5201	5318	5025	-65	-57 -11
N										
ATOM	1313	CA	ASP	A	401	12.096	0.529	-29.865	1.00	40.44
C										
ANISOU	1313	CA	ASP	A	401	5132	5251	4983	-27	-42 18
C										
ATOM	1314	CB	ASP	A	401	11.534	-0.798	-29.335	1.00	40.38
C										
ANISOU	1314	CB	ASP	A	401	5139	5233	4968	-25	-21 -7
C										
ATOM	1315	CG	ASP	A	401	11.904	-1.060	-27.886	1.00	38.85
C										
ANISOU	1315	CG	ASP	A	401	4987	4862	4910	-73	-13 26

C										
ATOM	1316	OD1	ASP	A	401	12.436	-0.155	-27.202	1.00	37.74
O										
ANISOU	1316	OD1	ASP	A	401	4636	5156	4545	38	31 174
O										
ATOM	1317	OD2	ASP	A	401	11.649	-2.183	-27.431	1.00	39.72
O										
ANISOU	1317	OD2	ASP	A	401	5010	5104	4977	-4	75 7
O										
ATOM	1318	C	ASP	A	401	11.449	1.680	-29.094	1.00	39.90
C										
ANISOU	1318	C	ASP	A	401	5041	5177	4940	-43	-37 66
C										
ATOM	1319	O	ASP	A	401	10.225	1.774	-29.043	1.00	40.25
O										
ANISOU	1319	O	ASP	A	401	5049	5289	4953	-69	-45 118
O										
ATOM	1320	N	GLY	A	402	12.250	2.543	-28.477	1.00	39.08
N										
ANISOU	1320	N	GLY	A	402	4955	5065	4828	-36	-20 89
N										
ATOM	1321	CA	GLY	A	402	11.704	3.649	-27.704	1.00	37.86
C										
ANISOU	1321	CA	GLY	A	402	4786	4893	4704	-52	-13 78
C										
ATOM	1322	C	GLY	A	402	11.595	3.341	-26.218	1.00	37.33
C										
ANISOU	1322	C	GLY	A	402	4692	4826	4663	-63	-17 32
C										
ATOM	1323	O	GLY	A	402	11.207	4.196	-25.442	1.00	36.37
O										
ANISOU	1323	O	GLY	A	402	4563	4782	4474	-59	-1 82
O										
ATOM	1324	N	SER	A	403	11.926	2.109	-25.833	1.00	37.09
N										
ANISOU	1324	N	SER	A	403	4673	4844	4574	-62	-36 47
N										
ATOM	1325	CA	SER	A	403	11.950	1.716	-24.434	1.00	36.37
C										
ANISOU	1325	CA	SER	A	403	4631	4747	4437	-49	-21 -12
C										
ATOM	1326	CB	SER	A	403	11.448	0.278	-24.256	1.00	36.02
C										
ANISOU	1326	CB	SER	A	403	4574	4762	4349	-7	-46 2
C										
ATOM	1327	OG	SER	A	403	12.414	-0.692	-24.631	1.00	33.78
O										
ANISOU	1327	OG	SER	A	403	4447	4556	3833	-138	-49 0
O										
ATOM	1328	C	SER	A	403	13.386	1.883	-23.941	1.00	36.54
C										
ANISOU	1328	C	SER	A	403	4660	4740	4482	-12	25 -5
C										
ATOM	1329	O	SER	A	403	14.295	2.067	-24.761	1.00	36.38
O										
ANISOU	1329	O	SER	A	403	4672	4720	4430	-40	37 14
O										
ATOM	1330	N	PHE	A	404	13.581	1.845	-22.620	1.00	35.39
N										
ANISOU	1330	N	PHE	A	404	4542	4621	4282	-38	41 -73
N										
ATOM	1331	CA	PHE	A	404	14.907	1.883	-22.036	1.00	34.51
C										

ANISOU	1331	CA	PHE	A	404	4526	4498	4089	6	74	-104
C											
ATOM	1332	CB	PHE	A	404	14.966	2.842	-20.820	1.00	33.40	
C											
ANISOU	1332	CB	PHE	A	404	4419	4290	3980	33	38	-95
C											
ATOM	1333	CG	PHE	A	404	14.744	4.276	-21.166	1.00	30.44	
C											
ANISOU	1333	CG	PHE	A	404	4161	4147	3255	-31	-6	-191
C											
ATOM	1334	CD1	PHE	A	404	15.823	5.101	-21.466	1.00	26.60	
C											
ANISOU	1334	CD1	PHE	A	404	3621	3887	2596	99	-79	-402
C											
ATOM	1335	CE1	PHE	A	404	15.644	6.447	-21.816	1.00	26.39	
C											
ANISOU	1335	CE1	PHE	A	404	3482	3882	2662	-15	8	-185
C											
ATOM	1336	CZ	PHE	A	404	14.347	6.978	-21.858	1.00	32.27	
C											
ANISOU	1336	CZ	PHE	A	404	4351	4333	3573	50	-33	-132
C											
ATOM	1337	CE2	PHE	A	404	13.225	6.145	-21.550	1.00	29.16	
C											
ANISOU	1337	CE2	PHE	A	404	3933	3731	3415	-11	40	-51
C											
ATOM	1338	CD2	PHE	A	404	13.445	4.805	-21.208	1.00	30.50	
C											
ANISOU	1338	CD2	PHE	A	404	4166	4173	3248	-128	106	-201
C											
ATOM	1339	C	PHE	A	404	15.373	0.499	-21.608	1.00	34.61	
C											
ANISOU	1339	C	PHE	A	404	4525	4477	4146	26	99	-204
C											
ATOM	1340	O	PHE	A	404	14.573	-0.420	-21.433	1.00	33.02	
O											
ANISOU	1340	O	PHE	A	404	4344	4311	3889	47	220	-276
O											
ATOM	1341	N	PHE	A	405	16.690	0.368	-21.449	1.00	34.74	
N											
ANISOU	1341	N	PHE	A	405	4575	4438	4184	43	52	-212
N											
ATOM	1342	CA	PHE	A	405	17.272	-0.759	-20.737	1.00	34.42	
C											
ANISOU	1342	CA	PHE	A	405	4502	4382	4192	-2	44	-125
C											
ATOM	1343	CB	PHE	A	405	17.776	-1.837	-21.701	1.00	32.43	
C											
ANISOU	1343	CB	PHE	A	405	4151	4159	4010	-72	155	-97
C											
ATOM	1344	CG	PHE	A	405	19.014	-1.437	-22.476	1.00	33.02	
C											
ANISOU	1344	CG	PHE	A	405	4397	3928	4220	8	-32	-287
C											
ATOM	1345	CD1	PHE	A	405	20.277	-1.889	-22.081	1.00	29.57	
C											
ANISOU	1345	CD1	PHE	A	405	4067	3437	3730	-38	-280	-316
C											
ATOM	1346	CE1	PHE	A	405	21.400	-1.541	-22.787	1.00	25.41	
C											
ANISOU	1346	CE1	PHE	A	405	3611	3087	2955	-141	-47	125
C											
ATOM	1347	CZ	PHE	A	405	21.292	-0.716	-23.897	1.00	32.01	

C										
ANISOU	1347	CZ	PHE	A	405	4279	3768	4114	-148	-68 -437
C										
ATOM	1348	CE2	PHE	A	405	20.048	-0.245	-24.310	1.00	27.60
C										
ANISOU	1348	CE2	PHE	A	405	3778	3209	3499	-32	-193 -158
C										
ATOM	1349	CD2	PHE	A	405	18.915	-0.607	-23.606	1.00	29.13
C										
ANISOU	1349	CD2	PHE	A	405	4022	3536	3508	-50	-6 -170
C										
ATOM	1350	C	PHE	A	405	18.415	-0.275	-19.858	1.00	34.59
C										
ANISOU	1350	C	PHE	A	405	4492	4419	4230	-18	50 -131
C										
ATOM	1351	O	PHE	A	405	18.909	0.844	-20.028	1.00	33.97
O										
ANISOU	1351	O	PHE	A	405	4478	4384	4045	-56	30 -88
O										
ATOM	1352	N	LEU	A	406	18.811	-1.132	-18.922	1.00	34.15
N										
ANISOU	1352	N	LEU	A	406	4406	4368	4199	-66	89 -89
N										
ATOM	1353	CA	LEU	A	406	20.063	-0.990	-18.217	1.00	34.71
C										
ANISOU	1353	CA	LEU	A	406	4441	4465	4282	-10	69 -40
C										
ATOM	1354	CB	LEU	A	406	19.973	0.066	-17.112	1.00	34.26
C										
ANISOU	1354	CB	LEU	A	406	4416	4403	4198	0	3 -2
C										
ATOM	1355	CG	LEU	A	406	19.362	-0.080	-15.723	1.00	32.70
C										
ANISOU	1355	CG	LEU	A	406	4113	4273	4036	-57	-11 1
C										
ATOM	1356	CD1	LEU	A	406	18.140	0.758	-15.580	1.00	31.62
C										
ANISOU	1356	CD1	LEU	A	406	3956	4197	3860	-42	-51 147
C										
ATOM	1357	CD2	LEU	A	406	19.149	-1.480	-15.240	1.00	30.79
C										
ANISOU	1357	CD2	LEU	A	406	3828	4056	3815	-202	-43 -257
C										
ATOM	1358	C	LEU	A	406	20.593	-2.310	-17.687	1.00	35.03
C										
ANISOU	1358	C	LEU	A	406	4496	4493	4320	-22	88 -40
C										
ATOM	1359	O	LEU	A	406	19.908	-3.316	-17.763	1.00	35.15
O										
ANISOU	1359	O	LEU	A	406	4419	4618	4318	-7	134 -19
O										
ATOM	1360	N	TYR	A	407	21.835	-2.297	-17.198	1.00	35.31
N										
ANISOU	1360	N	TYR	A	407	4535	4528	4351	-7	40 -34
N										
ATOM	1361	CA	TYR	A	407	22.410	-3.423	-16.471	1.00	35.65
C										
ANISOU	1361	CA	TYR	A	407	4544	4568	4430	-6	40 -15
C										
ATOM	1362	CB	TYR	A	407	23.581	-4.065	-17.216	1.00	34.84
C										
ANISOU	1362	CB	TYR	A	407	4429	4478	4327	-14	12 -49
C										

ATOM	1363	CG	TYR	A	407	23.321	-4.723	-18.548	1.00	34.08	
C											
ANISOU	1363	CG	TYR	A	407	4249	4291	4407	40	57	9
C											
ATOM	1364	CD1	TYR	A	407	23.139	-3.959	-19.694	1.00	32.26	
C											
ANISOU	1364	CD1	TYR	A	407	3966	3991	4300	71	69	-29
C											
ATOM	1365	CE1	TYR	A	407	22.945	-4.551	-20.936	1.00	31.35	
C											
ANISOU	1365	CE1	TYR	A	407	3804	3854	4251	1	-7	29
C											
ATOM	1366	CZ	TYR	A	407	22.964	-5.923	-21.046	1.00	32.84	
C											
ANISOU	1366	CZ	TYR	A	407	3810	4228	4440	0	45	0
C											
ATOM	1367	OH	TYR	A	407	22.771	-6.460	-22.284	1.00	34.03	
O											
ANISOU	1367	OH	TYR	A	407	4198	4350	4380	16	61	8
O											
ATOM	1368	CE2	TYR	A	407	23.163	-6.726	-19.925	1.00	31.27	
C											
ANISOU	1368	CE2	TYR	A	407	3774	3877	4229	25	90	-36
C											
ATOM	1369	CD2	TYR	A	407	23.354	-6.119	-18.681	1.00	32.21	
C											
ANISOU	1369	CD2	TYR	A	407	3878	4149	4210	-57	57	56
C											
ATOM	1370	C	TYR	A	407	22.935	-2.988	-15.099	1.00	35.88	
C											
ANISOU	1370	C	TYR	A	407	4601	4620	4411	-27	26	-8
C											
ATOM	1371	O	TYR	A	407	23.460	-1.890	-14.934	1.00	35.29	
O											
ANISOU	1371	O	TYR	A	407	4616	4570	4220	18	-14	-3
O											
ATOM	1372	N	SER	A	408	22.794	-3.888	-14.134	1.00	36.43	
N											
ANISOU	1372	N	SER	A	408	4686	4700	4454	-17	21	8
N											
ATOM	1373	CA	SER	A	408	23.367	-3.750	-12.801	1.00	36.52	
C											
ANISOU	1373	CA	SER	A	408	4655	4722	4499	-22	28	33
C											
ATOM	1374	CB	SER	A	408	22.296	-3.911	-11.702	1.00	36.58	
C											
ANISOU	1374	CB	SER	A	408	4665	4728	4507	-32	27	15
C											
ATOM	1375	OG	SER	A	408	22.782	-3.508	-10.426	1.00	34.60	
O											
ANISOU	1375	OG	SER	A	408	4359	4564	4222	70	111	165
O											
ATOM	1376	C	SER	A	408	24.397	-4.849	-12.686	1.00	36.40	
C											
ANISOU	1376	C	SER	A	408	4657	4704	4467	-12	38	50
C											
ATOM	1377	O	SER	A	408	24.159	-5.985	-13.121	1.00	36.21	
O											
ANISOU	1377	O	SER	A	408	4674	4649	4435	-17	72	98
O											
ATOM	1378	N	LYS	A	409	25.553	-4.484	-12.145	1.00	36.10	
N											
ANISOU	1378	N	LYS	A	409	4657	4695	4362	4	-34	66

N										
ATOM	1379	CA	LYS	A	409	26.659	-5.409	-11.944	1.00	35.94
C										
ANISOU	1379	CA	LYS	A	409	4630	4629	4395	7	-40 60
C										
ATOM	1380	CB	LYS	A	409	27.906	-4.935	-12.709	1.00	35.47
C										
ANISOU	1380	CB	LYS	A	409	4588	4563	4326	-11	-12 65
C										
ATOM	1381	CG	LYS	A	409	29.104	-5.896	-12.600	1.00	36.03
C										
ANISOU	1381	CG	LYS	A	409	4596	4593	4500	-14	25 105
C										
ATOM	1382	CD	LYS	A	409	30.197	-5.695	-13.673	1.00	36.06
C										
ANISOU	1382	CD	LYS	A	409	4630	4581	4491	54	-44 108
C										
ATOM	1383	CE	LYS	A	409	31.116	-4.491	-13.396	1.00	33.48
C										
ANISOU	1383	CE	LYS	A	409	4373	4343	4003	26	-214 0
C										
ATOM	1384	NZ	LYS	A	409	31.618	-4.426	-11.979	1.00	34.29
N										
ANISOU	1384	NZ	LYS	A	409	4556	4113	4356	53	22 193
N										
ATOM	1385	C	LYS	A	409	26.941	-5.580	-10.425	1.00	35.82
C										
ANISOU	1385	C	LYS	A	409	4612	4607	4388	-8	-73 104
C										
ATOM	1386	O	LYS	A	409	27.346	-4.637	-9.738	1.00	35.11
O										
ANISOU	1386	O	LYS	A	409	4621	4589	4130	-13	-162 98
O										
ATOM	1387	N	LEU	A	410	26.673	-6.777	-9.920	1.00	35.61
N										
ANISOU	1387	N	LEU	A	410	4529	4579	4420	14	-95 141
N										
ATOM	1388	CA	LEU	A	410	26.958	-7.114	-8.531	1.00	35.76
C										
ANISOU	1388	CA	LEU	A	410	4598	4561	4426	4	1 114
C										
ATOM	1389	CB	LEU	A	410	25.857	-7.992	-7.911	1.00	35.47
C										
ANISOU	1389	CB	LEU	A	410	4524	4542	4409	-3	-25 72
C										
ATOM	1390	CG	LEU	A	410	26.145	-8.413	-6.445	1.00	35.65
C										
ANISOU	1390	CG	LEU	A	410	4571	4520	4452	10	25 122
C										
ATOM	1391	CD1	LEU	A	410	26.011	-7.260	-5.456	1.00	33.68
C										
ANISOU	1391	CD1	LEU	A	410	4444	4388	3963	51	76 155
C										
ATOM	1392	CD2	LEU	A	410	25.311	-9.570	-6.007	1.00	35.81
C										
ANISOU	1392	CD2	LEU	A	410	4430	4679	4494	-71	30 184
C										
ATOM	1393	C	LEU	A	410	28.292	-7.843	-8.495	1.00	35.82
C										
ANISOU	1393	C	LEU	A	410	4590	4560	4458	39	-21 187
C										
ATOM	1394	O	LEU	A	410	28.479	-8.850	-9.213	1.00	35.64
O										

ANISOU	1394	O	LEU	A	410	4599	4489	4455	42	-33	257
O											
ATOM	1395	N	THR	A	411	29.225	-7.315	-7.707	1.00	36.06	
N											
ANISOU	1395	N	THR	A	411	4693	4596	4410	41	-16	193
N											
ATOM	1396	CA	THR	A	411	30.513	-7.989	-7.514	1.00	37.46	
C											
ANISOU	1396	CA	THR	A	411	4777	4828	4625	24	0	147
C											
ATOM	1397	CB	THR	A	411	31.705	-7.010	-7.613	1.00	37.32	
C											
ANISOU	1397	CB	THR	A	411	4746	4809	4625	10	-29	154
C											
ATOM	1398	OG1	THR	A	411	31.761	-6.416	-8.930	1.00	37.50	
O											
ANISOU	1398	OG1	THR	A	411	4710	4871	4664	84	-11	125
O											
ATOM	1399	CG2	THR	A	411	33.018	-7.757	-7.351	1.00	36.73	
C											
ANISOU	1399	CG2	THR	A	411	4767	4595	4593	3	22	161
C											
ATOM	1400	C	THR	A	411	30.540	-8.758	-6.171	1.00	38.50	
C											
ANISOU	1400	C	THR	A	411	4928	4919	4780	58	-33	132
C											
ATOM	1401	O	THR	A	411	30.377	-8.166	-5.098	1.00	38.70	
O											
ANISOU	1401	O	THR	A	411	4944	5052	4708	98	23	156
O											
ATOM	1402	N	VAL	A	412	30.733	-10.070	-6.231	1.00	40.03	
N											
ANISOU	1402	N	VAL	A	412	5107	5068	5034	48	-15	105
N											
ATOM	1403	CA	VAL	A	412	30.898	-10.879	-4.999	1.00	41.18	
C											
ANISOU	1403	CA	VAL	A	412	5270	5215	5159	42	-14	107
C											
ATOM	1404	CB	VAL	A	412	29.671	-11.783	-4.715	1.00	40.91	
C											
ANISOU	1404	CB	VAL	A	412	5223	5145	5175	45	-26	100
C											
ATOM	1405	CG1	VAL	A	412	28.459	-10.957	-4.333	1.00	41.72	
C											
ANISOU	1405	CG1	VAL	A	412	5340	5253	5258	8	5	95
C											
ATOM	1406	CG2	VAL	A	412	29.378	-12.688	-5.898	1.00	41.30	
C											
ANISOU	1406	CG2	VAL	A	412	5288	5262	5143	56	-93	79
C											
ATOM	1407	C	VAL	A	412	32.130	-11.777	-5.058	1.00	41.92	
C											
ANISOU	1407	C	VAL	A	412	5342	5298	5284	55	2	92
C											
ATOM	1408	O	VAL	A	412	32.501	-12.230	-6.148	1.00	42.01	
O											
ANISOU	1408	O	VAL	A	412	5411	5272	5277	51	-15	74
O											
ATOM	1409	N	ASP	A	413	32.741	-12.050	-3.895	1.00	43.17	
N											
ANISOU	1409	N	ASP	A	413	5497	5486	5417	25	-27	44
N											
ATOM	1410	CA	ASP	A	413	33.828	-13.058	-3.794	1.00	44.45	

C										
ANISOU	1410	CA	ASP	A	413	5685	5613	5589	20	-20 37
C										
ATOM	1411	CB	ASP	A	413	34.281	-13.268	-2.345	1.00	45.14
C										
ANISOU	1411	CB	ASP	A	413	5771	5740	5638	27	-24 76
C										
ATOM	1412	CG	ASP	A	413	34.976	-12.041	-1.745	1.00	46.83
C										
ANISOU	1412	CG	ASP	A	413	6015	5966	5809	-56	-80 52
C										
ATOM	1413	OD1	ASP	A	413	35.210	-11.035	-2.457	1.00	48.90
O										
ANISOU	1413	OD1	ASP	A	413	6156	6319	6102	-40	23 125
O										
ATOM	1414	OD2	ASP	A	413	35.288	-12.084	-0.535	1.00	49.87
O										
ANISOU	1414	OD2	ASP	A	413	6489	6388	6071	-31	-24 57
O										
ATOM	1415	C	ASP	A	413	33.345	-14.385	-4.372	1.00	44.46
C										
ANISOU	1415	C	ASP	A	413	5701	5572	5620	-1	2 46
C										
ATOM	1416	O	ASP	A	413	32.224	-14.799	-4.093	1.00	44.32
O										
ANISOU	1416	O	ASP	A	413	5691	5550	5596	4	41 42
O										
ATOM	1417	N	LYS	A	414	34.185	-15.020	-5.195	1.00	44.94
N										
ANISOU	1417	N	LYS	A	414	5770	5623	5682	8	-7 53
N										
ATOM	1418	CA	LYS	A	414	33.820	-16.224	-5.971	1.00	45.58
C										
ANISOU	1418	CA	LYS	A	414	5844	5751	5721	-21	-31 35
C										
ATOM	1419	CB	LYS	A	414	34.997	-16.633	-6.850	1.00	45.72
C										
ANISOU	1419	CB	LYS	A	414	5836	5796	5740	-19	-14 37
C										
ATOM	1420	CG	LYS	A	414	34.725	-17.758	-7.819	1.00	45.82
C										
ANISOU	1420	CG	LYS	A	414	5880	5705	5824	30	-23 30
C										
ATOM	1421	CD	LYS	A	414	35.966	-18.024	-8.634	1.00	47.84
C										
ANISOU	1421	CD	LYS	A	414	6077	6009	6089	18	52 -1
C										
ATOM	1422	CE	LYS	A	414	35.693	-18.974	-9.784	1.00	48.47
C										
ANISOU	1422	CE	LYS	A	414	6126	6229	6062	23	11 -100
C										
ATOM	1423	NZ	LYS	A	414	36.972	-19.359	-10.462	1.00	49.66
N										
ANISOU	1423	NZ	LYS	A	414	6253	6358	6256	15	38 -89
N										
ATOM	1424	C	LYS	A	414	33.401	-17.438	-5.138	1.00	46.06
C										
ANISOU	1424	C	LYS	A	414	5882	5808	5809	-53	-60 44
C										
ATOM	1425	O	LYS	A	414	32.556	-18.234	-5.566	1.00	47.07
O										
ANISOU	1425	O	LYS	A	414	5999	5982	5903	-24	-123 54
O										

ATOM	1426	N	SER A 415	34.012	-17.606	-3.971	1.00	46.26	
N									
ANISOU	1426	N	SER A 415	5896	5861	5817	-68	-56	60
N									
ATOM	1427	CA	SER A 415	33.679	-18.728	-3.088	1.00	46.61	
C									
ANISOU	1427	CA	SER A 415	5930	5891	5888	-68	-54	52
C									
ATOM	1428	CB	SER A 415	34.552	-18.712	-1.810	1.00	46.81	
C									
ANISOU	1428	CB	SER A 415	5974	5905	5906	-59	-48	70
C									
ATOM	1429	OG	SER A 415	34.803	-17.392	-1.321	1.00	46.84	
O									
ANISOU	1429	OG	SER A 415	6000	5875	5923	-99	-111	22
O									
ATOM	1430	C	SER A 415	32.167	-18.732	-2.781	1.00	46.70	
C									
ANISOU	1430	C	SER A 415	5922	5886	5935	-46	-18	49
C									
ATOM	1431	O	SER A 415	31.521	-19.780	-2.836	1.00	47.24	
O									
ANISOU	1431	O	SER A 415	5992	5952	6003	-61	-44	28
O									
ATOM	1432	N	ARG A 416	31.617	-17.544	-2.512	1.00	46.83	
N									
ANISOU	1432	N	ARG A 416	5915	5904	5972	-34	-6	62
N									
ATOM	1433	CA	ARG A 416	30.171	-17.325	-2.328	1.00	46.36	
C									
ANISOU	1433	CA	ARG A 416	5861	5859	5894	-34	0	66
C									
ATOM	1434	CB	ARG A 416	29.887	-15.849	-2.088	1.00	46.60	
C									
ANISOU	1434	CB	ARG A 416	5918	5875	5912	0	41	69
C									
ATOM	1435	CG	ARG A 416	29.867	-15.452	-0.644	1.00	47.76	
C									
ANISOU	1435	CG	ARG A 416	6143	6052	5950	-60	-4	53
C									
ATOM	1436	CD	ARG A 416	29.723	-13.956	-0.492	1.00	47.81	
C									
ANISOU	1436	CD	ARG A 416	5941	6058	6165	-177	-24	4
C									
ATOM	1437	NE	ARG A 416	30.998	-13.332	-0.127	1.00	51.98	
N									
ANISOU	1437	NE	ARG A 416	6596	6580	6574	64	83	221
N									
ATOM	1438	CZ	ARG A 416	31.182	-12.562	0.945	1.00	48.85	
C									
ANISOU	1438	CZ	ARG A 416	5973	6438	6150	-125	66	-142
C									
ATOM	1439	NH1	ARG A 416	30.168	-12.312	1.763	1.00	53.54	
N									
ANISOU	1439	NH1	ARG A 416	6843	6710	6787	7	1	33
N									
ATOM	1440	NH2	ARG A 416	32.379	-12.028	1.196	1.00	52.19	
N									
ANISOU	1440	NH2	ARG A 416	6821	6562	6445	124	29	86
N									
ATOM	1441	C	ARG A 416	29.326	-17.787	-3.503	1.00	46.10	
C									
ANISOU	1441	C	ARG A 416	5811	5841	5864	-26	-12	80

C										
ATOM	1442	O	ARG	A	416	28.229	-18.318	-3.299	1.00	46.58
O										
ANISOU	1442	O	ARG	A	416	5912	5852	5931	3	-22 129
O										
ATOM	1443	N	TRP	A	417	29.814	-17.566	-4.727	1.00	45.76
N										
ANISOU	1443	N	TRP	A	417	5753	5790	5841	-39	-6 47
N										
ATOM	1444	CA	TRP	A	417	29.109	-18.028	-5.933	1.00	45.44
C										
ANISOU	1444	CA	TRP	A	417	5708	5726	5828	-4	-12 32
C										
ATOM	1445	CB	TRP	A	417	29.750	-17.485	-7.222	1.00	43.60
C										
ANISOU	1445	CB	TRP	A	417	5388	5589	5589	11	-113 20
C										
ATOM	1446	CG	TRP	A	417	29.056	-17.925	-8.508	1.00	43.73
C										
ANISOU	1446	CG	TRP	A	417	5357	5558	5700	39	-41 38
C										
ATOM	1447	CD1	TRP	A	417	29.598	-18.674	-9.537	1.00	41.28
C										
ANISOU	1447	CD1	TRP	A	417	4777	5490	5416	116	-99 22
C										
ATOM	1448	NE1	TRP	A	417	28.662	-18.887	-10.523	1.00	44.32
N										
ANISOU	1448	NE1	TRP	A	417	5725	5455	5657	-184	23 161
N										
ATOM	1449	CE2	TRP	A	417	27.488	-18.279	-10.152	1.00	41.66
C										
ANISOU	1449	CE2	TRP	A	417	5146	5311	5372	46	-8 -11
C										
ATOM	1450	CD2	TRP	A	417	27.698	-17.665	-8.888	1.00	43.53
C										
ANISOU	1450	CD2	TRP	A	417	5499	5455	5584	22	36 94
C										
ATOM	1451	CE3	TRP	A	417	26.634	-16.972	-8.286	1.00	42.96
C										
ANISOU	1451	CE3	TRP	A	417	5359	5442	5518	17	14 67
C										
ATOM	1452	CZ3	TRP	A	417	25.417	-16.905	-8.962	1.00	42.84
C										
ANISOU	1452	CZ3	TRP	A	417	5360	5442	5473	-41	61 -2
C										
ATOM	1453	CH2	TRP	A	417	25.246	-17.517	-10.217	1.00	43.50
C										
ANISOU	1453	CH2	TRP	A	417	5561	5399	5567	-97	121 76
C										
ATOM	1454	CZ2	TRP	A	417	26.263	-18.206	-10.824	1.00	42.87
C										
ANISOU	1454	CZ2	TRP	A	417	5358	5337	5590	-6	99 73
C										
ATOM	1455	C	TRP	A	417	29.072	-19.558	-5.927	1.00	46.18
C										
ANISOU	1455	C	TRP	A	417	5795	5803	5946	7	-35 30
C										
ATOM	1456	O	TRP	A	417	28.009	-20.167	-6.166	1.00	46.90
O										
ANISOU	1456	O	TRP	A	417	5817	5939	6064	-1	-68 67
O										
ATOM	1457	N	GLN	A	418	30.217	-20.167	-5.598	1.00	46.23
N										

250 / 279

ANISOU	1457	N	GLN A 418	5783	5839	5941	48	-14	42
N									
ATOM	1458	CA	GLN A 418	30.356	-21.636	-5.575	1.00	46.42	
C									
ANISOU	1458	CA	GLN A 418	5870	5841	5926	17	-2	41
C									
ATOM	1459	CB	GLN A 418	31.842	-22.049	-5.700	1.00	46.09	
C									
ANISOU	1459	CB	GLN A 418	5815	5825	5872	36	19	53
C									
ATOM	1460	CG	GLN A 418	32.458	-21.757	-7.083	1.00	46.48	
C									
ANISOU	1460	CG	GLN A 418	5847	5833	5976	34	73	-10
C									
ATOM	1461	CD	GLN A 418	34.002	-21.715	-7.095	1.00	46.67	
C									
ANISOU	1461	CD	GLN A 418	5898	5914	5920	16	24	20
C									
ATOM	1462	OE1	GLN A 418	34.665	-21.686	-6.048	1.00	47.82	
O									
ANISOU	1462	OE1	GLN A 418	6033	6136	6000	53	-33	66
O									
ATOM	1463	NE2	GLN A 418	34.571	-21.701	-8.297	1.00	47.35	
N									
ANISOU	1463	NE2	GLN A 418	5961	6023	6004	33	66	26
N									
ATOM	1464	C	GLN A 418	29.653	-22.299	-4.363	1.00	46.78	
C									
ANISOU	1464	C	GLN A 418	5905	5866	6002	-9	-3	20
C									
ATOM	1465	O	GLN A 418	29.001	-23.337	-4.506	1.00	47.00	
O									
ANISOU	1465	O	GLN A 418	5932	5847	6078	-40	-29	35
O									
ATOM	1466	N	GLN A 419	29.777	-21.696	-3.180	1.00	47.14	
N									
ANISOU	1466	N	GLN A 419	6009	5940	5961	-18	-9	36
N									
ATOM	1467	CA	GLN A 419	29.014	-22.148	-2.017	1.00	48.11	
C									
ANISOU	1467	CA	GLN A 419	6130	6033	6117	-16	-35	52
C									
ATOM	1468	CB	GLN A 419	29.192	-21.182	-0.827	1.00	47.74	
C									
ANISOU	1468	CB	GLN A 419	6122	5956	6058	-21	-65	7
C									
ATOM	1469	CG	GLN A 419	30.584	-21.313	-0.189	1.00	48.88	
C									
ANISOU	1469	CG	GLN A 419	6202	6136	6231	-31	-83	18
C									
ATOM	1470	CD	GLN A 419	30.835	-20.383	1.010	1.00	48.22	
C									
ANISOU	1470	CD	GLN A 419	6253	6005	6062	61	-160	-28
C									
ATOM	1471	OE1	GLN A 419	30.374	-19.232	1.050	1.00	51.84	
O									
ANISOU	1471	OE1	GLN A 419	6788	6288	6621	72	-49	-14
O									
ATOM	1472	NE2	GLN A 419	31.595	-20.883	1.981	1.00	48.48	
N									
ANISOU	1472	NE2	GLN A 419	6320	6025	6074	22	-59	-61
N									
ATOM	1473	C	GLN A 419	27.538	-22.358	-2.393	1.00	47.88	

C	ANISOU	1473	C	GLN	A	419	6103	5976	6111	-20	-69	81
C	ATOM	1474	O	GLN	A	419	26.977	-23.449	-2.213	1.00	48.69	
O	ANISOU	1474	O	GLN	A	419	6259	5993	6247	-19	-60	110
O	ATOM	1475	N	GLY	A	420	26.911	-21.333	-2.954	1.00	47.48	
N	ANISOU	1475	N	GLY	A	420	6057	5915	6069	-12	-64	79
N	ATOM	1476	CA	GLY	A	420	25.605	-21.536	-3.553	1.00	46.95	
C	ANISOU	1476	CA	GLY	A	420	5936	5893	6010	15	-32	74
C	ATOM	1477	C	GLY	A	420	24.588	-20.527	-3.120	1.00	46.55	
C	ANISOU	1477	C	GLY	A	420	5880	5886	5920	12	-26	49
C	ATOM	1478	O	GLY	A	420	23.394	-20.701	-3.397	1.00	46.93	
O	ANISOU	1478	O	GLY	A	420	5889	5969	5972	-9	-8	74
O	ATOM	1479	N	ASN	A	421	25.070	-19.488	-2.433	1.00	46.34	
N	ANISOU	1479	N	ASN	A	421	5839	5872	5896	40	-50	46
N	ATOM	1480	CA	ASN	A	421	24.289	-18.301	-2.077	1.00	45.85	
C	ANISOU	1480	CA	ASN	A	421	5786	5865	5770	64	-39	9
C	ATOM	1481	CB	ASN	A	421	25.211	-17.091	-1.903	1.00	45.59	
C	ANISOU	1481	CB	ASN	A	421	5783	5824	5712	51	-56	13
C	ATOM	1482	CG	ASN	A	421	25.560	-16.808	-0.438	1.00	46.44	
C	ANISOU	1482	CG	ASN	A	421	5950	5950	5741	86	-2	-15
C	ATOM	1483	OD1	ASN	A	421	26.110	-17.659	0.284	1.00	43.48	
O	ANISOU	1483	OD1	ASN	A	421	5884	5482	5152	142	48	64
O	ATOM	1484	ND2	ASN	A	421	25.277	-15.577	-0.009	1.00	47.25	
N	ANISOU	1484	ND2	ASN	A	421	6145	5952	5855	165	-93	-103
N	ATOM	1485	C	ASN	A	421	23.213	-17.924	-3.095	1.00	45.79	
C	ANISOU	1485	C	ASN	A	421	5772	5862	5764	76	-20	43
C	ATOM	1486	O	ASN	A	421	23.401	-18.062	-4.327	1.00	45.60	
O	ANISOU	1486	O	ASN	A	421	5768	5864	5693	63	-16	71
O	ATOM	1487	N	VAL	A	422	22.089	-17.454	-2.553	1.00	45.55	
N	ANISOU	1487	N	VAL	A	422	5739	5837	5731	49	-11	67
N	ATOM	1488	CA	VAL	A	422	21.035	-16.834	-3.337	1.00	45.24	
C	ANISOU	1488	CA	VAL	A	422	5704	5739	5744	26	10	70
C												

ATOM	1489	CB	VAL	A	422	19.661	-17.027	-2.690	1.00	45.54	
C											
ANISOU	1489	CB	VAL	A	422	5700	5790	5810	24	9	65
C											
ATOM	1490	CG1	VAL	A	422	18.638	-16.039	-3.274	1.00	46.04	
C											
ANISOU	1490	CG1	VAL	A	422	5848	5757	5887	73	42	96
C											
ATOM	1491	CG2	VAL	A	422	19.197	-18.476	-2.879	1.00	45.88	
C											
ANISOU	1491	CG2	VAL	A	422	5756	5710	5965	34	-24	7
C											
ATOM	1492	C	VAL	A	422	21.346	-15.357	-3.459	1.00	44.78	
C											
ANISOU	1492	C	VAL	A	422	5682	5693	5638	10	15	94
C											
ATOM	1493	O	VAL	A	422	21.613	-14.670	-2.457	1.00	44.88	
O											
ANISOU	1493	O	VAL	A	422	5745	5738	5570	0	98	124
O											
ATOM	1494	N	PHE	A	423	21.369	-14.880	-4.698	1.00	44.38	
N											
ANISOU	1494	N	PHE	A	423	5592	5648	5622	7	-27	107
N											
ATOM	1495	CA	PHE	A	423	21.495	-13.452	-4.933	1.00	43.56	
C											
ANISOU	1495	CA	PHE	A	423	5497	5571	5482	0	-24	111
C											
ATOM	1496	CB	PHE	A	423	22.798	-13.133	-5.646	1.00	43.29	
C											
ANISOU	1496	CB	PHE	A	423	5394	5556	5497	-7	-79	107
C											
ATOM	1497	CG	PHE	A	423	24.008	-13.224	-4.759	1.00	44.33	
C											
ANISOU	1497	CG	PHE	A	423	5633	5632	5577	-92	29	161
C											
ATOM	1498	CD1	PHE	A	423	24.936	-14.249	-4.937	1.00	42.42	
C											
ANISOU	1498	CD1	PHE	A	423	5139	5468	5509	38	-37	193
C											
ATOM	1499	CE1	PHE	A	423	26.047	-14.339	-4.131	1.00	42.33	
C											
ANISOU	1499	CE1	PHE	A	423	5468	5273	5342	-127	119	-44
C											
ATOM	1500	CZ	PHE	A	423	26.245	-13.401	-3.133	1.00	45.72	
C											
ANISOU	1500	CZ	PHE	A	423	5685	6031	5653	-193	105	211
C											
ATOM	1501	CE2	PHE	A	423	25.328	-12.362	-2.944	1.00	41.37	
C											
ANISOU	1501	CE2	PHE	A	423	4978	5384	5355	209	-92	166
C											
ATOM	1502	CD2	PHE	A	423	24.217	-12.288	-3.751	1.00	43.86	
C											
ANISOU	1502	CD2	PHE	A	423	5670	5522	5470	-44	136	92
C											
ATOM	1503	C	PHE	A	423	20.288	-12.976	-5.723	1.00	43.24	
C											
ANISOU	1503	C	PHE	A	423	5452	5530	5446	-1	-11	102
C											
ATOM	1504	O	PHE	A	423	19.889	-13.612	-6.714	1.00	42.35	
O											
ANISOU	1504	O	PHE	A	423	5366	5482	5242	-37	-48	112

O									
ATOM	1505	N	SER A 424	19.699	-11.880	-5.251	1.00	42.62	
N									
ANISOU	1505	N	SER A 424	5361	5473	5357	9	17	73
N									
ATOM	1506	CA	SER A 424	18.502	-11.336	-5.875	1.00	42.62	
C									
ANISOU	1506	CA	SER A 424	5334	5509	5350	15	32	50
C									
ATOM	1507	CB	SER A 424	17.269	-11.580	-4.983	1.00	42.80	
C									
ANISOU	1507	CB	SER A 424	5346	5561	5353	30	34	25
C									
ATOM	1508	OG	SER A 424	17.321	-10.787	-3.812	1.00	42.53	
O									
ANISOU	1508	OG	SER A 424	5276	5654	5226	85	74	39
O									
ATOM	1509	C	SER A 424	18.626	-9.859	-6.300	1.00	42.35	
C									
ANISOU	1509	C	SER A 424	5296	5467	5328	20	18	77
C									
ATOM	1510	O	SER A 424	19.033	-8.992	-5.518	1.00	41.38	
O									
ANISOU	1510	O	SER A 424	5174	5364	5184	-26	-2	71
O									
ATOM	1511	N	CYS A 425	18.282	-9.603	-7.563	1.00	42.32	
N									
ANISOU	1511	N	CYS A 425	5228	5490	5359	38	3	113
N									
ATOM	1512	CA	CYS A 425	18.182	-8.238	-8.086	1.00	42.32	
C									
ANISOU	1512	CA	CYS A 425	5236	5477	5364	15	4	122
C									
ATOM	1513	CB	CYS A 425	18.691	-8.193	-9.527	1.00	42.07	
C									
ANISOU	1513	CB	CYS A 425	5168	5425	5391	5	-28	131
C									
ATOM	1514	SG	CYS A 425	18.168	-6.769	-10.529	1.00	41.39	
S									
ANISOU	1514	SG	CYS A 425	4930	5467	5327	77	-26	166
S									
ATOM	1515	C	CYS A 425	16.729	-7.761	-7.995	1.00	42.83	
C									
ANISOU	1515	C	CYS A 425	5386	5497	5390	14	2	110
C									
ATOM	1516	O	CYS A 425	15.813	-8.361	-8.585	1.00	42.19	
O									
ANISOU	1516	O	CYS A 425	5252	5457	5320	-2	48	124
O									
ATOM	1517	N	SER A 426	16.521	-6.693	-7.231	1.00	43.33	
N									
ANISOU	1517	N	SER A 426	5489	5511	5460	6	-17	101
N									
ATOM	1518	CA	SER A 426	15.185	-6.185	-7.025	1.00	43.91	
C									
ANISOU	1518	CA	SER A 426	5550	5598	5534	-21	-15	67
C									
ATOM	1519	CB	SER A 426	14.815	-6.219	-5.538	1.00	44.36	
C									
ANISOU	1519	CB	SER A 426	5616	5660	5575	-47	-55	69
C									
ATOM	1520	OG	SER A 426	15.437	-5.186	-4.808	1.00	45.92	
O									

ANISOU	1520	OG	SER A 426	5898	5798	5752	-91	-95	43
O									
ATOM	1521	C	SER A 426	14.983	-4.801	-7.660	1.00	43.57	
C									
ANISOU	1521	C	SER A 426	5506	5553	5493	-13	-31	57
C									
ATOM	1522	O	SER A 426	15.711	-3.850	-7.371	1.00	43.22	
O									
ANISOU	1522	O	SER A 426	5456	5506	5457	-9	-46	60
O									
ATOM	1523	N	VAL A 427	13.976	-4.725	-8.528	1.00	42.97	
N									
ANISOU	1523	N	VAL A 427	5449	5498	5380	-15	-21	49
N									
ATOM	1524	CA	VAL A 427	13.734	-3.579	-9.400	1.00	42.05	
C									
ANISOU	1524	CA	VAL A 427	5340	5430	5205	0	-15	33
C									
ATOM	1525	CB	VAL A 427	13.627	-4.051	-10.884	1.00	41.86	
C									
ANISOU	1525	CB	VAL A 427	5301	5420	5181	17	-2	-11
C									
ATOM	1526	CG1	VAL A 427	13.382	-2.874	-11.821	1.00	40.21	
C									
ANISOU	1526	CG1	VAL A 427	5056	5232	4987	-44	57	-23
C									
ATOM	1527	CG2	VAL A 427	14.872	-4.811	-11.296	1.00	41.53	
C									
ANISOU	1527	CG2	VAL A 427	5292	5317	5170	0	-112	30
C									
ATOM	1528	C	VAL A 427	12.453	-2.820	-9.041	1.00	41.50	
C									
ANISOU	1528	C	VAL A 427	5362	5341	5064	-13	8	28
C									
ATOM	1529	O	VAL A 427	11.390	-3.408	-8.880	1.00	40.96	
O									
ANISOU	1529	O	VAL A 427	5279	5330	4951	-6	48	98
O									
ATOM	1530	N	MET A 428	12.559	-1.500	-8.969	1.00	41.12	
N									
ANISOU	1530	N	MET A 428	5318	5327	4978	-22	7	9
N									
ATOM	1531	CA	MET A 428	11.395	-0.647	-8.805	1.00	40.47	
C									
ANISOU	1531	CA	MET A 428	5291	5197	4889	-14	60	-23
C									
ATOM	1532	CB	MET A 428	11.585	0.281	-7.620	1.00	40.36	
C									
ANISOU	1532	CB	MET A 428	5204	5222	4908	-56	23	-2
C									
ATOM	1533	CG	MET A 428	12.037	-0.413	-6.373	1.00	41.31	
C									
ANISOU	1533	CG	MET A 428	5409	5218	5068	-29	52	-5
C									
ATOM	1534	SD	MET A 428	11.727	0.663	-4.974	1.00	42.39	
S									
ANISOU	1534	SD	MET A 428	5767	5498	4839	-41	119	-25
S									
ATOM	1535	CE	MET A 428	9.947	0.788	-5.114	1.00	40.75	
C									
ANISOU	1535	CE	MET A 428	5472	5091	4920	29	70	102
C									
ATOM	1536	C	MET A 428	11.096	0.175	-10.057	1.00	39.15	

C										
ANISOU	1536	C	MET A 428	5085	5011	4777	14	40	-108	
C										
ATOM	1537	O	MET A 428	11.944	0.908	-10.555	1.00	38.37		
O										
ANISOU	1537	O	MET A 428	5039	4855	4683	13	60	-72	
O										
ATOM	1538	N	HIS A 429	9.876	0.038	-10.556	1.00	37.88		
N										
ANISOU	1538	N	HIS A 429	4935	4841	4613	56	57	-125	
N										
ATOM	1539	CA	HIS A 429	9.427	0.779	-11.730	1.00	36.90		
C										
ANISOU	1539	CA	HIS A 429	4763	4738	4517	31	43	-119	
C										
ATOM	1540	CB	HIS A 429	9.829	0.086	-13.033	1.00	35.73		
C										
ANISOU	1540	CB	HIS A 429	4590	4600	4386	-2	24	-67	
C										
ATOM	1541	CG	HIS A 429	9.560	0.914	-14.246	1.00	33.46		
C										
ANISOU	1541	CG	HIS A 429	4228	4253	4232	12	111	-213	
C										
ATOM	1542	ND1	HIS A 429	8.334	0.950	-14.870	1.00	31.22		
N										
ANISOU	1542	ND1	HIS A 429	4260	3907	3694	25	43	-229	
N										
ATOM	1543	CE1	HIS A 429	8.385	1.778	-15.894	1.00	30.83		
C										
ANISOU	1543	CE1	HIS A 429	4069	3810	3833	-36	51	-163	
C										
ATOM	1544	NE2	HIS A 429	9.602	2.278	-15.960	1.00	31.02		
N										
ANISOU	1544	NE2	HIS A 429	4048	3977	3758	10	-105	-163	
N										
ATOM	1545	CD2	HIS A 429	10.353	1.763	-14.935	1.00	32.35		
C										
ANISOU	1545	CD2	HIS A 429	4277	3969	4045	86	47	-124	
C										
ATOM	1546	C	HIS A 429	7.929	0.843	-11.664	1.00	36.82		
C										
ANISOU	1546	C	HIS A 429	4799	4771	4418	26	9	-122	
C										
ATOM	1547	O	HIS A 429	7.297	-0.115	-11.229	1.00	36.28		
O										
ANISOU	1547	O	HIS A 429	4722	4796	4265	10	-12	-179	
O										
ATOM	1548	N	GLU A 430	7.374	1.964	-12.119	1.00	36.71		
N										
ANISOU	1548	N	GLU A 430	4815	4761	4371	55	19	-106	
N										
ATOM	1549	CA	GLU A 430	5.934	2.203	-12.098	1.00	36.80		
C										
ANISOU	1549	CA	GLU A 430	4811	4731	4437	41	6	-42	
C										
ATOM	1550	CB	GLU A 430	5.594	3.547	-12.773	1.00	36.76		
C										
ANISOU	1550	CB	GLU A 430	4791	4744	4430	-9	-30	-31	
C										
ATOM	1551	CG	GLU A 430	5.694	3.553	-14.307	1.00	35.19		
C										
ANISOU	1551	CG	GLU A 430	4490	4486	4392	25	72	100	
C										

ATOM	1552	CD	GLU	A	430	5.001	4.742	-14.895	1.00	34.83	
C											
ANISOU	1552	CD	GLU	A	430	4558	4546	4128	-71	229	48
C											
ATOM	1553	OE1	GLU	A	430	5.453	5.862	-14.630	1.00	30.64	
O											
ANISOU	1553	OE1	GLU	A	430	4122	4033	3484	-100	187	82
O											
ATOM	1554	OE2	GLU	A	430	3.991	4.560	-15.606	1.00	34.10	
O											
ANISOU	1554	OE2	GLU	A	430	4321	4585	4048	-96	202	-27
O											
ATOM	1555	C	GLU	A	430	5.110	1.099	-12.716	1.00	36.55	
C											
ANISOU	1555	C	GLU	A	430	4793	4631	4463	48	-12	-17
C											
ATOM	1556	O	GLU	A	430	4.035	0.794	-12.223	1.00	36.45	
O											
ANISOU	1556	O	GLU	A	430	4876	4636	4334	94	23	-111
O											
ATOM	1557	N	ALA	A	431	5.613	0.513	-13.803	1.00	36.85	
N											
ANISOU	1557	N	ALA	A	431	4769	4635	4595	51	-26	26
N											
ATOM	1558	CA	ALA	A	431	4.836	-0.427	-14.622	1.00	36.97	
C											
ANISOU	1558	CA	ALA	A	431	4763	4665	4617	35	0	-11
C											
ATOM	1559	CB	ALA	A	431	5.256	-0.312	-16.072	1.00	36.63	
C											
ANISOU	1559	CB	ALA	A	431	4680	4637	4600	53	-51	-6
C											
ATOM	1560	C	ALA	A	431	4.901	-1.891	-14.129	1.00	37.11	
C											
ANISOU	1560	C	ALA	A	431	4752	4712	4633	-16	12	-11
C											
ATOM	1561	O	ALA	A	431	4.366	-2.798	-14.764	1.00	37.32	
O											
ANISOU	1561	O	ALA	A	431	4770	4750	4656	-49	59	-15
O											
ATOM	1562	N	LEU	A	432	5.562	-2.117	-13.003	1.00	36.79	
N											
ANISOU	1562	N	LEU	A	432	4741	4648	4588	-2	5	7
N											
ATOM	1563	CA	LEU	A	432	5.501	-3.419	-12.333	1.00	37.15	
C											
ANISOU	1563	CA	LEU	A	432	4763	4747	4605	-3	-9	8
C											
ATOM	1564	CB	LEU	A	432	6.813	-3.728	-11.587	1.00	36.16	
C											
ANISOU	1564	CB	LEU	A	432	4697	4593	4448	14	-19	45
C											
ATOM	1565	CG	LEU	A	432	8.039	-3.920	-12.494	1.00	35.48	
C											
ANISOU	1565	CG	LEU	A	432	4565	4483	4433	11	-70	72
C											
ATOM	1566	CD1	LEU	A	432	9.375	-3.695	-11.782	1.00	33.76	
C											
ANISOU	1566	CD1	LEU	A	432	4494	4326	4005	44	-80	116
C											
ATOM	1567	CD2	LEU	A	432	8.019	-5.273	-13.221	1.00	34.94	
C											
ANISOU	1567	CD2	LEU	A	432	4448	4511	4315	30	-64	152

C										
ATOM	1568	C	LEU A 432	4.287	-3.470	-11.401	1.00	37.38		
C										
ANISOU	1568	C	LEU A 432	4819	4804	4578	-12	-9	34	
C										
ATOM	1569	O	LEU A 432	3.802	-2.445	-10.931	1.00	37.28		
O										
ANISOU	1569	O	LEU A 432	4766	4889	4509	32	1	67	
O										
ATOM	1570	N	HIS A 433	3.768	-4.663	-11.178	1.00	38.17		
N										
ANISOU	1570	N	HIS A 433	4911	4926	4663	-24	-11	39	
N										
ATOM	1571	CA	HIS A 433	2.747	-4.869	-10.161	1.00	38.86		
C										
ANISOU	1571	CA	HIS A 433	4958	5015	4789	-27	-2	49	
C										
ATOM	1572	CB	HIS A 433	2.447	-6.358	-10.078	1.00	39.24		
C										
ANISOU	1572	CB	HIS A 433	4992	5068	4847	-27	6	41	
C										
ATOM	1573	CG	HIS A 433	1.480	-6.722	-9.003	1.00	41.29		
C										
ANISOU	1573	CG	HIS A 433	5182	5325	5179	-26	27	73	
C										
ATOM	1574	ND1	HIS A 433	0.117	-6.574	-9.150	1.00	42.44		
N										
ANISOU	1574	ND1	HIS A 433	5238	5453	5433	-68	34	41	
N										
ATOM	1575	CE1	HIS A 433	-0.482	-6.986	-8.046	1.00	42.23		
C										
ANISOU	1575	CE1	HIS A 433	5381	5485	5176	10	-17	-10	
C										
ATOM	1576	NE2	HIS A 433	0.443	-7.399	-7.197	1.00	41.94		
N										
ANISOU	1576	NE2	HIS A 433	5411	5442	5079	-19	12	-1	
N										
ATOM	1577	CD2	HIS A 433	1.678	-7.241	-7.769	1.00	40.89		
C										
ANISOU	1577	CD2	HIS A 433	5136	5376	5025	-8	-29	20	
C										
ATOM	1578	C	HIS A 433	3.279	-4.308	-8.824	1.00	38.60		
C										
ANISOU	1578	C	HIS A 433	4959	4969	4737	-33	8	95	
C										
ATOM	1579	O	HIS A 433	4.392	-4.632	-8.416	1.00	38.55		
O										
ANISOU	1579	O	HIS A 433	4974	5004	4668	-49	-28	116	
O										
ATOM	1580	N	ASN A 434	2.522	-3.420	-8.187	1.00	38.26		
N										
ANISOU	1580	N	ASN A 434	4920	4949	4665	-74	17	108	
N										
ATOM	1581	CA	ASN A 434	2.994	-2.709	-6.994	1.00	38.50		
C										
ANISOU	1581	CA	ASN A 434	4948	4950	4727	-75	13	90	
C										
ATOM	1582	CB	ASN A 434	2.999	-3.639	-5.763	1.00	38.77		
C										
ANISOU	1582	CB	ASN A 434	4941	5054	4733	-120	20	41	
C										
ATOM	1583	CG	ASN A 434	1.631	-4.134	-5.413	1.00	38.47		
C										

ANISOU	1583	CG	ASN	A	434	4913	5088	4614	-105	23	7
C											
ATOM	1584	OD1	ASN	A	434	1.466	-5.285	-5.048	1.00	38.40	
O											
ANISOU	1584	OD1	ASN	A	434	5064	4785	4740	-130	-43	51
O											
ATOM	1585	ND2	ASN	A	434	0.635	-3.275	-5.548	1.00	35.57	
N											
ANISOU	1585	ND2	ASN	A	434	4416	4664	4435	-105	161	-54
N											
ATOM	1586	C	ASN	A	434	4.372	-2.064	-7.143	1.00	38.65	
C											
ANISOU	1586	C	ASN	A	434	4962	4997	4727	-89	12	73
C											
ATOM	1587	O	ASN	A	434	5.092	-1.904	-6.156	1.00	38.37	
O											
ANISOU	1587	O	ASN	A	434	4948	4953	4677	-158	44	68
O											
ATOM	1588	N	HIS	A	435	4.729	-1.721	-8.384	1.00	38.28	
N											
ANISOU	1588	N	HIS	A	435	4930	4968	4646	-59	-13	18
N											
ATOM	1589	CA	HIS	A	435	5.963	-1.016	-8.726	1.00	37.58	
C											
ANISOU	1589	CA	HIS	A	435	4881	4891	4504	-25	5	35
C											
ATOM	1590	CB	HIS	A	435	5.952	0.417	-8.155	1.00	37.74	
C											
ANISOU	1590	CB	HIS	A	435	4898	4903	4537	-23	-29	-1
C											
ATOM	1591	CG	HIS	A	435	4.584	1.032	-8.082	1.00	37.92	
C											
ANISOU	1591	CG	HIS	A	435	4873	4934	4598	-13	14	-80
C											
ATOM	1592	ND1	HIS	A	435	3.749	1.135	-9.174	1.00	37.42	
N											
ANISOU	1592	ND1	HIS	A	435	4902	4856	4459	161	35	-122
N											
ATOM	1593	CE1	HIS	A	435	2.607	1.686	-8.810	1.00	38.63	
C											
ANISOU	1593	CE1	HIS	A	435	4913	4743	5020	62	15	82
C											
ATOM	1594	NE2	HIS	A	435	2.681	1.979	-7.524	1.00	36.99	
N											
ANISOU	1594	NE2	HIS	A	435	4821	4801	4432	32	-57	3
N											
ATOM	1595	CD2	HIS	A	435	3.903	1.573	-7.044	1.00	38.62	
C											
ANISOU	1595	CD2	HIS	A	435	4975	4958	4739	-34	6	-67
C											
ATOM	1596	C	HIS	A	435	7.236	-1.770	-8.330	1.00	37.17	
C											
ANISOU	1596	C	HIS	A	435	4870	4880	4372	-25	31	22
C											
ATOM	1597	O	HIS	A	435	8.273	-1.176	-8.127	1.00	35.86	
O											
ANISOU	1597	O	HIS	A	435	4733	4829	4063	47	22	64
O											
ATOM	1598	N	TYR	A	436	7.153	-3.088	-8.248	1.00	37.91	
N											
ANISOU	1598	N	TYR	A	436	4963	4964	4476	1	14	15
N											
ATOM	1599	CA	TYR	A	436	8.235	-3.873	-7.684	1.00	38.88	

C	ANISOU	1599	CA	TYR	A	436	5029	4992	4751	2	12	-9
C	ATOM	1600	CB	TYR	A	436	8.058	-3.997	-6.158	1.00	38.93	
C	ANISOU	1600	CB	TYR	A	436	5047	4980	4765	8	-25	-6
C	ATOM	1601	CG	TYR	A	436	9.235	-4.641	-5.455	1.00	39.72	
C	ANISOU	1601	CG	TYR	A	436	5116	5014	4959	60	6	-69
C	ATOM	1602	CD1	TYR	A	436	9.202	-5.986	-5.059	1.00	40.15	
C	ANISOU	1602	CD1	TYR	A	436	5192	5178	4884	57	49	35
C	ATOM	1603	CE1	TYR	A	436	10.302	-6.573	-4.438	1.00	39.78	
C	ANISOU	1603	CE1	TYR	A	436	5150	5156	4806	17	-21	78
C	ATOM	1604	CZ	TYR	A	436	11.426	-5.797	-4.193	1.00	40.05	
C	ANISOU	1604	CZ	TYR	A	436	5151	5177	4887	17	10	47
C	ATOM	1605	OH	TYR	A	436	12.530	-6.318	-3.580	1.00	39.84	
O	ANISOU	1605	OH	TYR	A	436	5240	5038	4856	63	-12	9
O	ATOM	1606	CE2	TYR	A	436	11.465	-4.467	-4.566	1.00	40.35	
C	ANISOU	1606	CE2	TYR	A	436	5160	5135	5036	62	-59	13
C	ATOM	1607	CD2	TYR	A	436	10.389	-3.905	-5.195	1.00	40.97	
C	ANISOU	1607	CD2	TYR	A	436	5145	5122	5300	80	3	-58
C	ATOM	1608	C	TYR	A	436	8.303	-5.264	-8.287	1.00	39.02	
C	ANISOU	1608	C	TYR	A	436	5083	5005	4736	-49	-25	-2
C	ATOM	1609	O	TYR	A	436	7.289	-5.871	-8.531	1.00	38.66	
O	ANISOU	1609	O	TYR	A	436	5121	4885	4682	-64	-60	4
O	ATOM	1610	N	THR	A	437	9.514	-5.755	-8.503	1.00	39.50	
N	ANISOU	1610	N	THR	A	437	5159	5021	4828	-10	2	-25
N	ATOM	1611	CA	THR	A	437	9.734	-7.163	-8.753	1.00	40.83	
C	ANISOU	1611	CA	THR	A	437	5264	5167	5080	-30	15	33
C	ATOM	1612	CB	THR	A	437	9.495	-7.556	-10.250	1.00	40.93	
C	ANISOU	1612	CB	THR	A	437	5246	5166	5137	-33	3	-17
C	ATOM	1613	OG1	THR	A	437	9.270	-8.968	-10.336	1.00	41.06	
O	ANISOU	1613	OG1	THR	A	437	5236	5079	5286	15	103	-13
O	ATOM	1614	CG2	THR	A	437	10.665	-7.153	-11.145	1.00	39.50	
C	ANISOU	1614	CG2	THR	A	437	5153	4957	4898	-9	5	-1
C												

ATOM	1615	C	THR	A	437	11.121	-7.579	-8.248	1.00	41.64	
C											
ANISOU	1615	C	THR	A	437	5343	5262	5214	-19	-19	68
C											
ATOM	1616	O	THR	A	437	11.926	-6.731	-7.857	1.00	41.69	
O											
ANISOU	1616	O	THR	A	437	5358	5239	5240	-28	-17	144
O											
ATOM	1617	N	GLN	A	438	11.371	-8.886	-8.250	1.00	42.72	
N											
ANISOU	1617	N	GLN	A	438	5471	5368	5392	-15	17	61
N											
ATOM	1618	CA	GLN	A	438	12.573	-9.499	-7.668	1.00	43.76	
C											
ANISOU	1618	CA	GLN	A	438	5564	5521	5541	0	12	72
C											
ATOM	1619	CB	GLN	A	438	12.260	-10.041	-6.266	1.00	43.80	
C											
ANISOU	1619	CB	GLN	A	438	5570	5515	5557	21	-19	59
C											
ATOM	1620	CG	GLN	A	438	13.471	-10.272	-5.363	1.00	45.09	
C											
ANISOU	1620	CG	GLN	A	438	5780	5691	5659	13	21	68
C											
ATOM	1621	CD	GLN	A	438	13.088	-10.493	-3.894	1.00	44.91	
C											
ANISOU	1621	CD	GLN	A	438	5851	5578	5634	4	82	72
C											
ATOM	1622	OE1	GLN	A	438	12.943	-11.640	-3.453	1.00	46.59	
O											
ANISOU	1622	OE1	GLN	A	438	5980	5851	5871	-13	157	97
O											
ATOM	1623	NE2	GLN	A	438	12.927	-9.394	-3.132	1.00	45.98	
N											
ANISOU	1623	NE2	GLN	A	438	5903	5784	5783	-47	135	46
N											
ATOM	1624	C	GLN	A	438	12.951	-10.641	-8.584	1.00	43.72	
C											
ANISOU	1624	C	GLN	A	438	5579	5440	5593	3	-9	94
C											
ATOM	1625	O	GLN	A	438	12.083	-11.348	-9.079	1.00	43.70	
O											
ANISOU	1625	O	GLN	A	438	5600	5396	5605	-1	-19	100
O											
ATOM	1626	N	LYS	A	439	14.239	-10.788	-8.859	1.00	44.68	
N											
ANISOU	1626	N	LYS	A	439	5693	5568	5715	-2	-26	96
N											
ATOM	1627	CA	LYS	A	439	14.741	-11.933	-9.615	1.00	45.43	
C											
ANISOU	1627	CA	LYS	A	439	5800	5662	5798	-16	-9	70
C											
ATOM	1628	CB	LYS	A	439	15.058	-11.555	-11.064	1.00	45.89	
C											
ANISOU	1628	CB	LYS	A	439	5825	5736	5873	-5	-9	40
C											
ATOM	1629	CG	LYS	A	439	13.856	-11.073	-11.880	1.00	46.21	
C											
ANISOU	1629	CG	LYS	A	439	5900	5781	5874	51	-46	49
C											
ATOM	1630	CD	LYS	A	439	12.907	-12.194	-12.253	1.00	46.24	
C											
ANISOU	1630	CD	LYS	A	439	5775	5776	6016	-18	-95	97

C										
ATOM	1631	CE	LYS	A	439	11.616	-11.657	-12.829	1.00	47.33
C										
ANISOU	1631	CE	LYS	A	439	6039	5979	5962	-62	19 23
C										
ATOM	1632	NZ	LYS	A	439	10.782	-12.775	-13.332	1.00	47.50
N										
ANISOU	1632	NZ	LYS	A	439	6069	6016	5962	-55	-46 41
N										
ATOM	1633	C	LYS	A	439	15.969	-12.490	-8.917	1.00	46.09
C										
ANISOU	1633	C	LYS	A	439	5848	5746	5916	-7	-7 78
C										
ATOM	1634	O	LYS	A	439	16.907	-11.749	-8.596	1.00	46.55
O										
ANISOU	1634	O	LYS	A	439	5959	5751	5975	6	-6 117
O										
ATOM	1635	N	SER	A	440	15.946	-13.796	-8.655	1.00	46.72
N										
ANISOU	1635	N	SER	A	440	5934	5839	5979	-31	-11 81
N										
ATOM	1636	CA	SER	A	440	17.032	-14.454	-7.942	1.00	46.85
C										
ANISOU	1636	CA	SER	A	440	5928	5897	5975	-7	-17 88
C										
ATOM	1637	CB	SER	A	440	16.496	-15.469	-6.913	1.00	47.28
C										
ANISOU	1637	CB	SER	A	440	5941	6005	6016	-9	-20 46
C										
ATOM	1638	OG	SER	A	440	16.183	-14.836	-5.671	1.00	48.78
O										
ANISOU	1638	OG	SER	A	440	6002	6424	6105	-24	17 60
O										
ATOM	1639	C	SER	A	440	17.973	-15.124	-8.918	1.00	46.89
C										
ANISOU	1639	C	SER	A	440	5980	5868	5969	-17	-17 95
C										
ATOM	1640	O	SER	A	440	17.545	-15.633	-9.959	1.00	47.05
O										
ANISOU	1640	O	SER	A	440	6023	5846	6007	-34	-57 109
O										
ATOM	1641	N	LEU	A	441	19.258	-15.097	-8.571	1.00	47.27
N										
ANISOU	1641	N	LEU	A	441	6010	5908	6042	16	-21 93
N										
ATOM	1642	CA	LEU	A	441	20.323	-15.741	-9.329	1.00	47.61
C										
ANISOU	1642	CA	LEU	A	441	6027	5975	6087	14	1 78
C										
ATOM	1643	CB	LEU	A	441	21.264	-14.677	-9.907	1.00	47.64
C										
ANISOU	1643	CB	LEU	A	441	6073	5959	6066	37	7 102
C										
ATOM	1644	CG	LEU	A	441	22.391	-15.101	-10.862	1.00	47.04
C										
ANISOU	1644	CG	LEU	A	441	5967	5906	5997	40	6 66
C										
ATOM	1645	CD1	LEU	A	441	21.849	-15.691	-12.147	1.00	47.09
C										
ANISOU	1645	CD1	LEU	A	441	6088	5875	5927	76	24 60
C										
ATOM	1646	CD2	LEU	A	441	23.266	-13.921	-11.162	1.00	47.11
C										

ANISOU	1646	CD2	LEU	A	441	5985	5891	6020	25	-6	88
C											
ATOM	1647	C	LEU	A	441	21.101	-16.740	-8.437	1.00	48.31	
C											
ANISOU	1647	C	LEU	A	441	6136	6022	6196	33	-7	89
C											
ATOM	1648	O	LEU	A	441	21.434	-16.440	-7.269	1.00	47.92	
O											
ANISOU	1648	O	LEU	A	441	6026	5982	6196	0	-72	71
O											
ATOM	1649	N	SER	A	442	21.366	-17.924	-8.998	1.00	49.31	
N											
ANISOU	1649	N	SER	A	442	6259	6162	6314	38	26	67
N											
ATOM	1650	CA	SER	A	442	22.025	-19.032	-8.263	1.00	50.46	
C											
ANISOU	1650	CA	SER	A	442	6432	6297	6442	43	18	55
C											
ATOM	1651	CB	SER	A	442	20.983	-19.965	-7.635	1.00	50.19	
C											
ANISOU	1651	CB	SER	A	442	6428	6217	6421	34	26	71
C											
ATOM	1652	OG	SER	A	442	20.685	-19.603	-6.297	1.00	50.93	
O											
ANISOU	1652	OG	SER	A	442	6648	6207	6496	55	-43	19
O											
ATOM	1653	C	SER	A	442	22.947	-19.865	-9.145	1.00	51.22	
C											
ANISOU	1653	C	SER	A	442	6514	6433	6515	40	21	51
C											
ATOM	1654	O	SER	A	442	22.689	-20.034	-10.346	1.00	51.69	
O											
ANISOU	1654	O	SER	A	442	6550	6551	6539	26	-4	45
O											
ATOM	1655	N	LEU	A	443	24.012	-20.392	-8.537	1.00	52.28	
N											
ANISOU	1655	N	LEU	A	443	6616	6628	6619	21	5	55
N											
ATOM	1656	CA	LEU	A	443	24.886	-21.388	-9.174	1.00	53.25	
C											
ANISOU	1656	CA	LEU	A	443	6742	6744	6746	33	0	26
C											
ATOM	1657	CB	LEU	A	443	25.940	-21.890	-8.178	1.00	53.57	
C											
ANISOU	1657	CB	LEU	A	443	6795	6808	6748	31	-4	40
C											
ATOM	1658	CG	LEU	A	443	27.061	-22.777	-8.734	1.00	53.94	
C											
ANISOU	1658	CG	LEU	A	443	6821	6927	6747	71	10	64
C											
ATOM	1659	CD1	LEU	A	443	27.662	-22.226	-10.044	1.00	55.71	
C											
ANISOU	1659	CD1	LEU	A	443	7063	7076	7027	-4	40	67
C											
ATOM	1660	CD2	LEU	A	443	28.135	-22.952	-7.702	1.00	55.22	
C											
ANISOU	1660	CD2	LEU	A	443	6963	7124	6892	17	6	-2
C											
ATOM	1661	C	LEU	A	443	24.112	-22.576	-9.771	1.00	53.71	
C											
ANISOU	1661	C	LEU	A	443	6819	6793	6792	4	2	27
C											
ATOM	1662	O	LEU	A	443	23.550	-23.410	-9.032	1.00	53.76	

O										
ANISOU	1662	O	LEU A	443	6815	6847	6764	25	9	84
O										
ATOM	1663	N	SER A	444	24.103	-22.645	-11.106	1.00	54.22	
N										
ANISOU	1663	N	SER A	444	6928	6846	6826	-17	15	25
N										
ATOM	1664	CA	SER A	444	23.320	-23.649	-11.835	1.00	54.89	
C										
ANISOU	1664	CA	SER A	444	6984	6928	6940	-35	12	13
C										
ATOM	1665	CB	SER A	444	23.149	-23.261	-13.303	1.00	54.86	
C										
ANISOU	1665	CB	SER A	444	6962	6941	6939	-49	23	16
C										
ATOM	1666	OG	SER A	444	22.201	-24.103	-13.928	1.00	54.82	
O										
ANISOU	1666	OG	SER A	444	7079	6949	6799	-69	14	-88
O										
ATOM	1667	C	SER A	444	23.919	-25.055	-11.752	1.00	55.51	
C										
ANISOU	1667	C	SER A	444	7024	6992	7072	-18	33	3
C										
ATOM	1668	O	SER A	444	25.131	-25.226	-11.969	1.00	55.87	
O										
ANISOU	1668	O	SER A	444	7048	7066	7112	-44	54	-23
O										
ATOM	1669	N	PRO A	445	23.069	-26.066	-11.448	1.00	55.87	
N										
ANISOU	1669	N	PRO A	445	7077	7024	7123	-21	55	28
N										
ATOM	1670	CA	PRO A	445	23.527	-27.447	-11.334	1.00	56.18	
C										
ANISOU	1670	CA	PRO A	445	7138	7066	7139	-14	43	20
C										
ATOM	1671	CB	PRO A	445	22.634	-28.013	-10.213	1.00	56.09	
C										
ANISOU	1671	CB	PRO A	445	7127	7062	7121	-19	38	43
C										
ATOM	1672	CG	PRO A	445	21.374	-27.115	-10.201	1.00	55.99	
C										
ANISOU	1672	CG	PRO A	445	7107	7028	7136	-18	60	17
C										
ATOM	1673	CD	PRO A	445	21.619	-25.973	-11.182	1.00	55.94	
C										
ANISOU	1673	CD	PRO A	445	7068	7042	7143	-13	32	27
C										
ATOM	1674	C	PRO A	445	23.313	-28.224	-12.636	1.00	56.28	
C										
ANISOU	1674	C	PRO A	445	7162	7119	7100	-20	5	9
C										
ATOM	1675	O	PRO A	445	22.773	-27.671	-13.598	1.00	56.74	
O										
ANISOU	1675	O	PRO A	445	7250	7159	7148	-40	-2	46
O										
ATOM	1676	C1	NAG C	1	23.582	33.784	-6.381	1.00	62.40	
C										
ANISOU	1676	C1	NAG C	1	7883	7954	7870	-44	-8	-30
C										
ATOM	1677	C2	NAG C	1	23.462	33.722	-7.905	1.00	65.49	
C										
ANISOU	1677	C2	NAG C	1	8282	8330	8269	-28	6	-4
C										

ATOM	1678	N2	NAG	C	1	23.093	35.025	-8.441	1.00	66.24	
N											
ANISOU	1678	N2	NAG	C	1	8456	8344	8368	18	29	25
N											
ATOM	1679	C7	NAG	C	1	23.585	35.522	-9.579	1.00	67.45	
C											
ANISOU	1679	C7	NAG	C	1	8530	8535	8561	-1	-2	14
C											
ATOM	1680	O7	NAG	C	1	23.964	34.827	-10.522	1.00	67.51	
O											
ANISOU	1680	O7	NAG	C	1	8538	8539	8571	59	54	-2
O											
ATOM	1681	C8	NAG	C	1	23.648	37.017	-9.676	1.00	66.89	
C											
ANISOU	1681	C8	NAG	C	1	8466	8432	8517	-1	16	31
C											
ATOM	1682	C3	NAG	C	1	22.443	32.665	-8.344	1.00	65.88	
C											
ANISOU	1682	C3	NAG	C	1	8333	8317	8379	-25	6	-44
C											
ATOM	1683	O3	NAG	C	1	22.590	32.483	-9.734	1.00	66.07	
O											
ANISOU	1683	O3	NAG	C	1	8394	8322	8385	-34	33	-29
O											
ATOM	1684	C4	NAG	C	1	22.599	31.331	-7.598	1.00	65.99	
C											
ANISOU	1684	C4	NAG	C	1	8321	8333	8418	5	7	-11
C											
ATOM	1685	O4	NAG	C	1	21.474	30.499	-7.821	1.00	66.44	
O											
ANISOU	1685	O4	NAG	C	1	8287	8408	8547	13	31	9
O											
ATOM	1686	C5	NAG	C	1	22.752	31.577	-6.097	1.00	66.41	
C											
ANISOU	1686	C5	NAG	C	1	8343	8413	8474	-27	15	-25
C											
ATOM	1687	C6	NAG	C	1	22.991	30.280	-5.319	1.00	70.02	
C											
ANISOU	1687	C6	NAG	C	1	8892	8745	8966	21	22	38
C											
ATOM	1688	O6	NAG	C	1	23.519	30.524	-4.020	1.00	73.85	
O											
ANISOU	1688	O6	NAG	C	1	9391	9317	9349	-6	-44	-16
O											
ATOM	1689	O5	NAG	C	1	23.817	32.482	-5.871	1.00	63.94	
O											
ANISOU	1689	O5	NAG	C	1	8161	8050	8084	80	50	57
O											
ATOM	1690	C1	NAG	C	2	21.730	29.460	-8.798	1.00	65.34	
C											
ANISOU	1690	C1	NAG	C	2	8142	8275	8407	44	10	1
C											
ATOM	1691	C2	NAG	C	2	21.096	28.144	-8.338	1.00	65.73	
C											
ANISOU	1691	C2	NAG	C	2	8184	8346	8442	35	-16	-3
C											
ATOM	1692	N2	NAG	C	2	21.683	27.718	-7.084	1.00	64.89	
N											
ANISOU	1692	N2	NAG	C	2	8185	8149	8320	-5	14	-2
N											
ATOM	1693	C7	NAG	C	2	20.978	27.261	-6.059	1.00	63.76	
C											
ANISOU	1693	C7	NAG	C	2	8044	7955	8225	-2	10	-19

C											
ATOM	1694	O7	NAG	C	2	19.755	27.237	-6.045	1.00	64.27	
O											
ANISOU	1694	O7	NAG	C	2	8126	7933	8360	58	-45	-18
O											
ATOM	1695	C8	NAG	C	2	21.759	26.753	-4.886	1.00	63.17	
C											
ANISOU	1695	C8	NAG	C	2	8009	7902	8089	-43	0	-70
C											
ATOM	1696	C3	NAG	C	2	21.272	27.045	-9.384	1.00	66.30	
C											
ANISOU	1696	C3	NAG	C	2	8307	8391	8490	-9	39	-16
C											
ATOM	1697	O3	NAG	C	2	20.552	25.897	-9.004	1.00	66.84	
O											
ANISOU	1697	O3	NAG	C	2	8376	8464	8554	36	21	-17
O											
ATOM	1698	C4	NAG	C	2	20.804	27.518	-10.758	1.00	67.01	
C											
ANISOU	1698	C4	NAG	C	2	8356	8544	8559	11	6	16
C											
ATOM	1699	O4	NAG	C	2	21.178	26.580	-11.745	1.00	68.38	
O											
ANISOU	1699	O4	NAG	C	2	8536	8661	8781	48	1	-50
O											
ATOM	1700	C5	NAG	C	2	21.470	28.857	-11.105	1.00	66.52	
C											
ANISOU	1700	C5	NAG	C	2	8316	8433	8524	47	10	-29
C											
ATOM	1701	C6	NAG	C	2	20.959	29.383	-12.447	1.00	65.54	
C											
ANISOU	1701	C6	NAG	C	2	8421	8024	8454	24	13	40
C											
ATOM	1702	O6	NAG	C	2	20.896	30.794	-12.448	1.00	66.76	
O											
ANISOU	1702	O6	NAG	C	2	8300	8669	8396	-35	74	-46
O											
ATOM	1703	O5	NAG	C	2	21.262	29.813	-10.083	1.00	65.04	
O											
ANISOU	1703	O5	NAG	C	2	8097	8260	8355	41	32	14
O											
ATOM	1704	C1	BMA	C	3	20.170	25.602	-12.036	1.00	69.16	
C											
ANISOU	1704	C1	BMA	C	3	8600	8769	8908	4	18	7
C											
ATOM	1705	C2	BMA	C	3	20.218	25.313	-13.529	1.00	70.30	
C											
ANISOU	1705	C2	BMA	C	3	8850	8920	8938	19	27	-8
C											
ATOM	1706	O2	BMA	C	3	21.569	24.990	-13.866	1.00	70.44	
O											
ANISOU	1706	O2	BMA	C	3	8922	8873	8967	-10	1	-5
O											
ATOM	1707	C3	BMA	C	3	19.301	24.146	-13.887	1.00	71.64	
C											
ANISOU	1707	C3	BMA	C	3	8983	9046	9190	8	23	33
C											
ATOM	1708	O3	BMA	C	3	19.431	23.763	-15.259	1.00	75.50	
O											
ANISOU	1708	O3	BMA	C	3	9547	9570	9568	-21	91	-86
O											
ATOM	1709	C4	BMA	C	3	19.635	22.931	-13.035	1.00	69.90	
C											

ANISOU	1709	C4	BMA	C	3	8765	8895	8898	29	63	-28
C											
ATOM	1710	O4	BMA	C	3	18.694	21.909	-13.353	1.00	69.61	
O											
ANISOU	1710	O4	BMA	C	3	8791	8790	8869	-4	63	40
O											
ATOM	1711	C5	BMA	C	3	19.565	23.304	-11.562	1.00	68.25	
C											
ANISOU	1711	C5	BMA	C	3	8529	8638	8763	43	25	26
C											
ATOM	1712	C6	BMA	C	3	19.992	22.163	-10.656	1.00	66.92	
C											
ANISOU	1712	C6	BMA	C	3	8364	8482	8579	9	30	-59
C											
ATOM	1713	O6	BMA	C	3	20.187	22.675	-9.336	1.00	64.81	
O											
ANISOU	1713	O6	BMA	C	3	8159	8199	8264	28	-14	-16
O											
ATOM	1714	O5	BMA	C	3	20.426	24.412	-11.292	1.00	68.53	
O											
ANISOU	1714	O5	BMA	C	3	8472	8748	8818	3	-2	14
O											
ATOM	1715	C1	MAN	C	4	18.485	24.451	-16.100	1.00	80.48	
C											
ANISOU	1715	C1	MAN	C	4	10175	10231	10170	54	-11	39
C											
ATOM	1716	C2	MAN	C	4	17.857	23.471	-17.095	1.00	83.30	
C											
ANISOU	1716	C2	MAN	C	4	10595	10536	10515	-34	3	-45
C											
ATOM	1717	O2	MAN	C	4	16.758	24.059	-17.785	1.00	86.66	
O											
ANISOU	1717	O2	MAN	C	4	10987	10961	10976	56	-72	11
O											
ATOM	1718	C3	MAN	C	4	18.909	22.950	-18.097	1.00	83.53	
C											
ANISOU	1718	C3	MAN	C	4	10571	10594	10570	-3	-6	-16
C											
ATOM	1719	O3	MAN	C	4	18.291	22.361	-19.225	1.00	83.93	
O											
ANISOU	1719	O3	MAN	C	4	10617	10659	10610	21	0	-35
O											
ATOM	1720	C4	MAN	C	4	19.916	24.011	-18.569	1.00	83.25	
C											
ANISOU	1720	C4	MAN	C	4	10531	10556	10544	0	21	-13
C											
ATOM	1721	O4	MAN	C	4	21.086	23.342	-18.983	1.00	82.77	
O											
ANISOU	1721	O4	MAN	C	4	10525	10482	10441	-7	36	-14
O											
ATOM	1722	C5	MAN	C	4	20.281	25.007	-17.461	1.00	82.93	
C											
ANISOU	1722	C5	MAN	C	4	10477	10508	10524	23	16	-3
C											
ATOM	1723	C6	MAN	C	4	21.110	26.187	-17.945	1.00	82.33	
C											
ANISOU	1723	C6	MAN	C	4	10560	10453	10268	-61	-54	-113
C											
ATOM	1724	O6	MAN	C	4	21.526	26.916	-16.808	1.00	84.80	
O											
ANISOU	1724	O6	MAN	C	4	10612	10772	10835	71	57	111
O											
ATOM	1725	O5	MAN	C	4	19.111	25.485	-16.823	1.00	81.69	

O											
ANISOU	1725	O5	MAN	C	4	10367	10342	10328	-38	18	6
O											
ATOM	1726	C1	NAG	C	5	15.457	23.728	-17.226	1.00	89.09	
C											
ANISOU	1726	C1	NAG	C	5	11237	11320	11293	-16	29	-14
C											
ATOM	1727	C2	NAG	C	5	14.333	24.200	-18.167	1.00	90.32	
C											
ANISOU	1727	C2	NAG	C	5	11439	11436	11441	8	-17	15
C											
ATOM	1728	N2	NAG	C	5	13.146	24.596	-17.413	1.00	90.36	
N											
ANISOU	1728	N2	NAG	C	5	11463	11426	11444	5	8	-13
N											
ATOM	1729	C7	NAG	C	5	12.233	25.470	-17.860	1.00	91.03	
C											
ANISOU	1729	C7	NAG	C	5	11565	11585	11434	-4	21	-26
C											
ATOM	1730	O7	NAG	C	5	12.477	26.652	-18.106	1.00	90.45	
O											
ANISOU	1730	O7	NAG	C	5	11527	11441	11396	-12	27	-5
O											
ATOM	1731	C8	NAG	C	5	10.835	24.956	-18.055	1.00	90.77	
C											
ANISOU	1731	C8	NAG	C	5	11519	11492	11476	-12	-1	-20
C											
ATOM	1732	C3	NAG	C	5	13.944	23.170	-19.237	1.00	91.25	
C											
ANISOU	1732	C3	NAG	C	5	11585	11552	11533	1	-6	-9
C											
ATOM	1733	O3	NAG	C	5	14.135	23.730	-20.517	1.00	91.88	
O											
ANISOU	1733	O3	NAG	C	5	11692	11628	11590	-8	8	-1
O											
ATOM	1734	C4	NAG	C	5	14.713	21.851	-19.167	1.00	91.47	
C											
ANISOU	1734	C4	NAG	C	5	11616	11584	11554	13	-11	-4
C											
ATOM	1735	O4	NAG	C	5	13.982	20.876	-19.882	1.00	91.95	
O											
ANISOU	1735	O4	NAG	C	5	11633	11671	11632	-13	-47	-33
O											
ATOM	1736	C5	NAG	C	5	14.961	21.352	-17.736	1.00	91.25	
C											
ANISOU	1736	C5	NAG	C	5	11588	11546	11537	9	-15	-10
C											
ATOM	1737	C6	NAG	C	5	16.052	20.276	-17.726	1.00	92.24	
C											
ANISOU	1737	C6	NAG	C	5	11575	11579	11891	0	-46	-137
C											
ATOM	1738	O6	NAG	C	5	16.007	19.560	-16.510	1.00	90.72	
O											
ANISOU	1738	O6	NAG	C	5	11735	11388	11344	-24	-54	91
O											
ATOM	1739	O5	NAG	C	5	15.297	22.377	-16.797	1.00	90.15	
O											
ANISOU	1739	O5	NAG	C	5	11430	11414	11406	5	-15	26
O											
ATOM	1740	C1	MAN	C	7	20.272	21.548	-8.453	1.00	64.56	
C											
ANISOU	1740	C1	MAN	C	7	8141	8188	8199	-9	-4	-47
C											

ATOM	1741	C2	MAN	C	7	19.819	21.886	-7.041	1.00	64.34	
C											
ANISOU	1741	C2	MAN	C	7	8131	8140	8175	3	1	-13
C											
ATOM	1742	O2	MAN	C	7	19.851	20.689	-6.290	1.00	64.37	
O											
ANISOU	1742	O2	MAN	C	7	8170	8136	8152	13	14	-72
O											
ATOM	1743	C3	MAN	C	7	20.773	22.900	-6.390	1.00	64.46	
C											
ANISOU	1743	C3	MAN	C	7	8127	8187	8177	-25	13	-19
C											
ATOM	1744	O3	MAN	C	7	20.410	23.129	-5.037	1.00	63.53	
O											
ANISOU	1744	O3	MAN	C	7	7975	8057	8105	-67	-15	-101
O											
ATOM	1745	C4	MAN	C	7	22.239	22.434	-6.476	1.00	64.50	
C											
ANISOU	1745	C4	MAN	C	7	8179	8148	8180	7	13	-40
C											
ATOM	1746	O4	MAN	C	7	23.132	23.509	-6.221	1.00	64.35	
O											
ANISOU	1746	O4	MAN	C	7	8206	8105	8139	46	-5	-78
O											
ATOM	1747	C5	MAN	C	7	22.602	21.790	-7.827	1.00	64.16	
C											
ANISOU	1747	C5	MAN	C	7	8159	8123	8096	-6	0	-11
C											
ATOM	1748	C6	MAN	C	7	23.842	20.915	-7.667	1.00	63.34	
C											
ANISOU	1748	C6	MAN	C	7	7929	7985	8151	-24	-13	57
C											
ATOM	1749	O6	MAN	C	7	24.053	20.180	-8.846	1.00	61.06	
O											
ANISOU	1749	O6	MAN	C	7	7751	7711	7737	40	-16	-78
O											
ATOM	1750	O5	MAN	C	7	21.565	20.982	-8.380	1.00	64.42	
O											
ANISOU	1750	O5	MAN	C	7	8221	8144	8112	-36	17	-13
O											
ATOM	1751	C1	NAG	C	8	18.593	20.003	-6.270	1.00	63.46	
C											
ANISOU	1751	C1	NAG	C	8	8070	8012	8030	-5	-1	-34
C											
ATOM	1752	C2	NAG	C	8	18.856	18.592	-5.766	1.00	64.09	
C											
ANISOU	1752	C2	NAG	C	8	8169	8111	8072	-6	-10	14
C											
ATOM	1753	N2	NAG	C	8	19.889	17.946	-6.563	1.00	63.96	
N											
ANISOU	1753	N2	NAG	C	8	8038	8176	8088	48	-11	12
N											
ATOM	1754	C7	NAG	C	8	21.157	17.831	-6.142	1.00	67.85	
C											
ANISOU	1754	C7	NAG	C	8	8475	8217	9086	-90	51	262
C											
ATOM	1755	O7	NAG	C	8	21.540	18.162	-5.017	1.00	63.54	
O											
ANISOU	1755	O7	NAG	C	8	8084	8252	7806	-67	-148	-118
O											
ATOM	1756	C8	NAG	C	8	22.133	17.253	-7.129	1.00	63.31	
C											
ANISOU	1756	C8	NAG	C	8	8014	8140	7899	131	171	-31

C											
ATOM	1757	C3	NAG	C	8	17.561	17.785	-5.725	1.00	63.80	
C											
ANISOU	1757	C3	NAG	C	8	8109	8055	8075	0	-8	-41
C											
ATOM	1758	O3	NAG	C	8	17.802	16.564	-5.040	1.00	64.18	
O											
ANISOU	1758	O3	NAG	C	8	8158	8167	8059	20	-18	-53
O											
ATOM	1759	C4	NAG	C	8	16.450	18.562	-4.999	1.00	62.99	
C											
ANISOU	1759	C4	NAG	C	8	8022	7934	7977	24	-38	-22
C											
ATOM	1760	O4	NAG	C	8	15.194	17.950	-5.229	1.00	63.13	
O											
ANISOU	1760	O4	NAG	C	8	8044	7901	8038	54	-37	-48
O											
ATOM	1761	C5	NAG	C	8	16.391	20.062	-5.340	1.00	62.31	
C											
ANISOU	1761	C5	NAG	C	8	7922	7895	7856	3	2	-21
C											
ATOM	1762	C6	NAG	C	8	15.637	20.861	-4.271	1.00	61.45	
C											
ANISOU	1762	C6	NAG	C	8	7823	7770	7755	-29	-23	-11
C											
ATOM	1763	O6	NAG	C	8	16.235	20.685	-2.999	1.00	59.23	
O											
ANISOU	1763	O6	NAG	C	8	7510	7497	7498	24	71	-106
O											
ATOM	1764	O5	NAG	C	8	17.675	20.637	-5.415	1.00	62.28	
O											
ANISOU	1764	O5	NAG	C	8	7944	7849	7870	-26	-26	4
O											
ATOM	1765	C1	GAL	C	9	14.603	17.561	-3.972	1.00	62.63	
C											
ANISOU	1765	C1	GAL	C	9	7968	7907	7920	-3	-4	-28
C											
ATOM	1766	C2	GAL	C	9	13.290	16.787	-4.178	1.00	62.38	
C											
ANISOU	1766	C2	GAL	C	9	7981	7842	7878	19	-5	-33
C											
ATOM	1767	O2	GAL	C	9	12.274	17.622	-4.709	1.00	60.03	
O											
ANISOU	1767	O2	GAL	C	9	7846	7411	7550	-14	6	-131
O											
ATOM	1768	C3	GAL	C	9	12.818	16.148	-2.860	1.00	62.73	
C											
ANISOU	1768	C3	GAL	C	9	8016	7945	7872	38	8	-36
C											
ATOM	1769	O3	GAL	C	9	11.849	15.158	-3.102	1.00	62.97	
O											
ANISOU	1769	O3	GAL	C	9	7994	7990	7941	-25	39	8
O											
ATOM	1770	C4	GAL	C	9	13.958	15.500	-2.082	1.00	63.15	
C											
ANISOU	1770	C4	GAL	C	9	8053	7994	7944	4	6	44
C											
ATOM	1771	O4	GAL	C	9	14.499	14.420	-2.818	1.00	61.84	
O											
ANISOU	1771	O4	GAL	C	9	7873	7903	7720	12	9	65
O											
ATOM	1772	C5	GAL	C	9	15.022	16.559	-1.867	1.00	63.69	
C											

270 / 279

ANISOU	1772	C5	GAL	C	9	8052	8039	8108	-2	-14	28
C											
ATOM	1773	C6	GAL	C	9	16.117	16.112	-0.903	1.00	64.97	
C											
ANISOU	1773	C6	GAL	C	9	8268	8195	8220	44	-44	59
C											
ATOM	1774	O6	GAL	C	9	17.286	16.891	-1.077	1.00	65.24	
O											
ANISOU	1774	O6	GAL	C	9	8290	8153	8345	-73	-89	82
O											
ATOM	1775	O5	GAL	C	9	15.525	16.843	-3.157	1.00	64.20	
O											
ANISOU	1775	O5	GAL	C	9	8132	8127	8132	15	-28	-36
O											
ATOM	1776	C1	FUC	C	11	24.736	29.847	-3.954	1.00	77.44	
C											
ANISOU	1776	C1	FUC	C	11	9759	9799	9837	29	-9	1
C											
ATOM	1777	C2	FUC	C	11	26.080	30.499	-4.293	1.00	78.54	
C											
ANISOU	1777	C2	FUC	C	11	9883	9910	10014	-7	4	2
C											
ATOM	1778	O2	FUC	C	11	26.808	30.755	-3.112	1.00	79.77	
O											
ANISOU	1778	O2	FUC	C	11	9917	10007	10050	72	-20	-34
O											
ATOM	1779	C3	FUC	C	11	26.977	29.696	-5.231	1.00	78.25	
C											
ANISOU	1779	C3	FUC	C	11	9972	9993	10072	-6	44	-18
C											
ATOM	1780	O3	FUC	C	11	26.852	30.264	-6.510	1.00	79.46	
O											
ANISOU	1780	O3	FUC	C	11	10023	10064	10081	-17	58	20
O											
ATOM	1781	C4	FUC	C	11	26.769	28.174	-5.286	1.00	77.45	
C											
ANISOU	1781	C4	FUC	C	11	10020	10011	10048	-23	33	-20
C											
ATOM	1782	O4	FUC	C	11	26.880	27.703	-6.627	1.00	78.56	
O											
ANISOU	1782	O4	FUC	C	11	10076	9967	9991	-28	42	-26
O											
ATOM	1783	C5	FUC	C	11	25.463	27.641	-4.693	1.00	77.17	
C											
ANISOU	1783	C5	FUC	C	11	10016	10033	10124	13	23	-2
C											
ATOM	1784	C6	FUC	C	11	24.460	27.240	-5.783	1.00	78.48	
C											
ANISOU	1784	C6	FUC	C	11	10059	9937	10067	0	46	-62
C											
ATOM	1785	O5	FUC	C	11	24.873	28.467	-3.681	1.00	79.38	
O											
ANISOU	1785	O5	FUC	C	11	9928	9876	10085	-4	13	-44
O											
ATOM	1786	ZN	ZN	I	1	1.011	2.625	-6.522	1.00	37.90	
ZN											
ANISOU	1786	ZN	ZN	I	1	5916	5645	2837	-109	-134	-300
ZN											
ATOM	1787	ZN	ZN	I	2	-2.850	29.288	0.411	1.00	66.11	
ZN											
ANISOU	1787	ZN	ZN	I	2	8310	7792	9014	476	23	-269
ZN											
ATOM	1788	ZN	ZN	I	3	0.081	21.125	-18.851	0.50	60.89	

ZN										
ANISOU	1788	ZN	ZN	I	3	7926	7551	7656	24	-73 15
ZN										
ATOM	1789	ZN	ZN	I	4	4.094	-7.924	-14.198	0.50	63.49
ZN										
ANISOU	1789	ZN	ZN	I	4	7915	7950	8259	-54	190 -25
ZN										
ATOM	1790	OW	HOH	W	1	-2.686	-4.705	-7.680	1.00	51.42
O										
ANISOU	1790	OW	HOH	W	1	6584	6695	6258	169	-102 48
O										
ATOM	1791	OW	HOH	W	2	15.326	7.920	-11.915	1.00	41.62
O										
ANISOU	1791	OW	HOH	W	2	5180	5671	4961	-35	-220 -272
O										
ATOM	1792	OW	HOH	W	3	11.705	21.084	-15.919	1.00	53.41
O										
ANISOU	1792	OW	HOH	W	3	6696	6842	6755	76	-83 53
O										
ATOM	1793	OW	HOH	W	4	4.028	8.613	-6.717	1.00	24.34
O										
ANISOU	1793	OW	HOH	W	4	3616	2379	3251	0	-336 632
O										
ATOM	1794	OW	HOH	W	5	4.904	7.310	-3.564	1.00	23.00
O										
ANISOU	1794	OW	HOH	W	5	3808	3315	1615	-69	307 -476
O										
ATOM	1795	OW	HOH	W	6	2.707	2.220	-14.972	1.00	23.50
O										
ANISOU	1795	OW	HOH	W	6	3794	2827	2306	91	-630 374
O										
ATOM	1796	OW	HOH	W	7	0.086	8.821	-15.891	1.00	13.87
O										
ANISOU	1796	OW	HOH	W	7	2598	1403	1268	195	51 -373
O										
ATOM	1797	OW	HOH	W	8	23.163	6.265	-13.153	1.00	41.03
O										
ANISOU	1797	OW	HOH	W	8	5402	4550	5636	147	229 45
O										
ATOM	1798	OW	HOH	W	9	20.619	3.699	-13.114	1.00	23.85
O										
ANISOU	1798	OW	HOH	W	9	3742	2526	2794	-240	-69 -539
O										
ATOM	1799	OW	HOH	W	10	-2.466	-6.638	-5.878	1.00	44.21
O										
ANISOU	1799	OW	HOH	W	10	5803	5719	5275	-213	103 100
O										
ATOM	1800	OW	HOH	W	11	12.642	-1.804	-2.353	1.00	63.47
O										
ANISOU	1800	OW	HOH	W	11	8214	7905	7995	-35	-45 -9
O										
ATOM	1801	OW	HOH	W	12	22.639	6.534	-20.972	1.00	33.47
O										
ANISOU	1801	OW	HOH	W	12	3867	4337	4510	-144	129 -236
O										
ATOM	1802	OW	HOH	W	13	21.422	1.104	-8.987	1.00	24.16
O										
ANISOU	1802	OW	HOH	W	13	3539	3414	2226	-145	221 76
O										
ATOM	1803	OW	HOH	W	14	8.879	4.061	-13.080	1.00	24.97
O										
ANISOU	1803	OW	HOH	W	14	3170	3239	3075	162	-18 -220
O										

ATOM	1804	OW	HOH	W	15	11.288	6.795	-26.054	1.00	45.90
O										
ANISOU	1804	OW	HOH	W	15	5829	5389	6220	-13	40 27
O										
ATOM	1805	OW	HOH	W	16	14.749	-1.980	-24.051	1.00	16.53
O										
ANISOU	1805	OW	HOH	W	16	3271	2274	735	26	224 -273
O										
ATOM	1806	OW	HOH	W	17	-0.444	6.851	-20.367	1.00	17.75
O										
ANISOU	1806	OW	HOH	W	17	2576	1988	2179	732	234 28
O										
ATOM	1807	OW	HOH	W	18	2.245	11.930	-0.120	1.00	32.42
O										
ANISOU	1807	OW	HOH	W	18	4359	4213	3746	-160	29 -125
O										
ATOM	1808	OW	HOH	W	19	5.162	7.718	-18.328	1.00	25.83
O										
ANISOU	1808	OW	HOH	W	19	3497	3439	2878	96	-375 -584
O										
ATOM	1809	OW	HOH	W	20	0.796	0.967	-5.140	1.00	21.38
O										
ANISOU	1809	OW	HOH	W	20	3124	2654	2344	142	186 -165
O										
ATOM	1810	OW	HOH	W	21	-2.715	28.725	2.415	1.00	36.34
O										
ANISOU	1810	OW	HOH	W	21	4766	4654	4387	-175	10 163
O										
ATOM	1811	OW	HOH	W	22	30.225	-4.400	-9.331	1.00	25.40
O										
ANISOU	1811	OW	HOH	W	22	3794	3473	2383	-207	171 921
O										
ATOM	1812	OW	HOH	W	23	7.961	6.779	-13.116	1.00	20.66
O										
ANISOU	1812	OW	HOH	W	23	2905	2729	2214	-3	224 -281
O										
ATOM	1813	OW	HOH	W	24	7.734	8.056	-10.907	1.00	11.86
O										
ANISOU	1813	OW	HOH	W	24	2940	1037	527	120	-14 -462
O										
ATOM	1814	OW	HOH	W	25	-0.824	-8.657	-5.241	1.00	50.76
O										
ANISOU	1814	OW	HOH	W	25	6516	6602	6166	-193	254 42
O										
ATOM	1815	OW	HOH	W	26	-5.085	12.307	-13.493	1.00	33.94
O										
ANISOU	1815	OW	HOH	W	26	4426	4303	4165	0	-23 -112
O										
ATOM	1816	OW	HOH	W	27	21.117	-3.680	-2.105	1.00	36.56
O										
ANISOU	1816	OW	HOH	W	27	4582	4997	4310	-135	5 141
O										
ATOM	1817	OW	HOH	W	28	26.199	1.780	-6.259	1.00	42.44
O										
ANISOU	1817	OW	HOH	W	28	5350	5564	5209	-205	54 -69
O										
ATOM	1818	OW	HOH	W	29	25.352	2.736	-9.492	1.00	26.64
O										
ANISOU	1818	OW	HOH	W	29	2921	3682	3517	-164	-195 80
O										
ATOM	1819	OW	HOH	W	30	2.621	13.373	-12.530	1.00	27.62
O										
ANISOU	1819	OW	HOH	W	30	3212	3716	3565	-15	69 381

O										
ATOM	1820	OW	HOH	W	31	1.676	-5.459	-13.242	1.00	40.05
O										
ANISOU	1820	OW	HOH	W	31	5122	5075	5018	-150	-104 -138
O										
ATOM	1821	OW	HOH	W	32	5.616	-7.649	-12.054	1.00	25.11
O										
ANISOU	1821	OW	HOH	W	32	3700	2636	3203	249	375 178
O										
ATOM	1822	OW	HOH	W	33	0.073	12.268	-18.854	0.50	29.68
O										
ANISOU	1822	OW	HOH	W	33	4084	3873	3317	5	87 -2
O										
ATOM	1823	OW	HOH	W	34	-0.277	3.231	-8.278	1.00	36.13
O										
ANISOU	1823	OW	HOH	W	34	4577	4672	4477	-7	-155 -157
O										
ATOM	1824	OW	HOH	W	35	19.204	7.619	-19.539	1.00	41.16
O										
ANISOU	1824	OW	HOH	W	35	5228	5167	5241	76	175 -195
O										
ATOM	1825	OW	HOH	W	36	21.318	8.586	-18.968	1.00	51.27
O										
ANISOU	1825	OW	HOH	W	36	6874	6589	6015	-17	-36 -19
O										
ATOM	1826	OW	HOH	W	37	20.898	9.827	-16.899	1.00	40.21
O										
ANISOU	1826	OW	HOH	W	37	5588	4786	4901	-99	37 53
O										
ATOM	1827	OW	HOH	W	38	19.991	12.076	-17.304	1.00	40.03
O										
ANISOU	1827	OW	HOH	W	38	5127	5018	5064	-96	287 75
O										
ATOM	1828	OW	HOH	W	39	22.786	6.524	-23.584	1.00	29.46
O										
ANISOU	1828	OW	HOH	W	39	4105	3167	3919	-272	63 -315
O										
ATOM	1829	OW	HOH	W	40	12.659	7.843	-28.830	1.00	40.36
O										
ANISOU	1829	OW	HOH	W	40	5338	4722	5272	-206	-20 69
O										
ATOM	1830	OW	HOH	W	41	12.960	24.065	-13.045	1.00	46.62
O										
ANISOU	1830	OW	HOH	W	41	5904	6077	5733	92	33 -161
O										
ATOM	1831	OW	HOH	W	42	11.135	11.754	-10.185	1.00	30.37
O										
ANISOU	1831	OW	HOH	W	42	4271	4163	3103	204	-349 187
O										
ATOM	1832	OW	HOH	W	43	13.202	12.031	-11.515	1.00	36.35
O										
ANISOU	1832	OW	HOH	W	43	4845	3955	5010	28	-111 -34
O										
ATOM	1833	OW	HOH	W	44	10.537	13.629	-2.714	1.00	36.03
O										
ANISOU	1833	OW	HOH	W	44	4892	4473	4324	-219	-62 -316
O										
ATOM	1834	OW	HOH	W	45	13.983	-0.137	1.252	0.50	26.99
O										
ANISOU	1834	OW	HOH	W	45	3481	3502	3270	-79	-42 -87
O										
ATOM	1835	OW	HOH	W	46	13.547	11.524	0.333	1.00	50.26
O										

ANISOU	1835	OW	HOH	W	46	6295	6703	6097	45	-125	13
O											
ATOM	1836	OW	HOH	W	47	-3.193	30.208	-1.659	1.00	52.68	
O											
ANISOU	1836	OW	HOH	W	47	6778	6676	6562	-56	51	-22
O											
ATOM	1837	OW	HOH	W	48	2.590	0.640	-3.975	1.00	38.51	
O											
ANISOU	1837	OW	HOH	W	48	4885	5274	4470	286	140	-394
O											
ATOM	1838	OW	HOH	W	49	-4.829	10.389	-8.743	1.00	30.98	
O											
ANISOU	1838	OW	HOH	W	49	4328	4157	3286	-6	85	54
O											
ATOM	1839	OW	HOH	W	50	-5.682	15.166	-5.147	1.00	62.12	
O											
ANISOU	1839	OW	HOH	W	50	7854	7808	7937	93	-68	-65
O											
ATOM	1840	OW	HOH	W	51	9.256	11.495	-13.968	1.00	24.43	
O											
ANISOU	1840	OW	HOH	W	51	3144	3093	3042	17	-92	-182
O											
ATOM	1841	OW	HOH	W	52	10.348	13.858	-13.762	1.00	31.05	
O											
ANISOU	1841	OW	HOH	W	52	3599	3978	4219	-257	-125	70
O											
ATOM	1842	OW	HOH	W	53	1.049	14.118	-17.122	1.00	31.08	
O											
ANISOU	1842	OW	HOH	W	53	3973	4342	3492	-11	-363	-196
O											
ATOM	1843	OW	HOH	W	54	1.515	10.299	-19.955	1.00	35.99	
O											
ANISOU	1843	OW	HOH	W	54	4519	4385	4770	160	52	168
O											
ATOM	1844	OW	HOH	W	55	2.150	9.713	-17.242	1.00	38.39	
O											
ANISOU	1844	OW	HOH	W	55	4625	5500	4461	81	-84	35
O											
ATOM	1845	OW	HOH	W	56	3.020	6.247	-17.374	1.00	18.01	
O											
ANISOU	1845	OW	HOH	W	56	3197	2872	774	149	-339	-801
O											
ATOM	1846	OW	HOH	W	57	7.330	25.213	-16.752	1.00	49.75	
O											
ANISOU	1846	OW	HOH	W	57	6292	6287	6321	-124	-65	56
O											
ATOM	1847	OW	HOH	W	58	6.140	4.420	-24.421	1.00	31.76	
O											
ANISOU	1847	OW	HOH	W	58	4147	4290	3628	107	5	22
O											
ATOM	1848	OW	HOH	W	59	6.934	6.415	-25.965	1.00	48.06	
O											
ANISOU	1848	OW	HOH	W	59	6126	6215	5917	104	-184	125
O											
ATOM	1849	OW	HOH	W	60	2.789	-10.262	-14.281	1.00	52.27	
O											
ANISOU	1849	OW	HOH	W	60	6829	6640	6389	-85	61	-132
O											
ATOM	1850	OW	HOH	W	61	10.173	-11.474	-17.131	1.00	43.89	
O											
ANISOU	1850	OW	HOH	W	61	5243	5991	5441	-19	145	-51
O											
ATOM	1851	OW	HOH	W	62	10.423	-9.588	-15.301	1.00	41.60	

O											
ANISOU	1851	OW	HOH	W	62	4910	5490	5403	-299	-111	149
O											
ATOM	1852	OW	HOH	W	63	12.562	10.469	-16.760	1.00	47.26	
O											
ANISOU	1852	OW	HOH	W	63	6061	6168	5726	54	-119	90
O											
ATOM	1853	OW	HOH	W	64	25.207	4.876	-13.048	1.00	43.98	
O											
ANISOU	1853	OW	HOH	W	64	5382	5861	5465	4	11	-150
O											
ATOM	1854	OW	HOH	W	65	20.403	6.945	-24.246	1.00	31.68	
O											
ANISOU	1854	OW	HOH	W	65	4456	4465	3114	-263	-194	-229
O											
ATOM	1855	OW	HOH	W	66	16.219	5.833	-30.699	1.00	53.61	
O											
ANISOU	1855	OW	HOH	W	66	6744	6870	6754	-31	-25	-174
O											
ATOM	1856	OW	HOH	W	67	15.439	-3.579	-28.825	1.00	50.26	
O											
ANISOU	1856	OW	HOH	W	67	6356	6649	6091	19	-89	-6
O											
ATOM	1857	OW	HOH	W	68	0.448	-2.007	-9.703	1.00	47.76	
O											
ANISOU	1857	OW	HOH	W	68	5769	6029	6348	-118	-41	33
O											
ATOM	1858	OW	HOH	W	69	9.088	10.333	-11.458	1.00	45.89	
O											
ANISOU	1858	OW	HOH	W	69	5637	5868	5931	55	174	101
O											
ATOM	1859	OW	HOH	W	70	2.301	8.833	3.077	1.00	41.79	
O											
ANISOU	1859	OW	HOH	W	70	5409	5255	5212	66	-371	-158
O											
ATOM	1860	OW	HOH	W	71	19.184	33.621	-4.885	1.00	59.40	
O											
ANISOU	1860	OW	HOH	W	71	7601	7341	7625	-69	-45	-52
O											
ATOM	1861	OW	HOH	W	72	11.411	47.589	-7.153	1.00	50.72	
O											
ANISOU	1861	OW	HOH	W	72	6739	6215	6314	-100	-123	-98
O											
ATOM	1862	OW	HOH	W	73	-2.721	22.353	-19.060	1.00	50.88	
O											
ANISOU	1862	OW	HOH	W	73	6801	6612	5916	38	18	-78
O											
ATOM	1863	OW	HOH	W	74	-2.520	30.795	-12.887	1.00	44.98	
O											
ANISOU	1863	OW	HOH	W	74	5923	5326	5838	-14	57	136
O											
ATOM	1864	OW	HOH	W	75	35.811	-10.347	-12.530	1.00	32.21	
O											
ANISOU	1864	OW	HOH	W	75	4854	4402	2979	196	130	6
O											

END

[00473] Conclusão: Observou-se que a estrutura tridimensional de Fc/TM é muito similar àquela de outras regiões Fc humanas não ligadas não

mutadas. Os efeitos consideráveis que variam amplamente do conjunto TM de substituições não foram causados por rearranjos estruturais principais na estrutura Fc, mas de preferência pela perda localizada de algumas interações nos sítios de mutação.

6.34 Exemplo 34: Internalização de anticorpos anti-IFNAR1

[00474] Propósito: Investigar a capacidade de anticorpos anti-IFNAR1 internalizarem em células.

[00475] Métodos: Células THP-I foram cultivadas em meio RPMI-1640 contendo 2-mercaptoetanol 0,05 mM e 10 % de soro bovino fetal a 37 °C em incubadora de CO₂ a 5 %. As células THP-I foram semeadas em 2 x 10⁵ células/mL em meios de crescimento fresco um dia antes dos experimentos. No dia do experimento, as células foram lavadas, contadas e ressuspensas em PBS a 3 x 10⁶ células/mL. As células foram coradas com CFSE 1 µM a 37 °C em incubadora de CO₂ por 10 minutos. Após duas lavagens adicionais com PBS, as células foram colocadas no gelo e incubadas com bloco de FcR usando 20 µL por 10⁶ células em gelo por 5 minutos e então coradas com 1 µg/mL de Alexa647-9D4-TM ou Alexa 647-R347 (anticorpo controle não específico) no gelo por 1 hora. Após a remoção de mAb não ligado por 3 lavagens com PBS, as células foram ressuspensas em PBS contendo BSA 2 % e azida sódica. A internalização iniciou transferindo as células em uma câmara com ambiente controlado a 37 °C, 5 % de CO₂ e 70 % de umidade e a internalização cinética de Alexa647-9D4-TM foi recuperada com o tempo por formação de imagem da fluorescência das células.

[00476] As imagens fluorescentes das células foram analisadas usando um algoritmo. O algoritmo usou corante citossólico CFSE para identificar o limite de uma célula e uma região de membrana. O algoritmo quantificou o 9D4-TM associado á fluorescência dentro das células, bem como na membrana. A taxa de fluorescência acumulada dentro das células foi

calculada ajustando o modelo dos dados usando o software SAAMII.

[00477] Resultados: Alexa647-9D4-TM ligou-se às células THP-I células. Na ligação de Alexa647- R347, o isotipo controle de 9D4-TM foi observado nas mesmas células. Este resultado demonstrou ligação específica em células THP-I com 9D4-TM (Figura 33). A 4 °C, a ligação de 9D4-TM localizou-se predominantemente na superfície celular (0 min - Figura 33). Uma vez que as células foram incubadas a 37 °C, o sinal de fluorescência para coloração de 9D4-TM diminuiu significativamente da superfície celular e acumulou no compartimento citossólico da maneira pontuada na mancha. Imagens cinéticas registradas por 60 minutos indicaram migração gradual de fluorescência da superfície celular para as manchas pontuadas localizadas no compartimento citossólico (15, 30 e 50 pontos de tempo em minutos, Figura 33). O resultado mostrou claramente a internalização de 9D4-TM em células THP-I.

6.35 Exemplo 35: Ausência de atividade CDC mediada por 9D4-TM

[00478] Propósito: Para determinar se 9D4-TM não é capaz de induzir a atividade CDC, uma série de experimentos foram conduzidos.

[00479] Métodos: Sangue humano, isolado recentemente de doadores humanos saudáveis, foi coletado (aproximadamente 100 mL) e centrifugado por 10 minutos a 3.000 g para separar as células do soro. A fração do soro foi separada em dois tubos. O primeiro tubo foi diluído com RPMI 1640 sem fenol em uma concentração final de soro a 10 % (não inativado pelo calor ou NHI). O segundo tubo foi colocado em um banho maria a 56 °C por 30 minutos para inativar pelo calor os componentes do complemento. Subsequentemente, o segundo tubo foi diluído com meio RPMI- 1640 sem fenol a uma concentração final de 10 % de soro humano inativado pelo calor (HI).

[00480] Células Daudi B foram usadas como células alvo já que expressam CD20 (alvo para anticorpo positivo controle) e IFNAR1. As

células alvo foram lavadas e ressuspensas tanto em meio RPMI sem fenol com 10 % de soro não inativado pelo calor quanto em meio RPMI sem fenol com 10 % de soro inativado pelo calor em uma concentração final de $0,4 \times 10^6$ células/mL. As soluções de anticorpo foram preparadas como uma diluição em série 3x com as concentrações variando de 50ug/mL – $1,3 \times 10^6$ µg/mL. As preparações replicadas de diluições de anticorpo foram preparadas tanto em meio com soro humano inativado pelo calor quanto não inativado pelo calor. O ensaio CDC foi preparado adicionando 50µL de meio NHI ou HI aos poços apropriados de uma placa de 96 poços de fundo redondo. 50µL de diluição em série de anticorpo foram adicionados aos poços apropriados. Subsequentemente, 50µL da preparação da célula alvo preparação foram adicionados aos poços, incluindo poços extra com células alvo sozinhas para controle. As placas foram incubadas a 37 °C por 4 horas em CO₂ 5 %. Após 3,5 horas de incubação, 20uL tampão de lise foram adicionados aos poços controle apropriados projetados para determinação de sinal de lise máximo. O ensaio de liberação Quantitate™ LDH foi realizado usando protocolos definidos no ensaio de citotoxicidade não reativa da Promega, #G1780. A absorbância foi medida em 490nM e valores Kd foram gerados usando software de análise GraphPad Prism 4.

[00481] Resultados: São apresentados na figura 34 os resultados do CDC realizado da maneira descrita anteriormente. O anticorpo anti-IFNAR1 modificado, 9D4-TM, não exibiu nenhuma atividade CDC detectável nas células B Daudi alvo com relação aquela observada com o anticorpo R347. Ao contrário, o anticorpo controle positivo, que se liga a CD20 expresso em células B Daudi, causou um aumento dose dependente na citotoxicidade com relação aos níveis inferiores. Estes resultados confirmam que 9D4- TM não medeia CDC em células alvo que expressam IFNAR1.

6.36 Exemplo 36: O anticorpo anti-IFNAR1 modificado, 9D4-TM, não exibe nenhuma toxicidade adversa

[00482] Propósito: Para estabelecer que 9D4-TM não elicitava nenhuma toxicidade adversa, um estudo de toxicidade de dose única foi realizado em macacos cinomolgos.

[00483] Métodos: Neste estudo, 4 grupos de 10 animais cada (5/sexo/grupo) receberam uma dose única de 0, 5, 30, ou 100 mg/kg de 9D4-TM no dia 1. Após a dosagem, 2 animais/sexo/grupo foram determinados para necrópsia no dia 3, com todos os outros animais monitorados até o dia 70, e então removidos do estudo sem necrópsia. A toxicidade foi avaliada com base na mortalidade, sinais clínicos (incluindo ciclo menstrual), imunofenotipagem, pesos corporais, exames físicos (incluindo taxa cardíaca, taxa respiratória e temperatura corporal), patologia clínica, peso dos órgãos e dados microscópicos.

[00484] Resultados: Nas condições anteriormente determinadas, não houve nenhuma mudança adversa relacionada a 9D4-TM na mortalidade, sinais clínicos (incluindo ciclos menstruais), peso corporal, exames físicos (taxa cardíaca, taxa respiratória e temperatura corporal), patologia clínica, peso dos órgãos e dados microscópicos. Estes resultados sugerem que o anticorpo anti-IFNAR1 modificado, 9D4-TM, não elicitava nenhuma toxicidade adversa.

[00485] Ao passo que, modalidades particulares da invenção foram descritas anteriormente com propósitos de descrição, será interpretado pelos versados na técnica que inúmeras variações dos detalhes podem ser feitas sem fugir da invenção, da maneira descrita nas reivindicações em anexo.

[00486] Todas as publicações, patentes e pedidos de patentes mencionados nesta especificação são aqui incorporados pela referência na especificação na mesma extensão como se cada publicação individual, patente ou pedido de patente fosse específica e individualmente indicado para ser incorporado aqui pela referência.

REIVINDICAÇÕES

1. Uso de uma composição farmacêutica, caracterizado pelo fato de ser na fabricação de um medicamento para o tratamento de uma condição ou doença associada a um distúrbio imunológico, em que a composição farmacêutica compreende um anticorpo específico para IFNAR1 e um excipiente farmacêuticamente aceitável, em que o anticorpo compreende na região Fc uma substituição de aminoácido de L234F, conforme numerado pelo índice EU conforme estabelecido em Kabat e em que o referido anticorpo exibe afinidade reduzida para pelo menos um ligante Fc em comparação com um anticorpo não modificado.

2. Uso de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que a referida doença é uma doença mediada por interferon tipo I, opcionalmente em que o referido interferon tipo I é interferon alfa.

3. Uso de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que a referida doença mediada pelo interferon tipo I está associada ao receptor do interferon tipo I.

4. Uso, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que a referida doença ou distúrbio é infecção por HIV ou AIDS.

5. Uso, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que a referida doença ou distúrbio é lúpus eritematoso sistêmico, síndrome de Sjogren, miosite, polimiosite, dermatomiosite.

6. Uso, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que a referida doença ou distúrbio é miosite de corpos de inclusão.

7. Uso, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que a referida doença ou distúrbio é miosite juvenil.

8. Uso, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que a referida doença ou distúrbio é miosite inflamatória idiopática.

9. Uso, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que a referida doença ou distúrbio é vasculite.

10. Uso, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que a referida doença ou distúrbio é a sarcoidose.

11. Uso, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que a referida doença ou distúrbio é selecionado a partir do grupo que consiste em: doença inflamatória do intestino, esclerose múltipla, tireoidite autoimune, artrite reumatóide, diabetes mellitus dependente de insulina, glomerulonefrite e doença do enxerto contra hospedeiro, psoríase ou condições resultante, e rejeição de transplante ou doença enxerto versus hospedeiro.

12. Uso, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que a referida doença ou distúrbio é selecionado a partir do grupo que consiste em: doença de Grave, tireoidite de Hashimoto, doença de Crohn, psoríase, artrite psoriática, oftalmite simpática, ooforite autoimune, orquite autoimune, síndrome linfoproliferativa autoimune, síndrome antifosfolipídeo. Síndrome de Sjogren, esclerodermia, doença de Addison, síndrome de deficiência polendócrina, síndrome de Guillan-Barré, púrpura trombocitopênica imune, anemia perniciosa, miastenia gravis, cirrose biliar primária, doença mista do tecido conjuntivo, vitiligo, uveíte autoimune, anemia autoimune hemocitopênica, trombocitopenia autoimune, doença celíaca, dermatite herpetiforme, hepatite autoimune, pênfigo, pênfigo vulgar, pênfigo foliáceo, penfigoide bolhoso, miocardite autoimune, vasculite autoimune, alopecia areata, doença autoimune auto-imune, ciumesclerose autoimune autoimune, diabetes autoimune autoimune arterioscleritis, autoimunose autoimune arteriosclerose isipidus, endometriose autoimune, policondrite recidivante, espondilite anquilosante, urticária autoimune, dermatomiosite, síndrome de Miller-Fisher, nefropatia por IgA, síndrome de goodpastures e herpes gestacional.

Figura 1A

Anti-IFNAR 3F11 VH

```

1   Q V Q L Q Q CAG CAG CAG TGG GGC GCA GGA CTG TTG AAG CCT TCT GAG ACC CTG
    CAG GTG CAG CTA CAG CAG CAG CAG TGG GGC GCA GGA CTG TTG AAG CCT TCT GAG ACC CTG

55  S L T C A V Y G G S F S G Y F W S W
    TCC CTC ACC TGC GCT GTC TAT GGT GGT GGC TCC TTC AGT GGT TAT TTC TGG AGC TGG

109 I R Q P P G K G L E N I G E I D H S
    ATC CGC CAG CCC CCA GGG AAG GGG CTG GAG TGG ATT GGG GAA ATC GAT CAC AGT

163 G K T N Y N P S L K S R V T I S V D
    GGA AAG ACC AAC TAC AAT CCG TCC CTC AAG AGT CGA GTT ACC ATA TCA GTA GAC

217 F S K N Q V S L K L S S V T A A D T
    ACG TCC AAG AAC CAG GTC TCC CTC AAG CTG AAG CTG AGC TCT GTG ACC GCC GCG GAC ACG

271 A V Y Y C A R E S K Y Y F G L D V W
    GCT GTG TAT TAC TGT GCG AGA GAA AGC AAG TAC TAC TTC GGT TTG GAC GTC TGG

325 G Q G T T V T V T S
    GGC CAA GGG ACC ACG GTC ACC GTC ACC TCA

```

CDR1

CDR2

CDR2

CDR3

Figura 1B

Anti-IFNAR 3F11 VK

```

      A  I  Q  L  T  Q  S  P  S  S  L  S  A  S  V  G  D  R
1  GCC ATC CAG TTG ACC CAG TCT CCA TCC TCC CTG TCT GCA TCT GTA GGA GAC AGA

      V  T  I  T  C  R  A  S  Q  G  I  Y  S  V  L  A  W  Y
55 GTC ACC ATC ACT TGC CGG GCA AGT CAG GGC ATT TAC AGT GTT TTA GCC TGG TAT

      Q  Q  K  P  G  K  T  P  K  L  L  I  Y  D  A  S  R  L
109 CAG CAG AAA CCA GGG AAA ACT CCT AAG CTC CTG ATC TAT GAT GCC TCC CGT TTG

      E  S  G  V  P  S  R  F  S  S  G  S  G  T  D  F  T
163 GAA AGT GGG GTC CCA TCA AGG TTC AGC GGC AGT GGA TCT GGG ACA GAT TTC ACT

      L  T  I  S  S  L  Q  P  E  D  F  A  T  Y  Y  C  Q  Q
217 CTC ACC ATC AGC AGC CTG CAG CCT GAA GAT TTT GCA ACT TAT TAC TGT CAA CAG

      F  N  S  Y  I  T  F  G  Q  G  T  R  L  E  I  K
271 TTT AAT AGT TAC ATC ACC TTC GGC CAA GGG ACA CGA CTG GAG ATT AAA

```

CDR1

CDR2

CDR3

CDR3

Figura 2A

Anti-IFNAR 4G5 VH

```

1   Q V Q L Q Q W G A G L L K P S E T L
    CAG GTG CAG CTA CAG CAG TGG GGC GCA GGA CTG TTG AAG CCF TCG GAG ACC CTG

                                CDR1
                                ~~~~~
55  S L T C A V Y G G S F S M Y Y W S W
    TCC CTC ACC TGC GCT GTC TAT GGT GGG TCC TTC AGT AAT TAC TAC TGG AGC TGG

                                CDR2
                                ~~~~~
109 Y R Q P P G K G L E W I C E I I L S
    ATC CGC CAG CCG CCA GGG AAG GGG CTG CAG TGG ATT GGG GAA ATC ATT CTT AGT

                                CDR2
                                ~~~~~
163 G S T N Y N P S L K S R V T I S V D
    GGA AGC ACC AAC TAC AAC CCG TCC CTC AAG AGT CGA GTC ACC ATA TCA GTA GAC

217 T S K N Q F S L N L T S V T A A D T
    ACG TCC AAG AAC CAG TTC TCC CTG AAC CTG ACC TCT GTG ACC GCC GCG GAC ACG

                                CDR3
                                ~~~~~
271 A V Y Y C A R E S K W G Y Y F D S W
    GCT GTG TAT TAC TGT GCG AGA GAG TCT AAA TGG GGT TAC TAC TTT GAC TCC TGG

                                CDR3
                                ~~~~~
325 G Q G T L V T V S S
    GGC CAG GGA ACC CTG GTC ACC GTC TCC TCA

```

Figura 2B

Anti-IFNAR 4G5 VK

```

      A   I   Q   L   T   Q   S   P   S   S   L   S   A   S   V   G   D   R
1  GCC ATC CAG TTG ACC CAG TCT CCA TCC TCC CTG TCT GCA TCT GTA GAC AGA

                                CDR1
      V   T   I   T   C   R   A   T   Q   D   I   S   I   A   L   V   W   Y
55  GTC ACC ATC ACT TGC CGG GCA ACT CAG GAC ATT AGC ATT GCT PTA GTC TGG TAT

                                CDR2
      Q   Q   K   P   G   K   A   P   E   L   L   I   Y   D   A   S   G   L
109 CAG CAG AAA CCA GGG AAA GCT CCT GAG CTC CTG ATC TAT GAT GCC TCC GGT TTG

                                CDR2
      G   S   G   V   P   S   R   F   S   S   G   S   G   T   D   F   T
163 GGA AGT GGG GTC CCA TCA AGG TTC AGC GGC AGT GGA TCT GGC ACA GAT TTC ACT

                                CDR3
      L   T   I   S   S   L   Q   P   E   D   F   A   T   Y   Y   C   Q   Q
217 CTC ACC ATC AGC AGC CTG CAG CCT GAA GAT TTT GCA ACT TAT TAC TGT CAA CAG

                                CDR3
      F   N   S   Y   P   Y   T   F   G   Q   G   T   K   L   E   I   K
271 TTT AAT AGT TAC CCG TAC ACT TTT GGC CAG GGG ACC AAG CTG GAG ATC AAA

```

Figura 3A

Anti-IFNAR 11E2 VH

```

E V Q L V Q S G A E V K K P G E S L
1  GAG GTG CAG CTG GTG CAG TCT GGA GCA GAG GTG AAA AAG CCC GGG GAG TCT CTG

                                CDR1
                                ~~~~~
K I S C K G S G Y I F T N Y W I A W
55  AAG ATC TCC TGT AAG GGT TCT GGA TAC ATC TTT ACC AAT TAC TGG ATC GCC TGG

                                CDR2
                                ~~~~~
V R Q M P G K G L E S M G I I Y P G
109 GTG CGC CAG ATG CCC GGT AAA GGC CTG GAG TCG ATG GGG ATC ATC TAT CCT GGT

                                CDR2
                                ~~~~~
D S D I R Y S P S F Q G Q V T I S A
163 GAC TCT GAT ATC AGA TAC AGC CCG TCC TTC CAA GGC CAG GTC ACC ATC TCA GCC

D K S I T T A Y L Q W S S L K A S D
217 GAC AAG TCC ATC ACC ACC GGC TAC CTG CAG TGG AGC AGT CTG AAG GCC TCA GAC

                                CDR3
                                ~~~~~
T A M Y Y C A R H D I E G F D Y W G
271 ACC GCC ATG TAT TAC TGT GCG AGA CAT GAC ATA GAG GGG TTT GAC TAC TGG GGC

R G T L V T V S S
325 CGG GGA ACC CTG GTC ACC GTC TCC TCA

```

Figura 3B

Anti-IFNAR 11E2 VK

1 E I V L T Q S P G T L S L S P G E R
GAA ATT GTG TTG ACG CAG TCT CCA GGC ACC CTG TCT TTG TCT CCA GGG GAA AGA

CDR1

55 A T L S C R A S Q S V S S S F F A W
GCC ACC CTC TCC TGC AGG GCC AGT CAG AGT GTT AGC AGC AGC TTC TTC GCC TGG

CDR2

109 Y Q Q K P G Q A P R L L I Y G A S S
TAC CAG CAG AAA CCT GGC CAG GCT CCC AGG CTC CTC ATC TAT GGT GCA TCC AGC

CDR2

163 R A T G I P D R L S G S G T D F
AGG GCC ACT GGC ATC CCA GAC AGG TTA AGT GGC AGT GGG TCT GGG ACA GAC TTC

CDR3

217 T L T I T R L E P E D F A V Y Y C Q
ACT CTC ACC ATC ACC AGA CTG GAG CCT GAA GAT TTT GCA GTG TAT TAC TGT CAG

CDR3

271 Q Y D S S A I T F G Q G T R L E I K
CAG TAT GAT AGC TCA GCG ATC ACC TTC GGC CAA GGG ACA CGA CTG GAG ATT AAA

Figura 4A

Anti-IFNAR 9D4 VH

1 E V Q L V Q S G A E V K K P G E S L
GAG GTG CAG CTG GTG CAG TCT GGA GCA GAG GTG AAA AAG CCC GGG GAG TCT CTG

CDR1

55 K I S C K G S G Y I P T N Y W I A W
AAG ATC TCC TGT AAG GGT TCT GGA TAC ATC TTT ACC AAC TAC TGG ATC GGC TGG

CDR2

109 V R Q M P G K G L E S M G I I Y P G
GTG CGC CAG ATG CCC GGT AAA GGC CTG GAG TCG ATG GGG ATC ATC TAT CCF GGT

CDR2

163 D S D I R Y S P S F Q G Q V T I S A
GAC TCT GAT ATC AGA TAC AGC CCG TCC TTC CAA GGC CAG GTG ACC ATC TCA GCC

217 D K S I T A Y L Q W S S L K A S D
GAC AAG TCC ATC ACC ACC GCC TAC CTG CAG TGG AGC AGT CTG AAG GCC TCA GAC

CDR3

271 T A M Y Y C A R H D I E G F D Y W G
ACC GCC ATG TAT TAC TGT GCG AGA CAT GAC ATA GAG GGG TTT GAC TAC TGG GGC

325 R G F L V T V S S
CGG GGA ACC CTG GTC ACC GTC TCC TCA

Figura 4B

Anti-IFNAR 9D4 VK

```

      E I V L T Q S P G T L S L S P G E R
1  GAA ATT GTG TTG ACG CAG TCT CCA GGC ACC CTG TCT TTG TCT CCA GGG GAA AGA

                                CDR1
      A T L S C R A S Q S V S S S F F A W
55  GCC ACC CTC TCC TGC AGG GCC AGT CAG AGT GTT AGC AGC TTC TTC GCC TGG

                                CDR2
      Y Q Q K P G Q A P R L L L I Y G A S S
109 TAC CAG CAG AAA CCT GGC CAG GCT CCC AGG CTC CTC ATC TAT GGT GCA TCC AGC

                                CDR2
      R A T G I P D R L S G S G S G T D F
163 AGG GCC ACT GGC ATC CCA GAC AGG TTA AGT GGC AGT GGT TCT GGG ACA GAC TTC

                                CDR3
      T L T I T R L E P E D F A V Y Y C Q
217 ACT CTC ACC ATC ACC AGA CTG GAG CCT GAA GAT TTT GCA GTG TAT TAC TGT CAG

                                CDR3
      Q Y D S S A I T F G Q Q G T R L E I K
271 CAG TAT GAT AGC TCA GCG ATC ACC TTC GGC CAA GGG ACA CGA CTG GAG ATT AAA

```

Figura 5

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTISWMNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVVVT
 ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTISWMNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVVVT
 ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTISWMNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVVVT
 ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTISWMNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVVVT
 (228) ↓ (234) ↓ (235)
 VPSSSLGTQTYICNVNHHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTTP
 VPSSSLGTQTYICNVNHHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTTP
 VPSSSLGTQTYICNVNHHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTTP
 VPSSSLGTQTYICNVNHHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTTP
 EVTCVAVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA
 EVTCVAVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA
 EVTCVAVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA
 EVTCVAVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA
 (331) ↓
 LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSRHEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTITPPV
 LPASIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSRHEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTITPPV
 LPSSIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSRHEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTITPPV
 LPSSIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSRHEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTITPPV
 LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQOQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK.
 LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQOQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK.
 LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQOQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK.
 LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQOQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK.
 Igg1 - não modificado
 Igg1 - modificado
 Igg4 - modificado
 Igg4 - não modificado
 Igg1 - não modificado
 Igg1 - modificado
 Igg4 - modificado
 Igg4 - não modificado
 Igg1 - não modificado
 Igg1 - modificado
 Igg4 - modificado
 Igg4 - não modificado
 Igg1 - não modificado
 Igg1 - modificado
 Igg4 - modificado
 Igg4 - não modificado
 Igg1 - não modificado
 Igg1 - modificado
 Igg4 - modificado
 Igg4 - não modificado
 Igg1 - não modificado
 Igg1 - modificado
 Igg4 - modificado
 Igg4 - não modificado

Figura 6A

Cérebro Humano

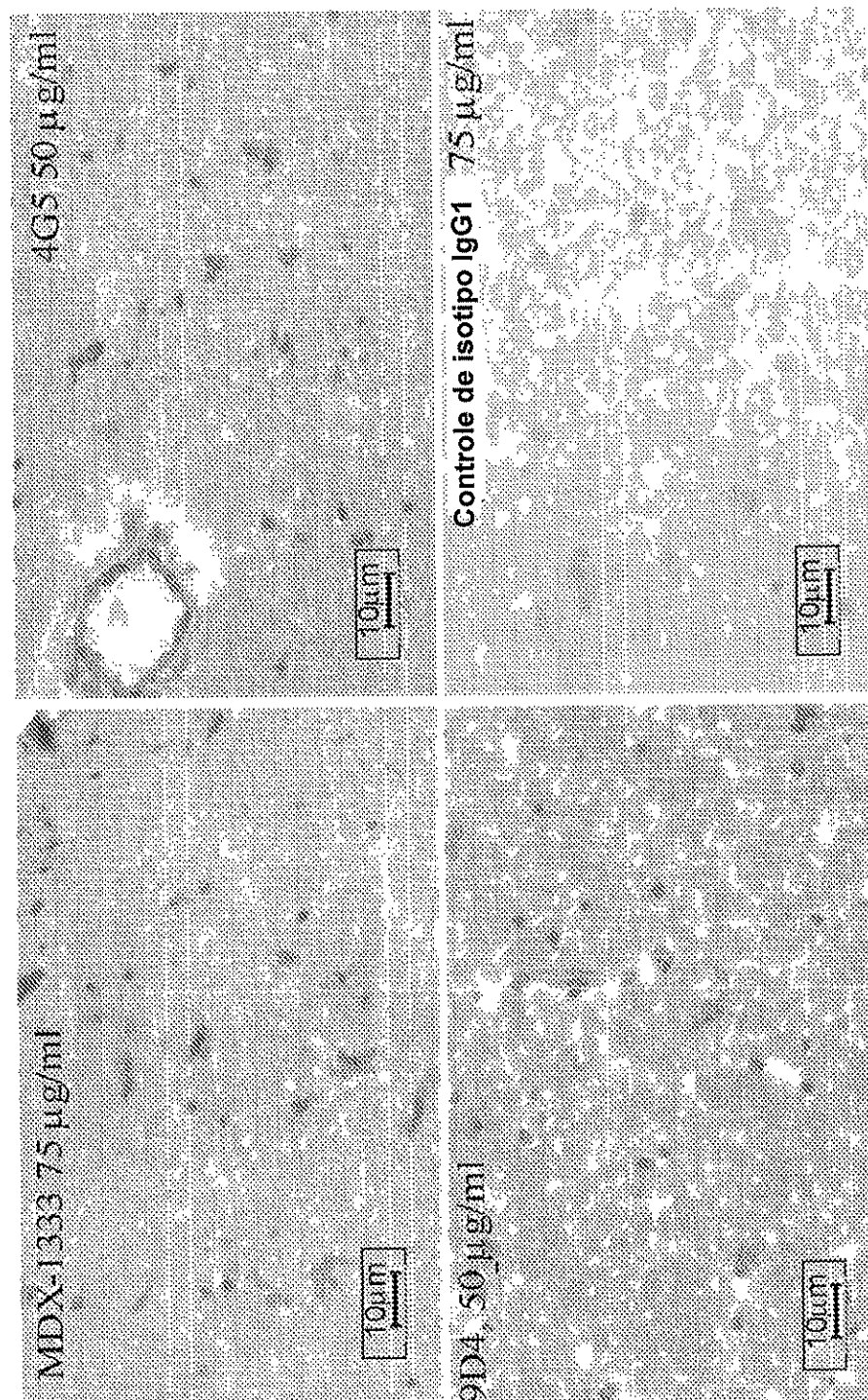


Figura 6B

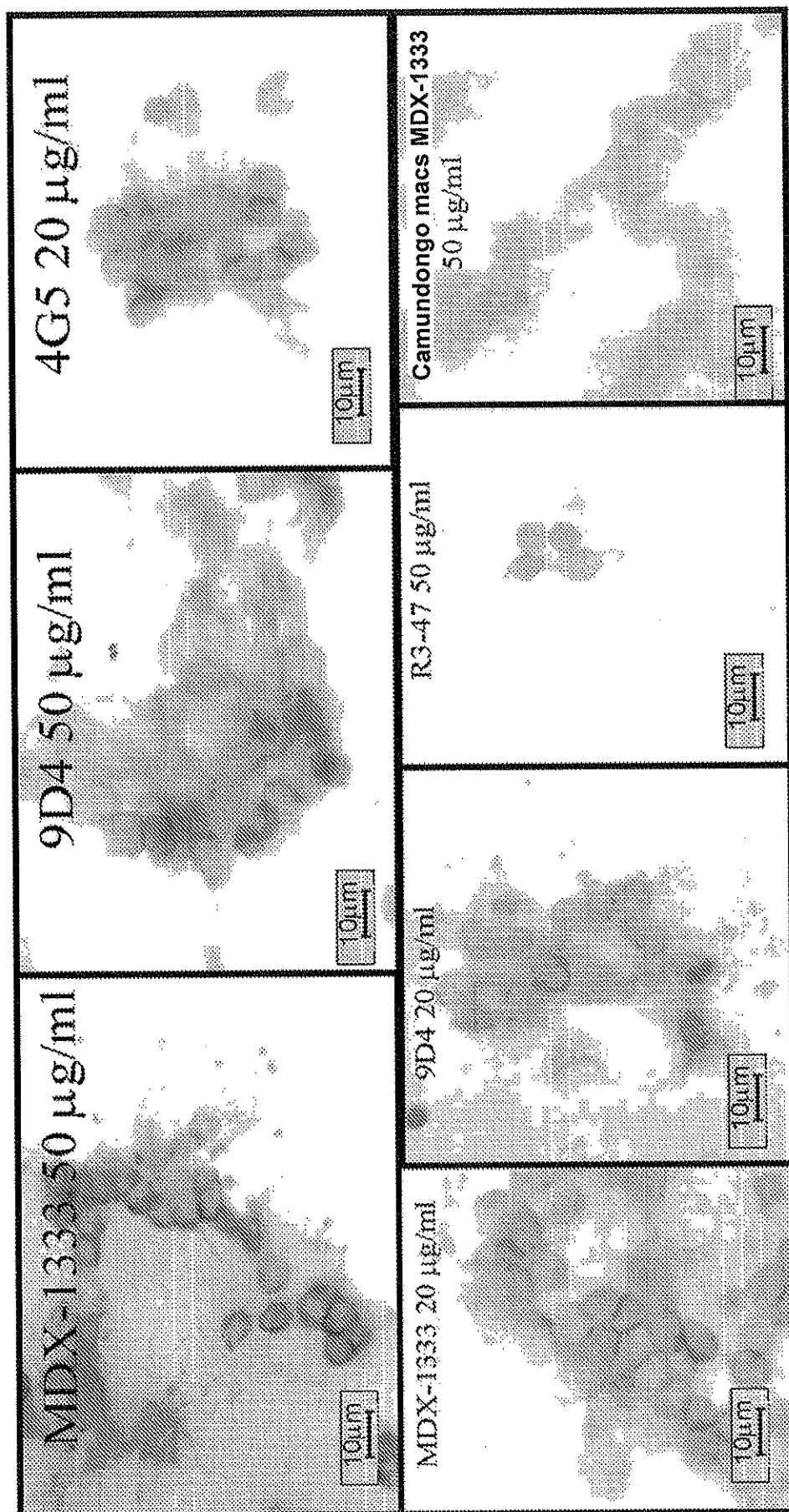


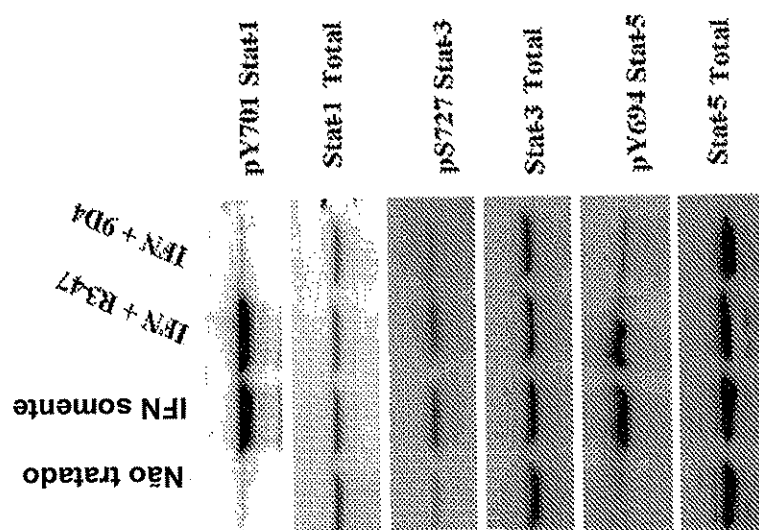
Figura 7

Figura 8

Doador #190			9D4	
Concentração IFN do tipo I				
(IU/mL)	IC ₅₀ (nM)	Percentual de inibição		
50	0.005	97		
100	0.008	98		
500	0.04	98		
1000	0.06	99		
2000	0.16	99		
5000	0.5	98		

Doador #141			9D4	
Concentração IFN do tipo I				
(IU/mL)	IC ₅₀ (nM)	Percentual de inibição		
50	0.02	99.1		
100	0.04	99		
500**	0.2	98.6		
1000	0.2	98		
2000**	0.9	100		
5000**	2.4	100		

Doador #237			9D4	
Concentração IFN do tipo I				
(IU/mL)	IC ₅₀ (nM)	Percentual de inibição		
50	0.008	99		
100	0.01	99		
500	0.04	99		
1000	0.09	98		
2000	0.12	99		
5000	0.65	98		

Figura 9

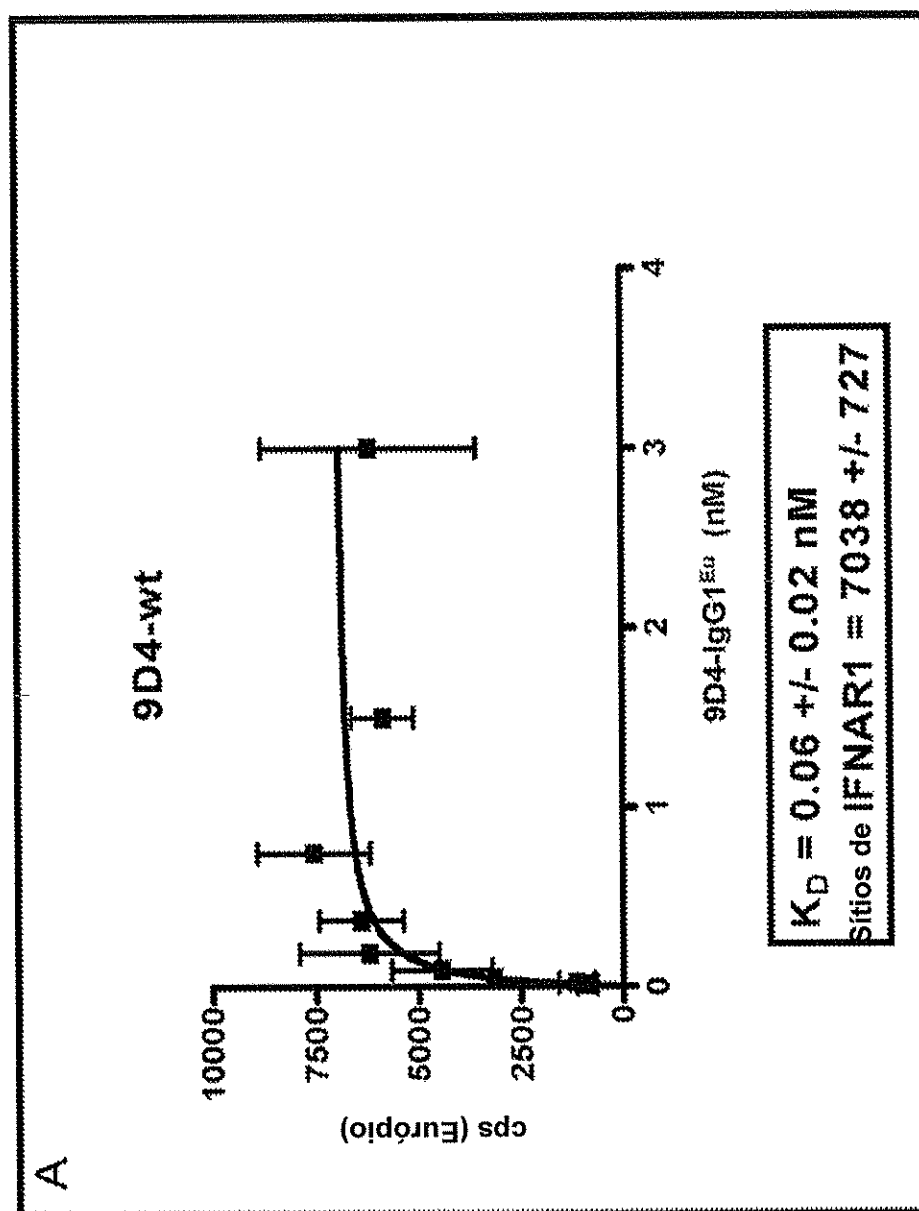


Figura 9 Cont.

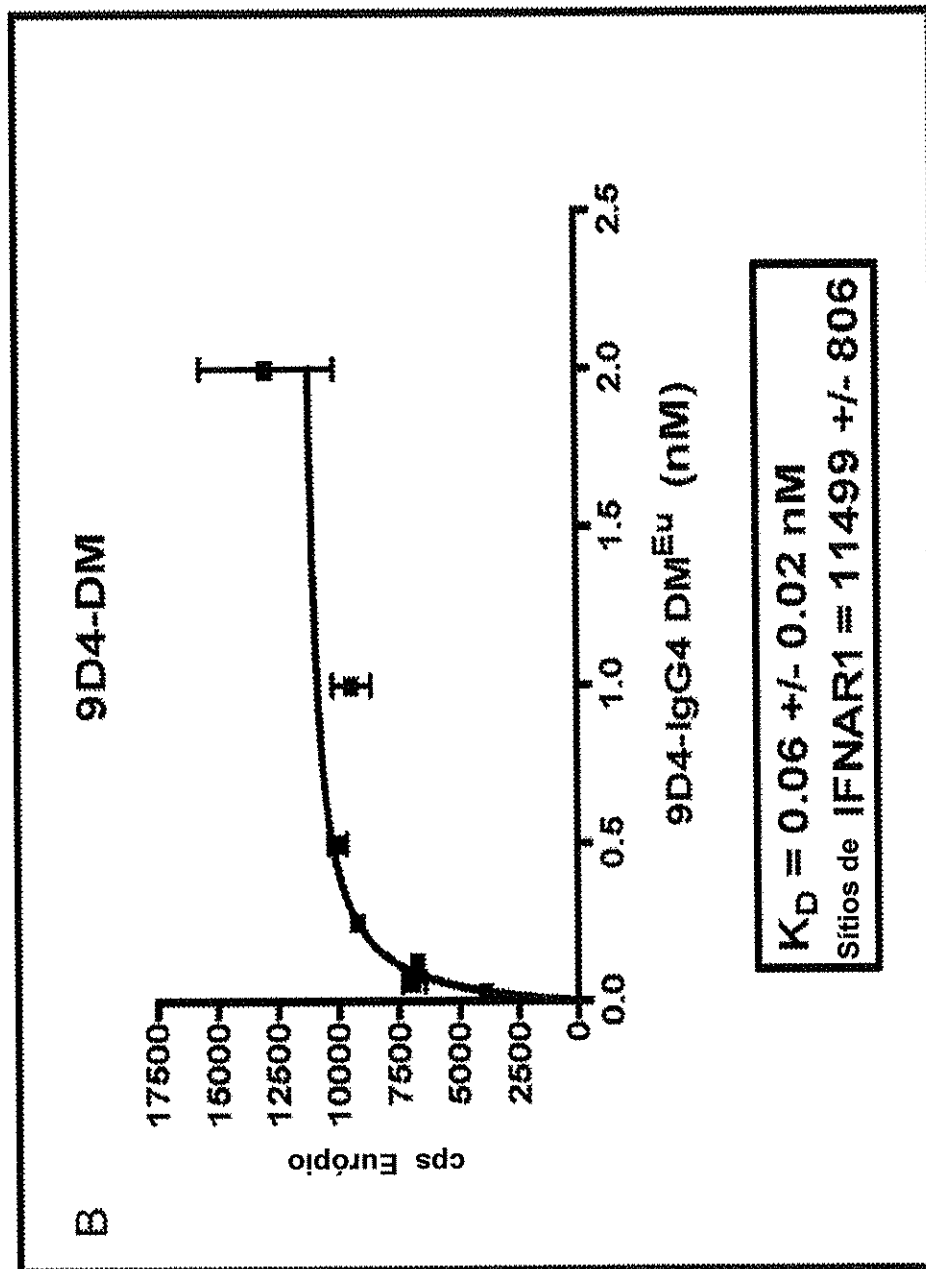


Figura 9

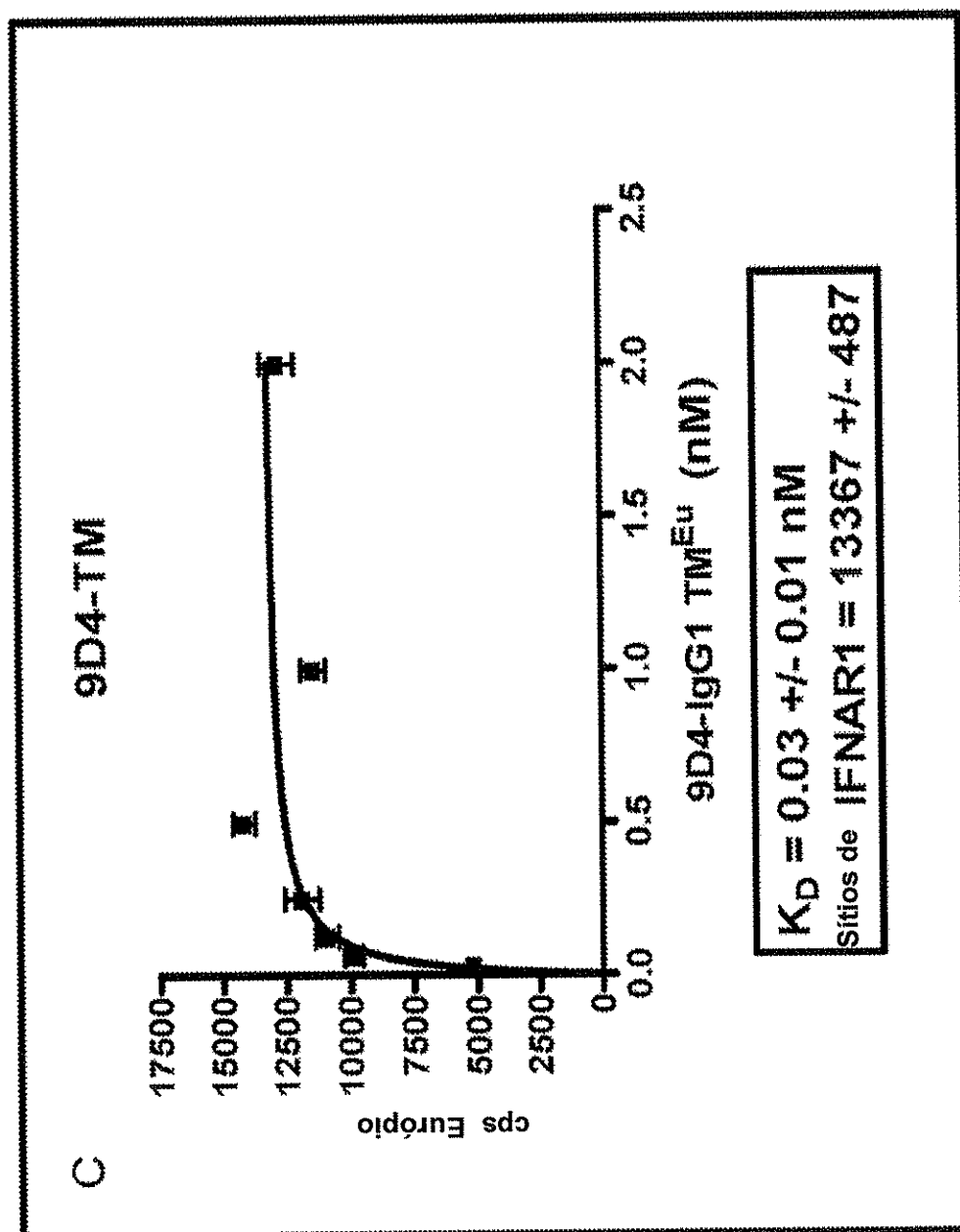


Figura 10A

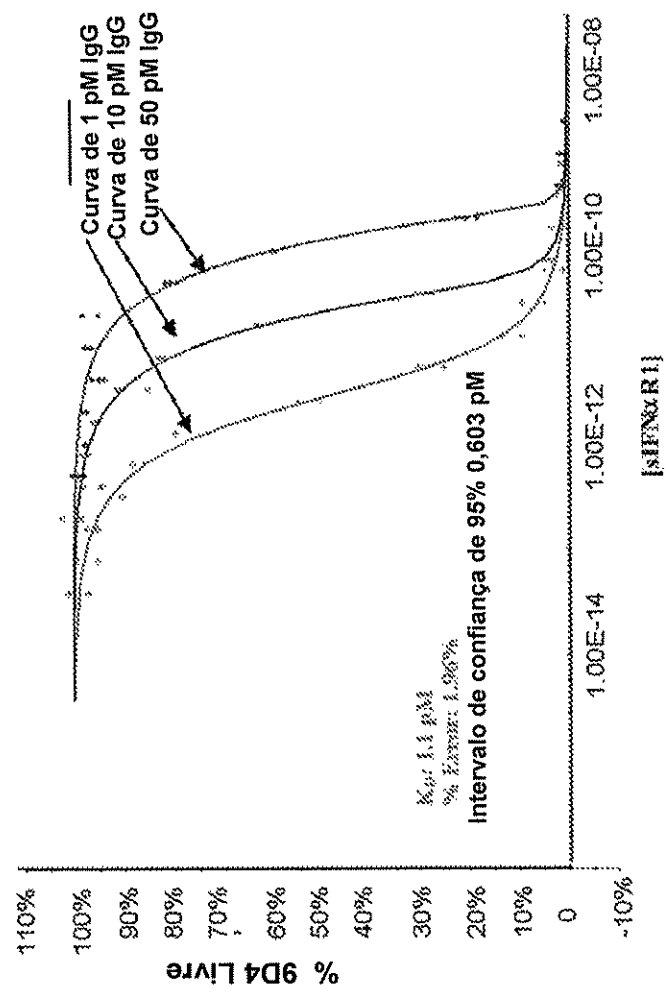


Figura 10B

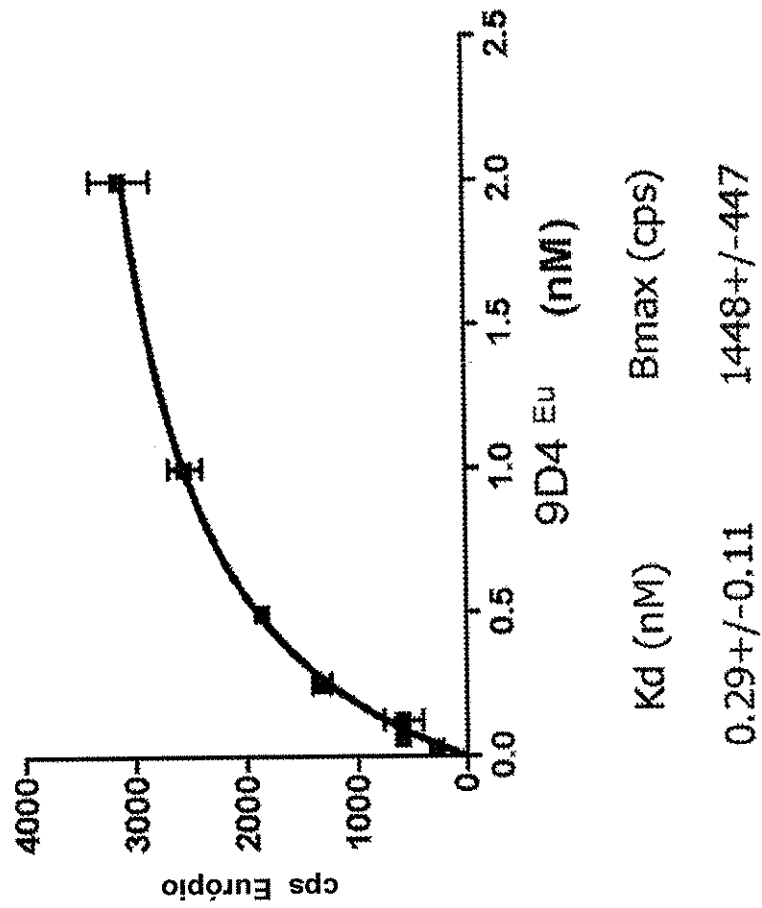


Figura 11

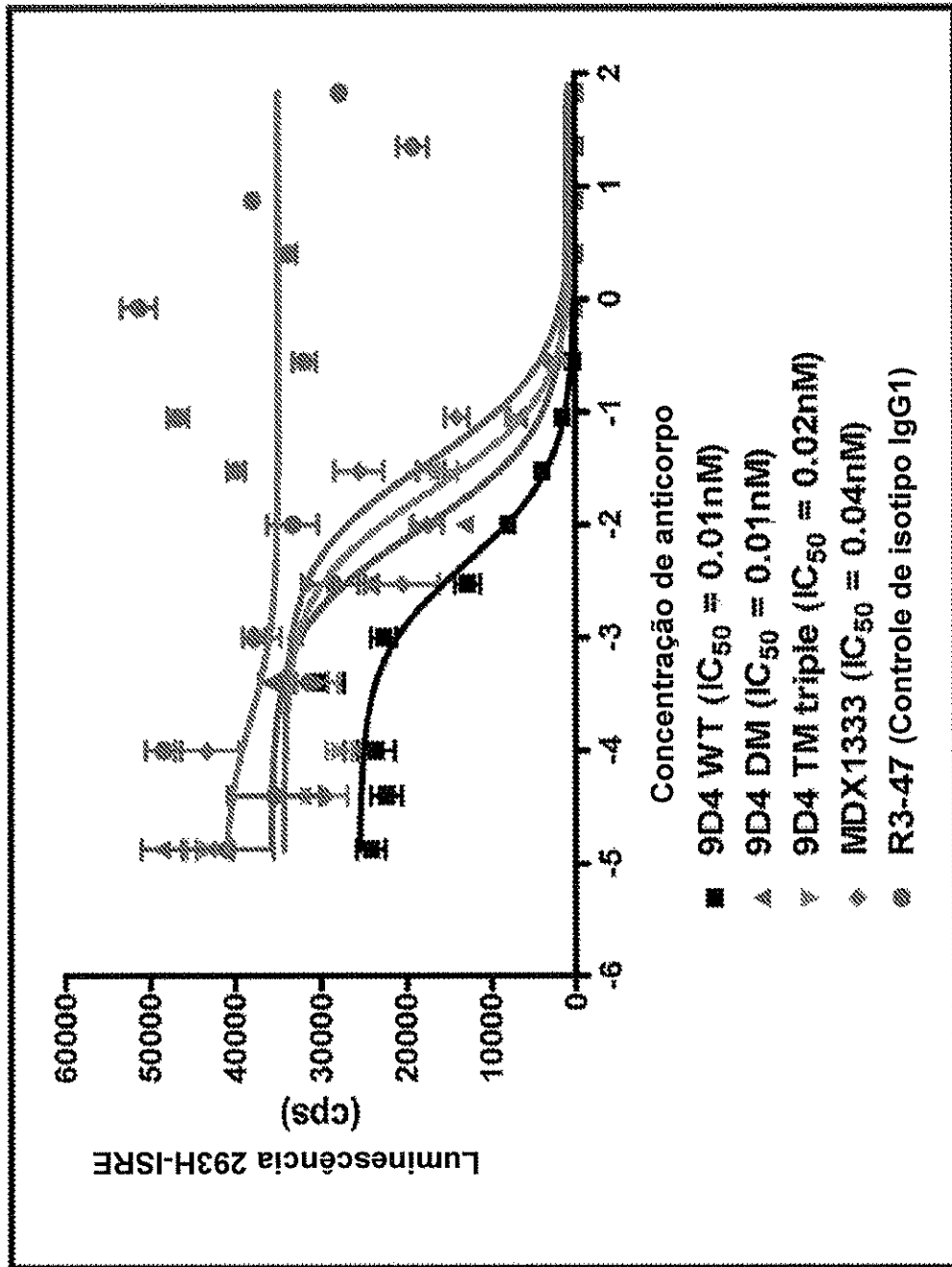


Figura 12A

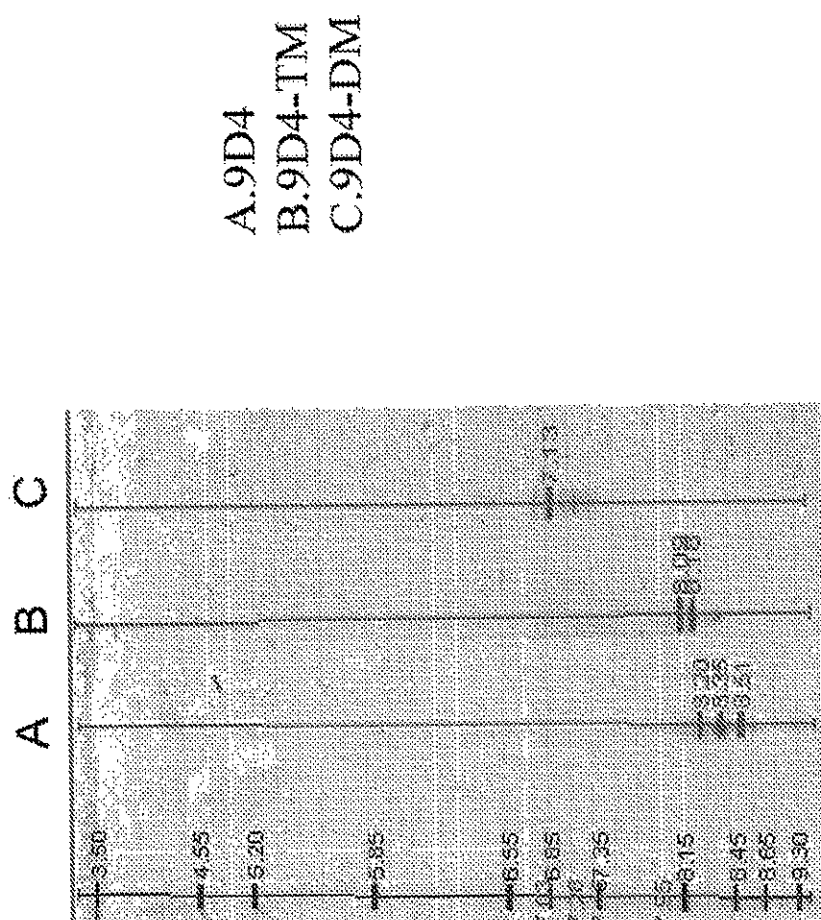


Figura 12B

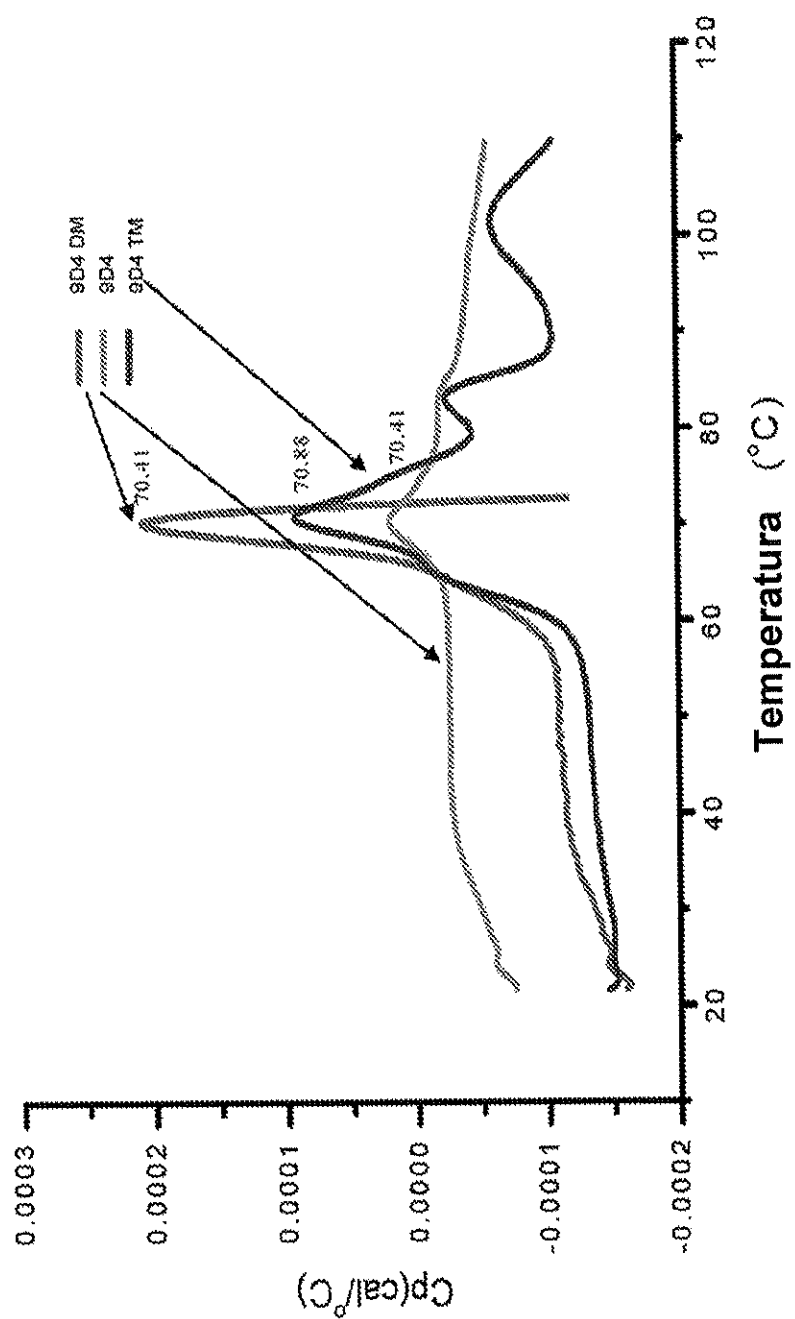


Figura 13

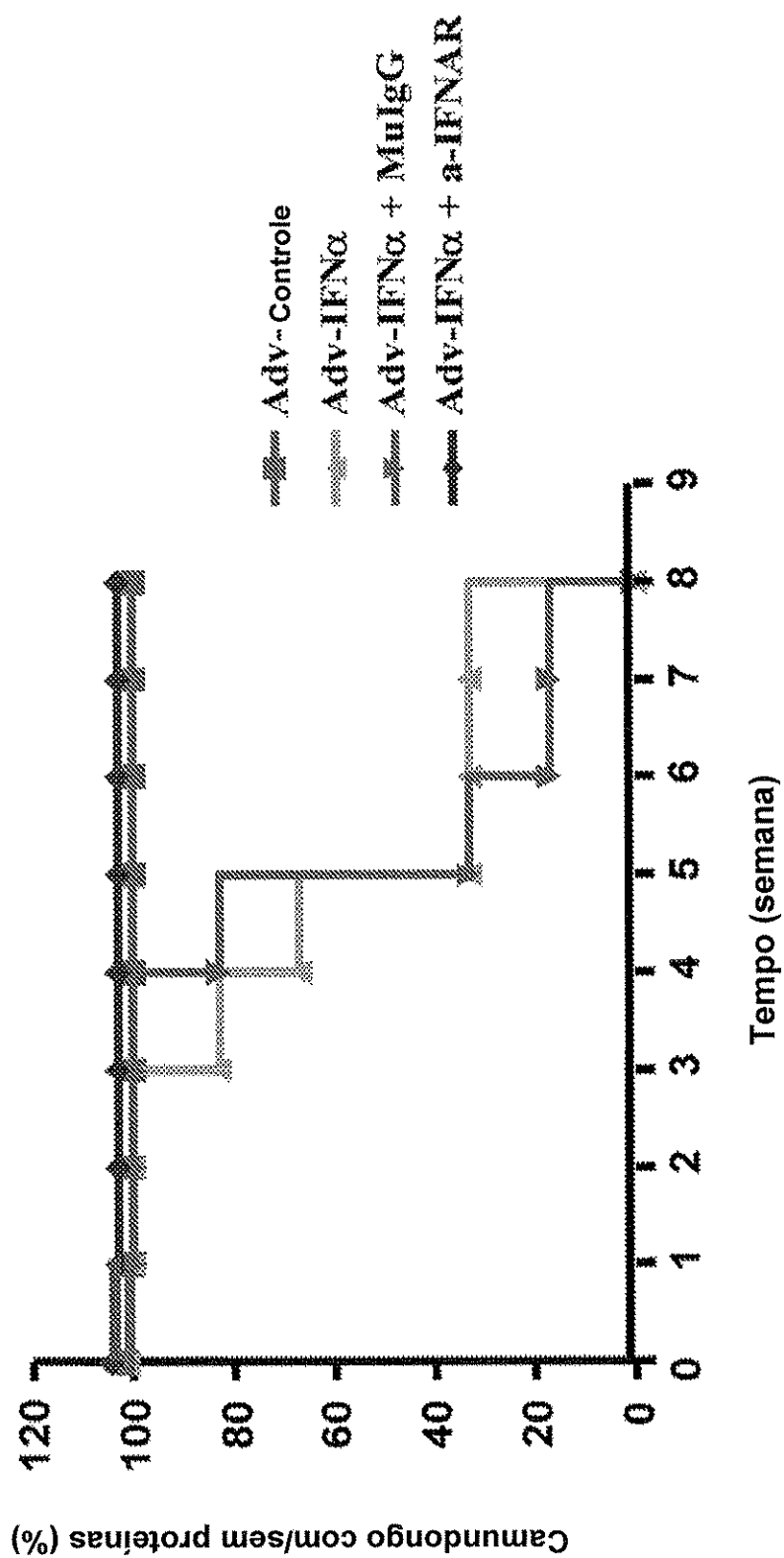


Figura 14

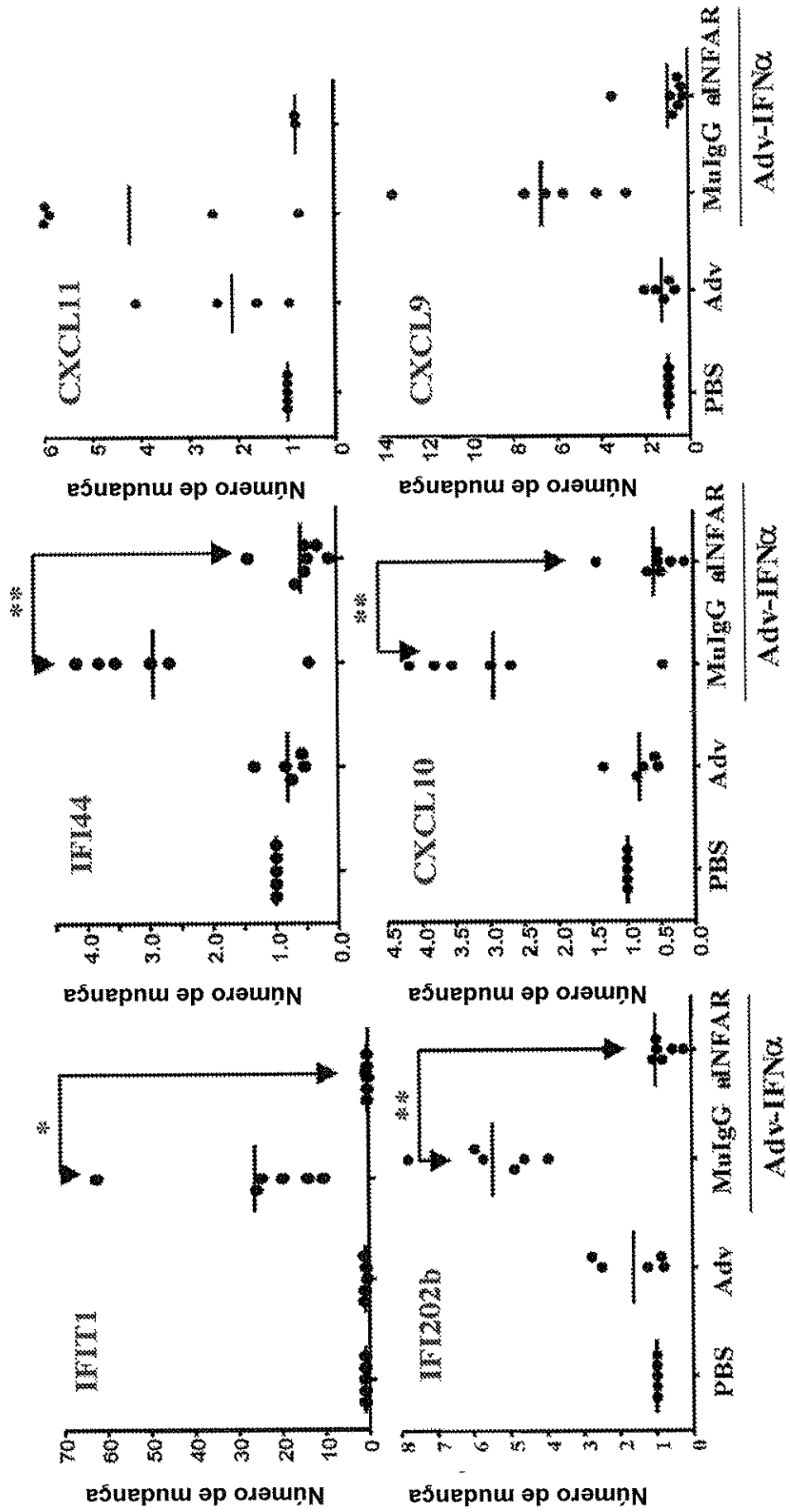


Figura 15

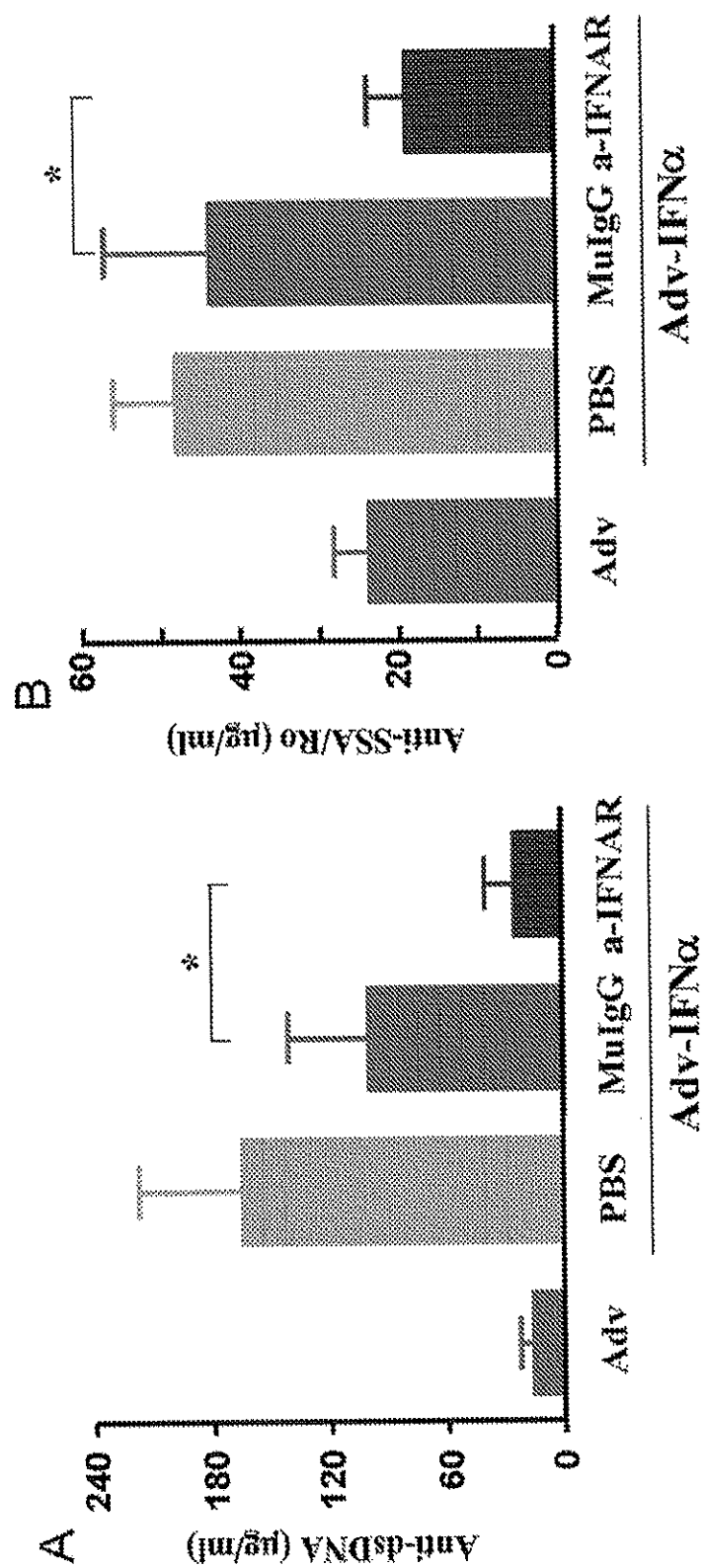


Figura 16

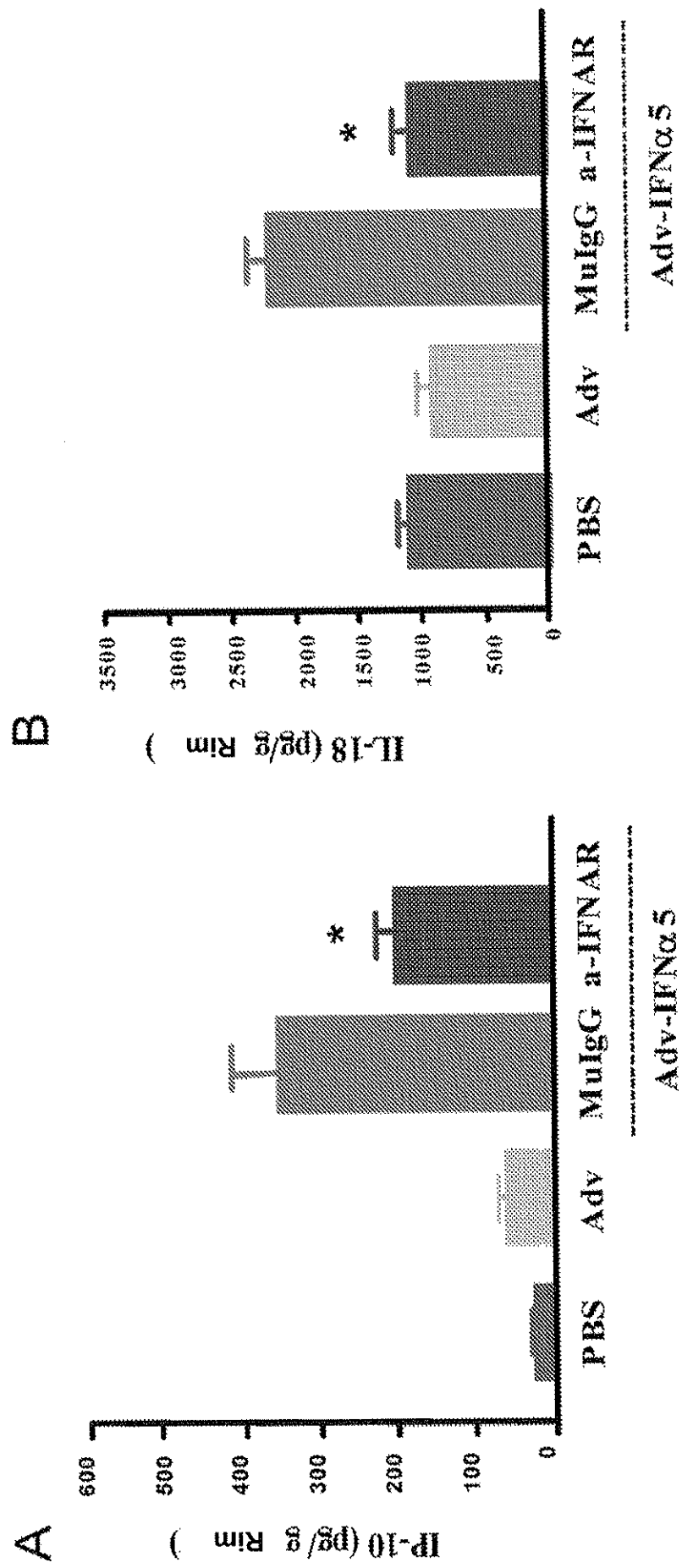


Figura 17

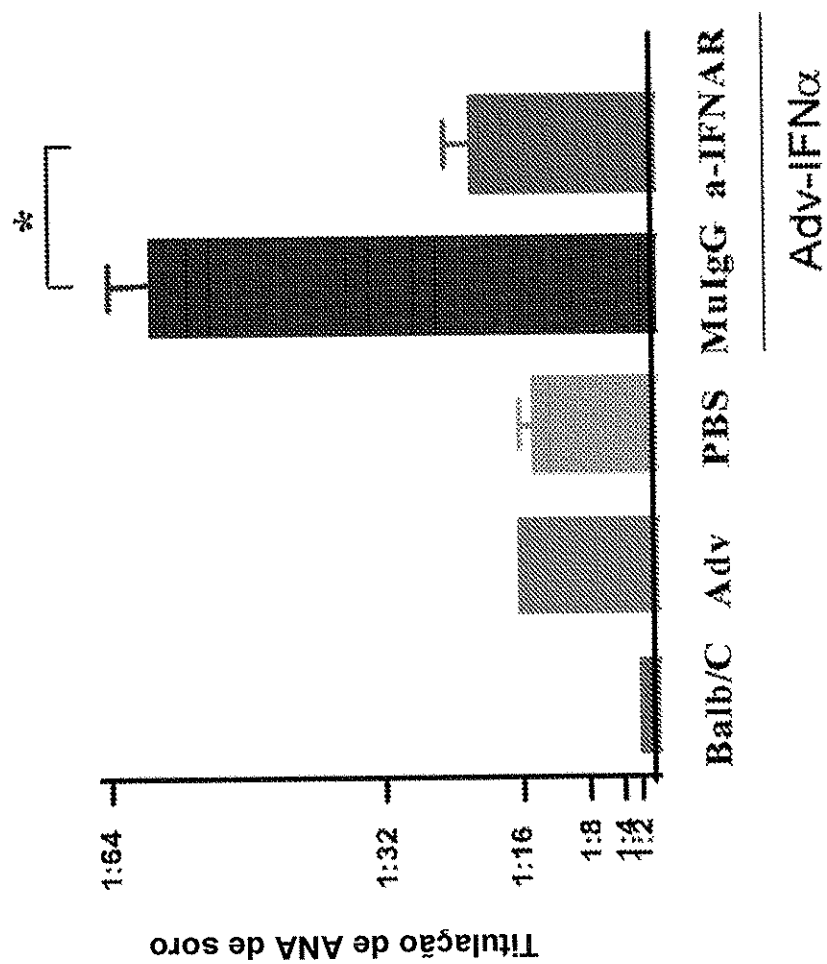


Figura 18

Exp. #	CD38, % max		IC50		CD123, % max.		IC50	
	Suspensão		nM		Suspensão		nM	
1	88%		0.05		NC		NC	
2	100%		0.05		70%		0.06	
3	81%		0.02		64%		0.04	
4	91%		0.04		76%		0.06	
5	NC		NC		72%		0.06	
NC: Não calculado (sem indução)								

Figura 19

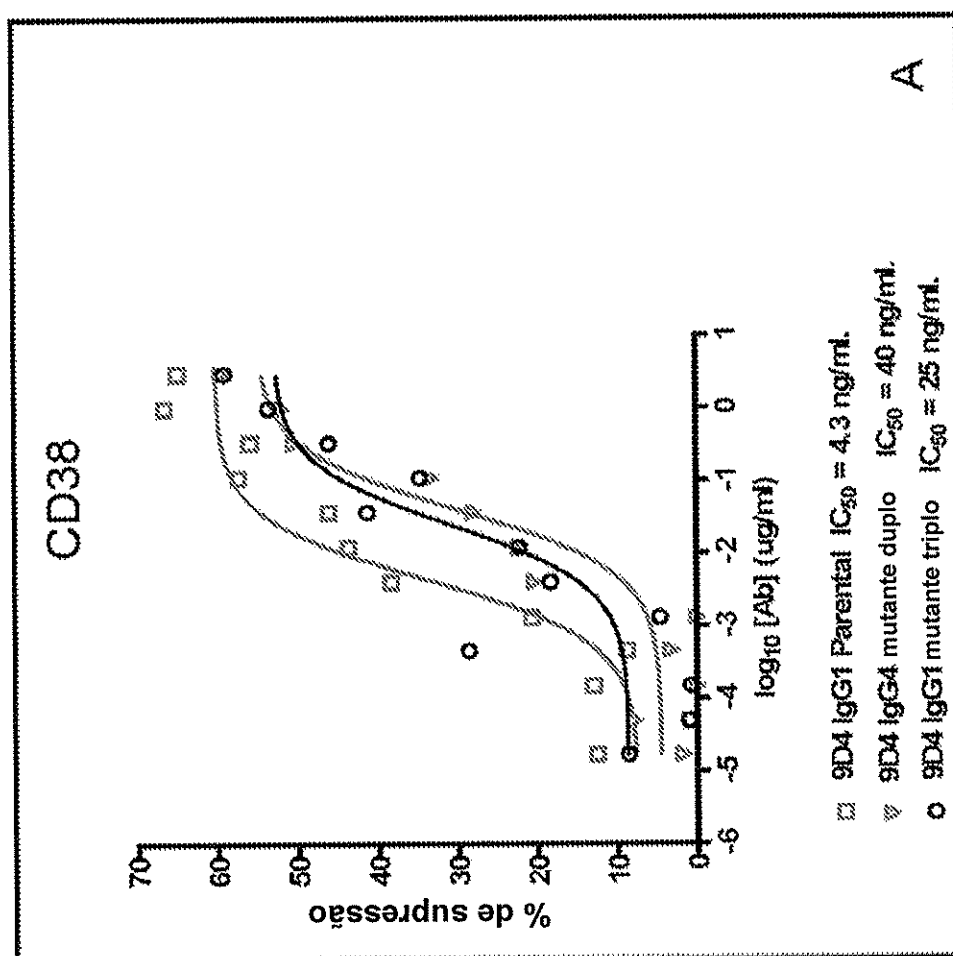


Figura 19 Cont.

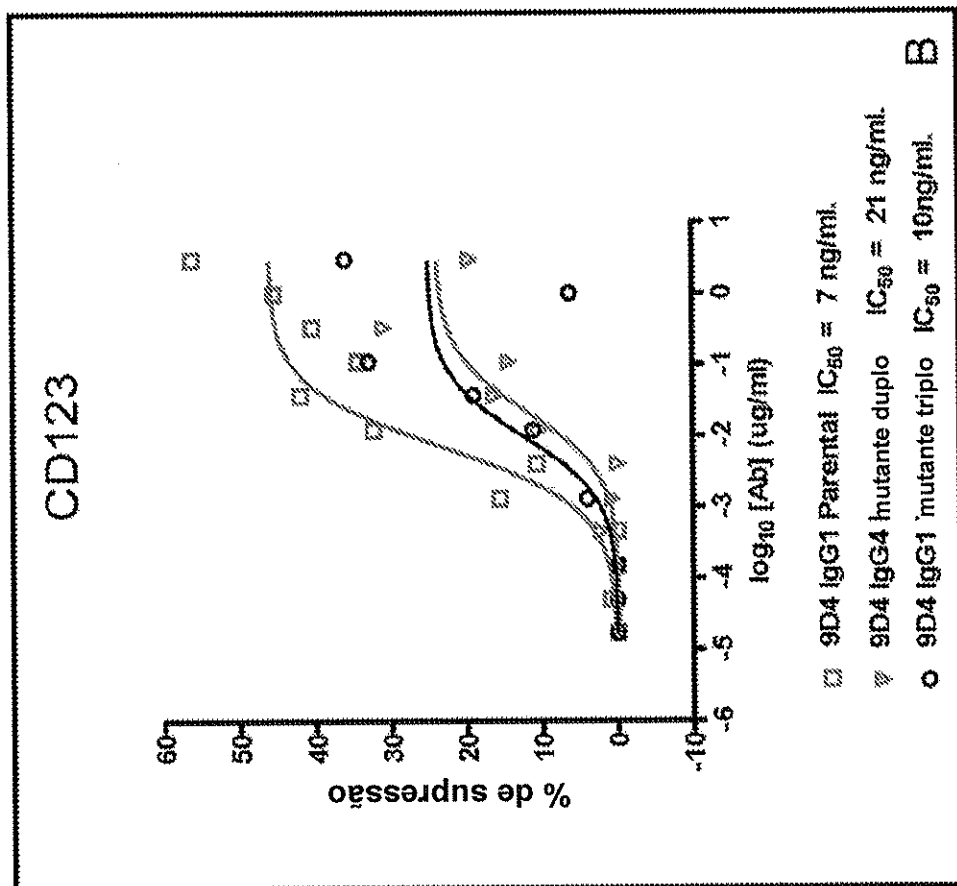


Figura 19 Cont.

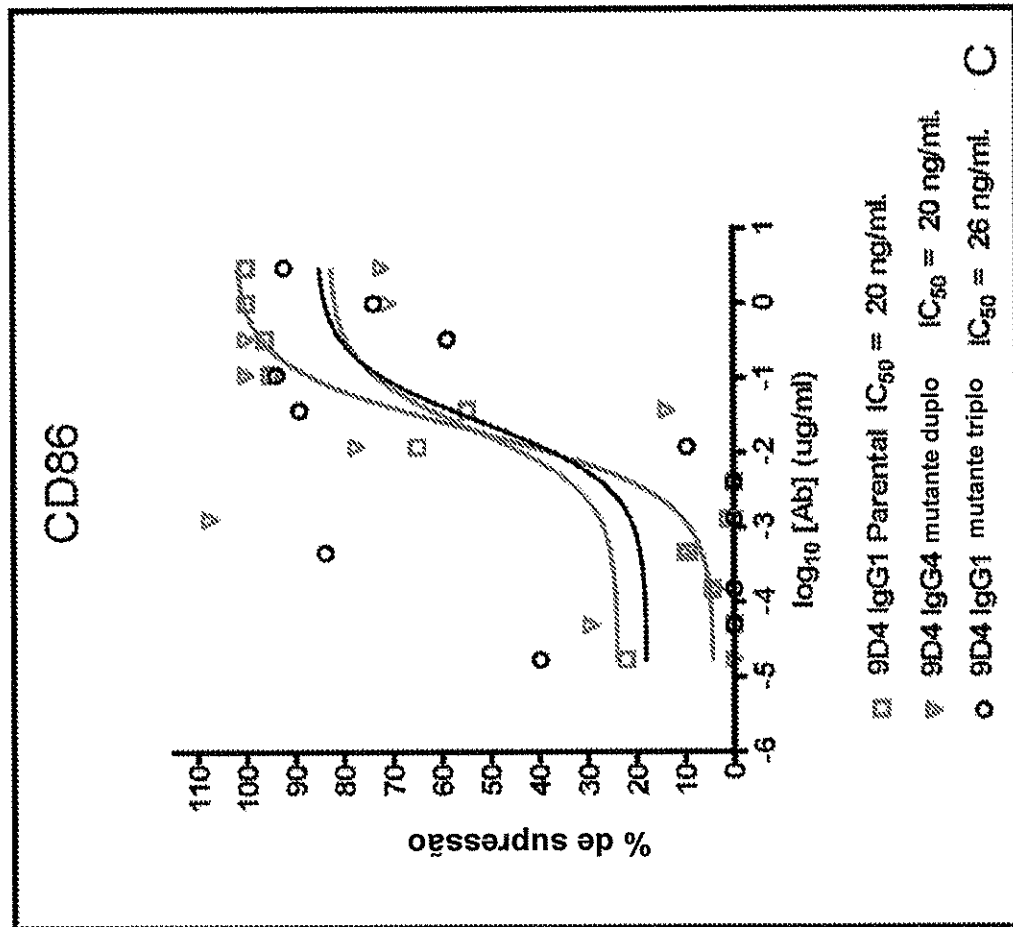


Figura 20

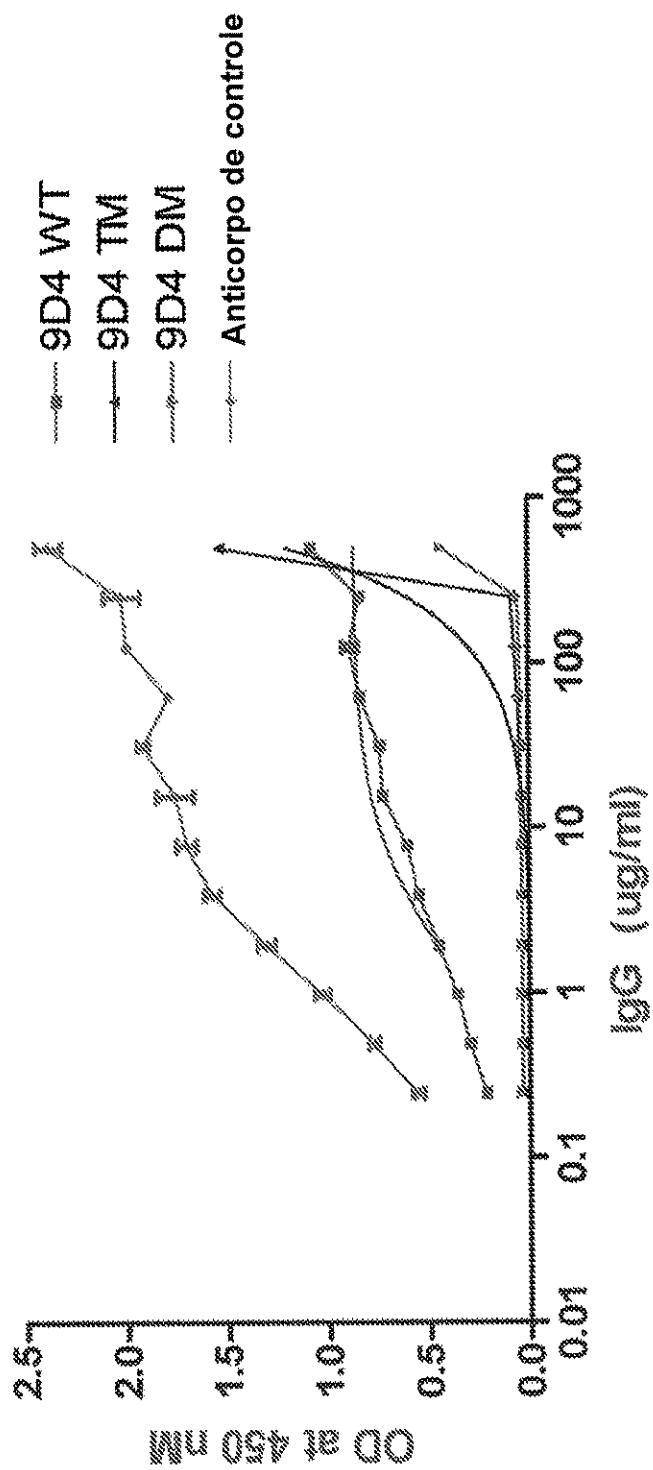


FIGURA 21A

9D4WT

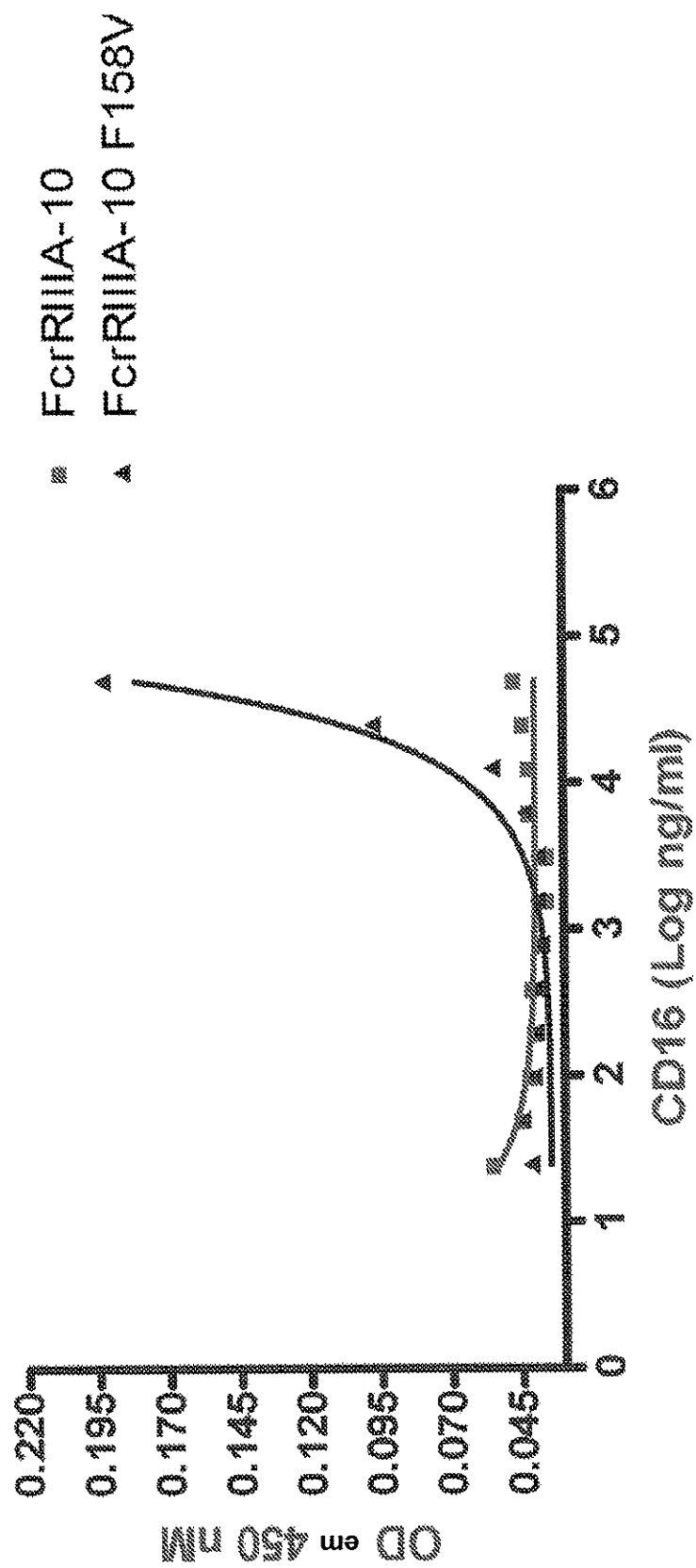


FIGURA 21B

9D4DM

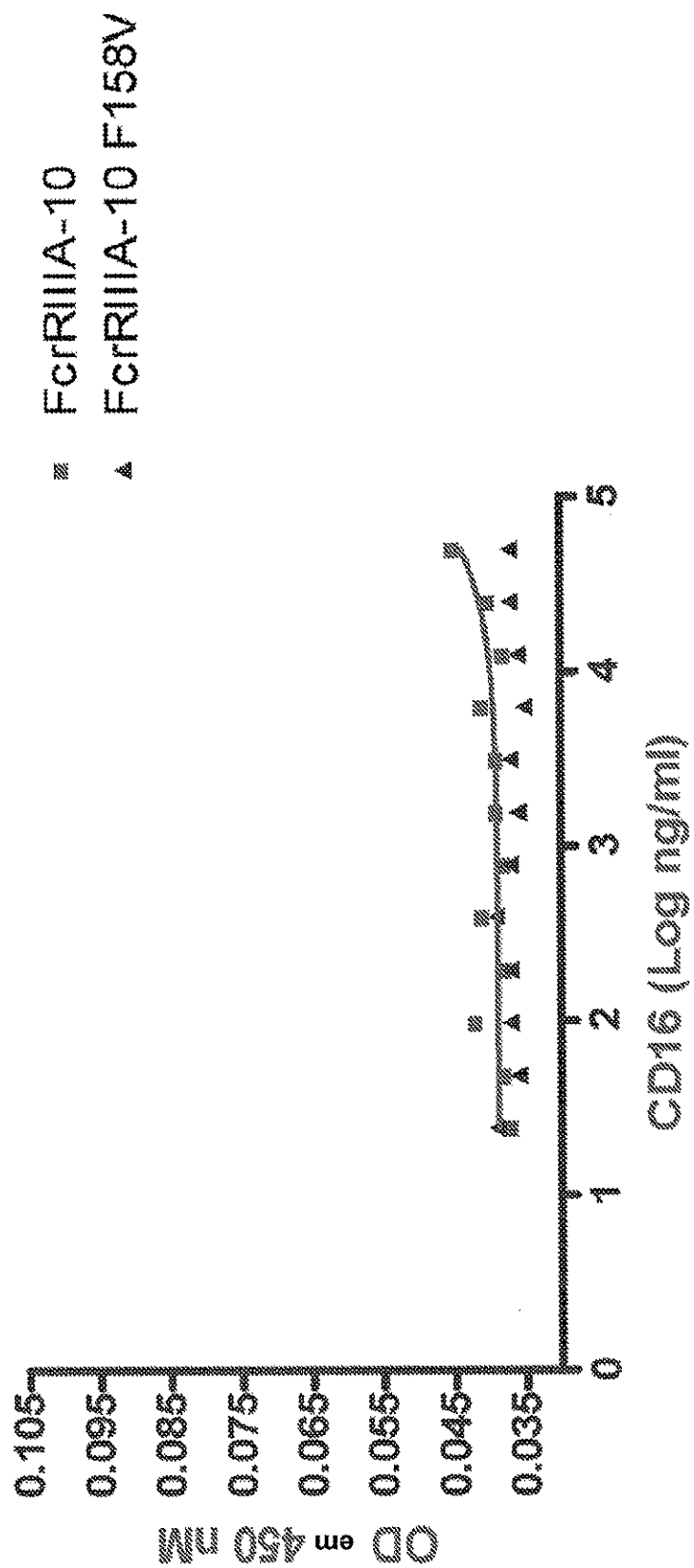


FIGURA 21C

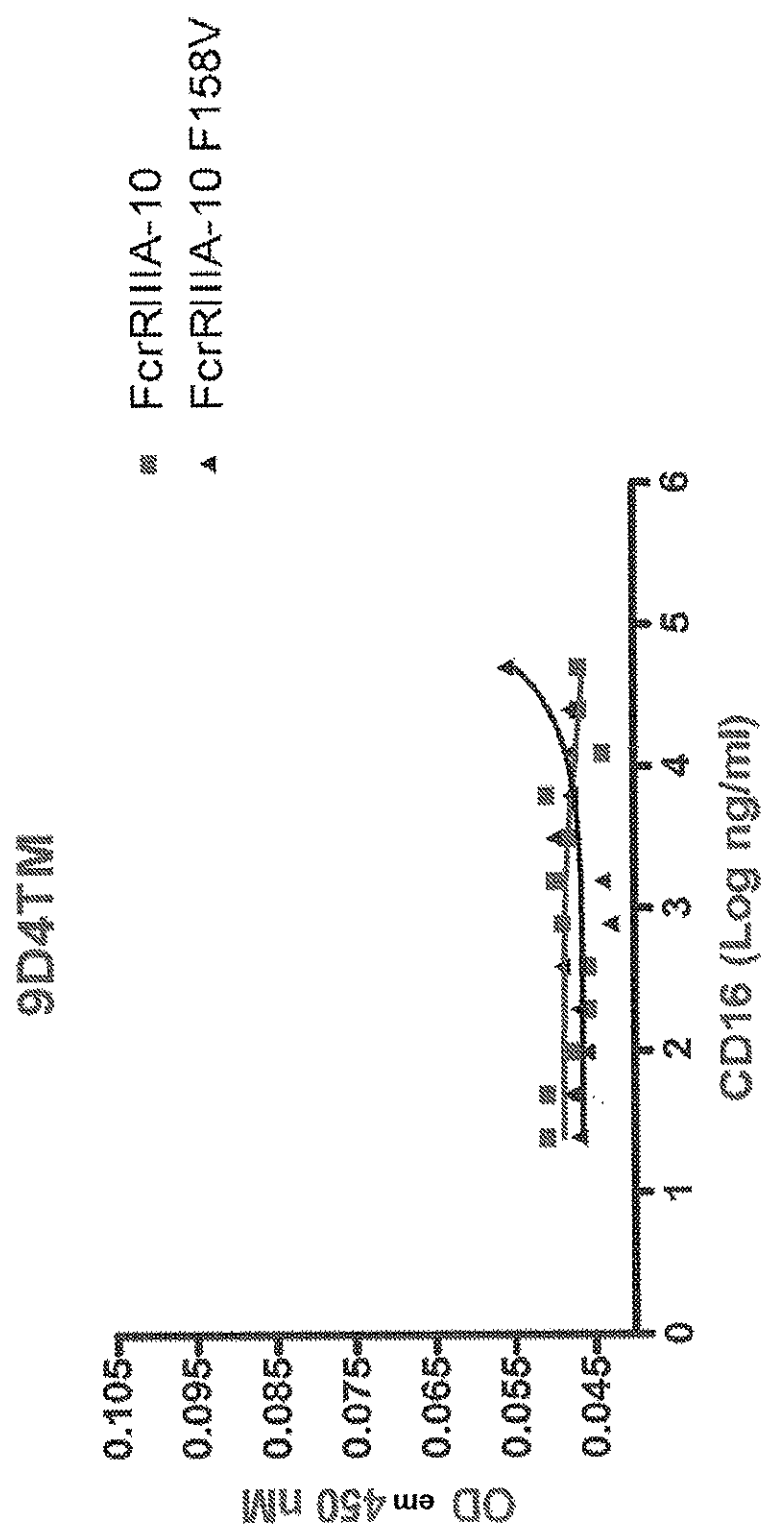


FIGURA 22A

9D4 wt

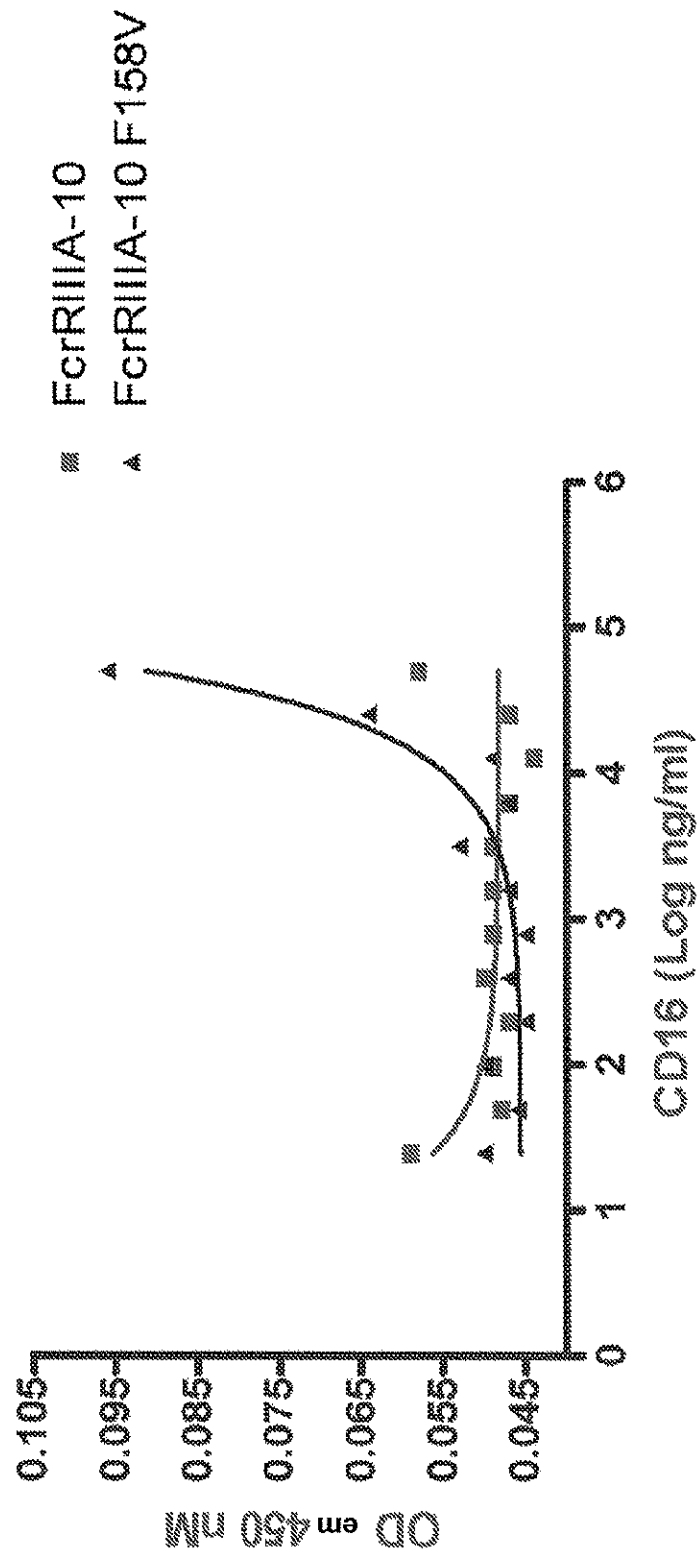


FIGURA 22B

9D4DM

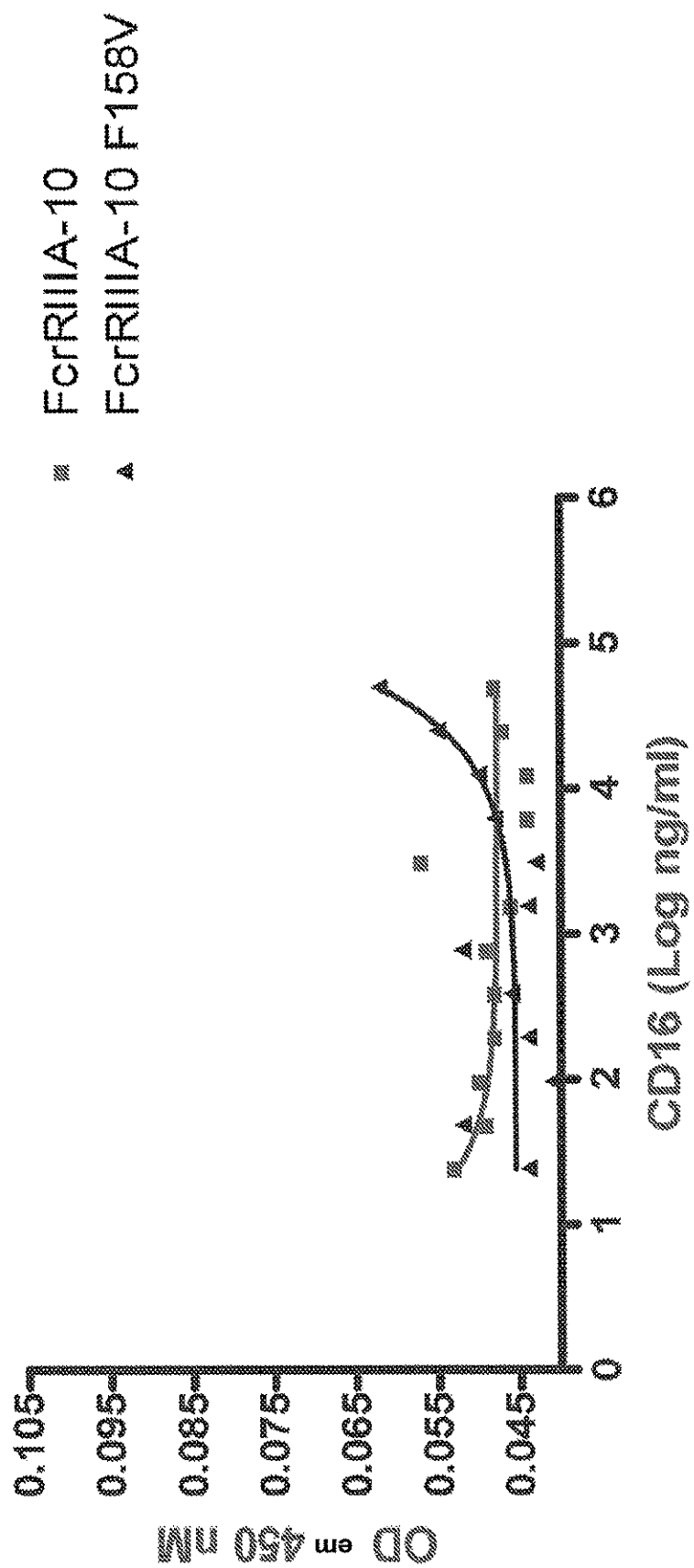


FIGURA 22C

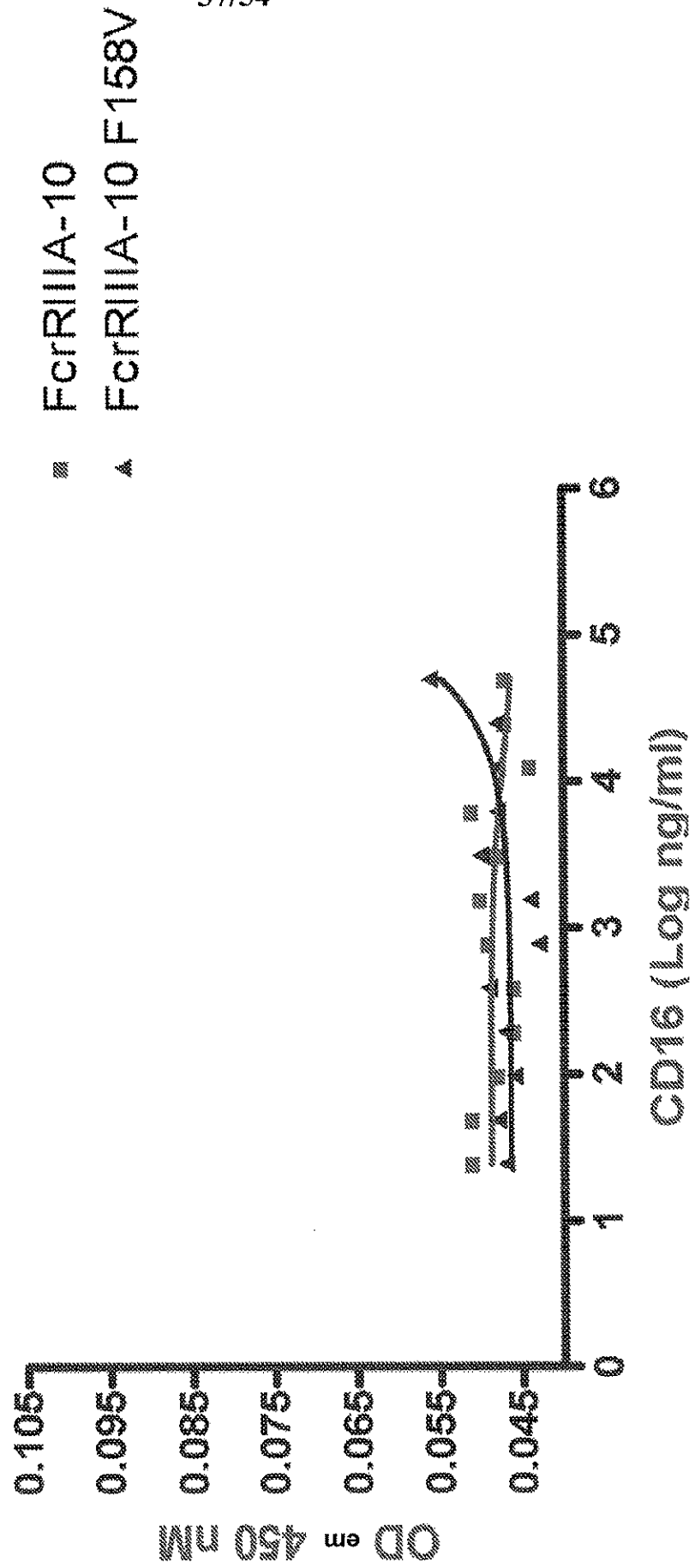
9D4T_M

FIGURA 23

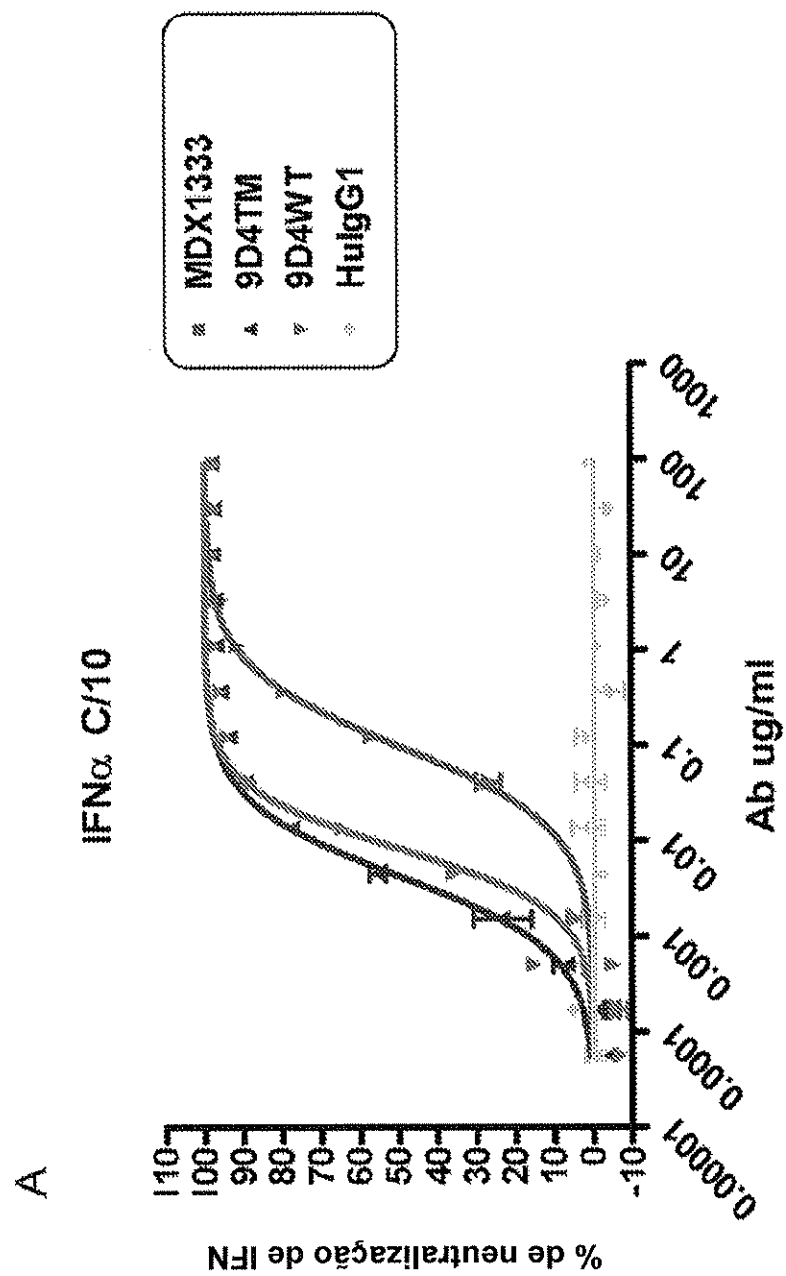


FIGURA 23 CONT

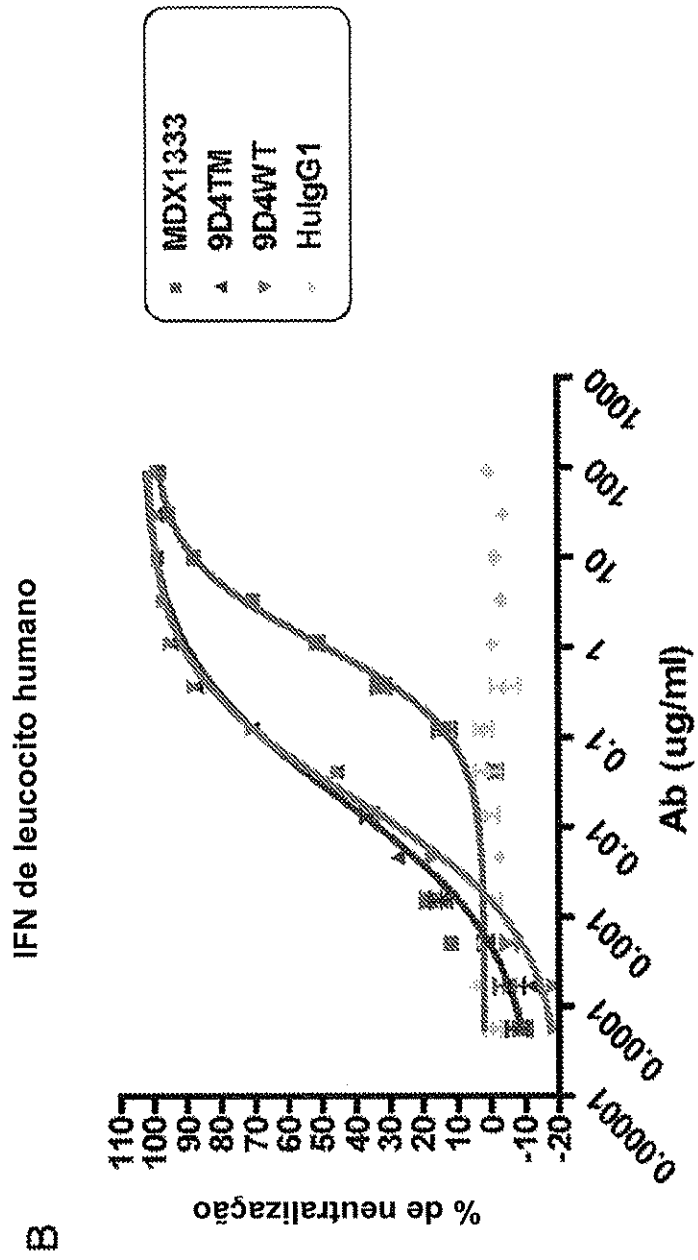


FIGURA 23 CONT

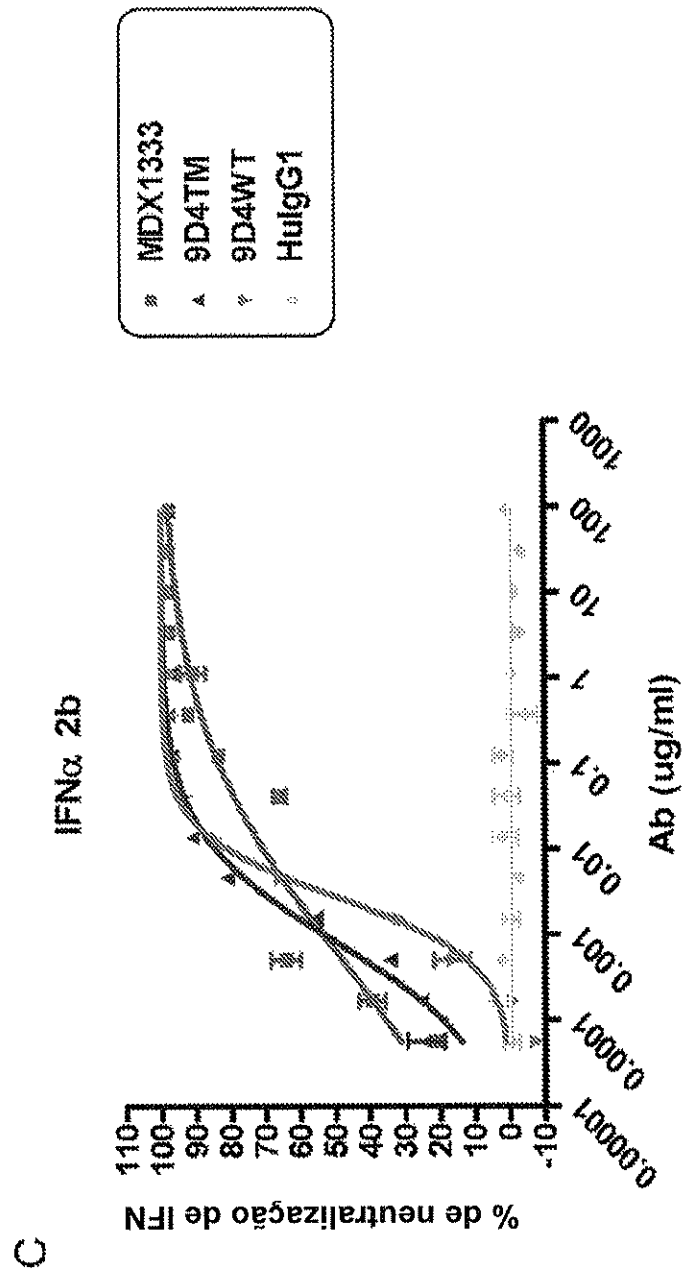


FIGURA 23 CONT

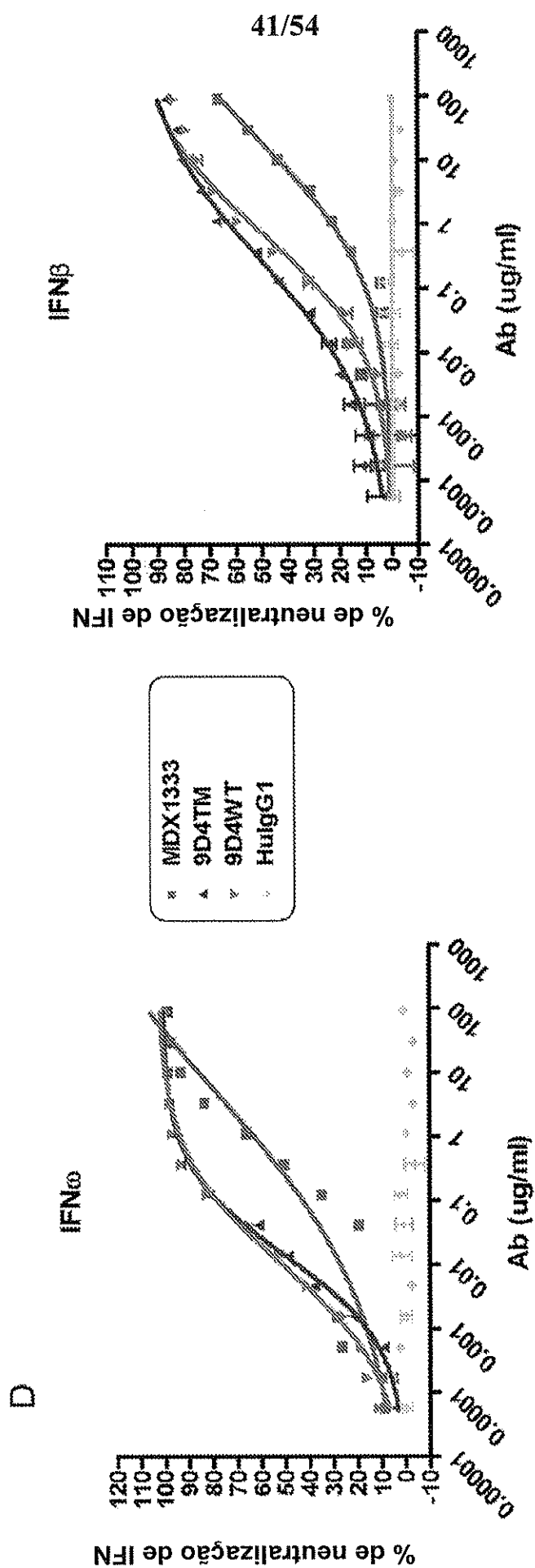


FIGURA 24

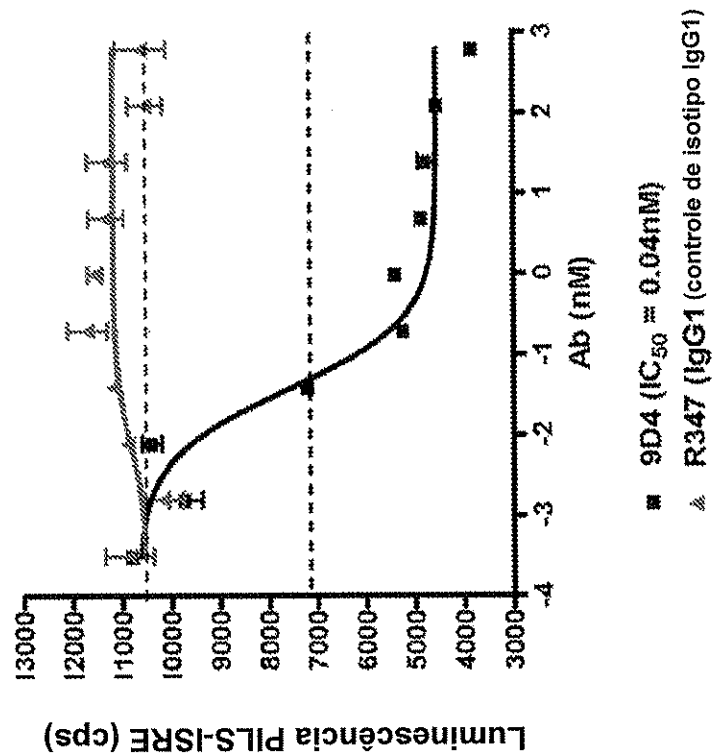


FIGURA 25

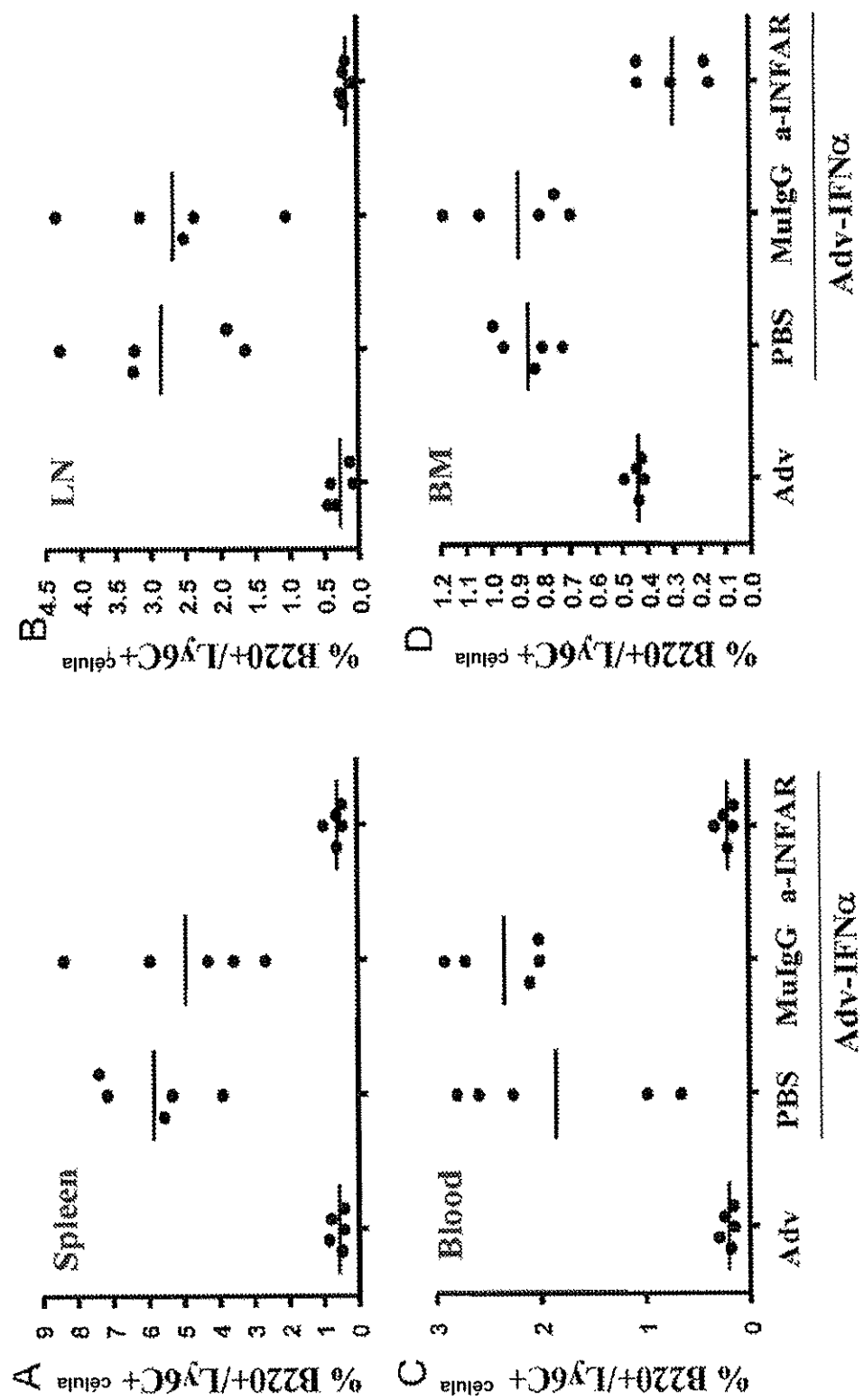


FIGURA 26

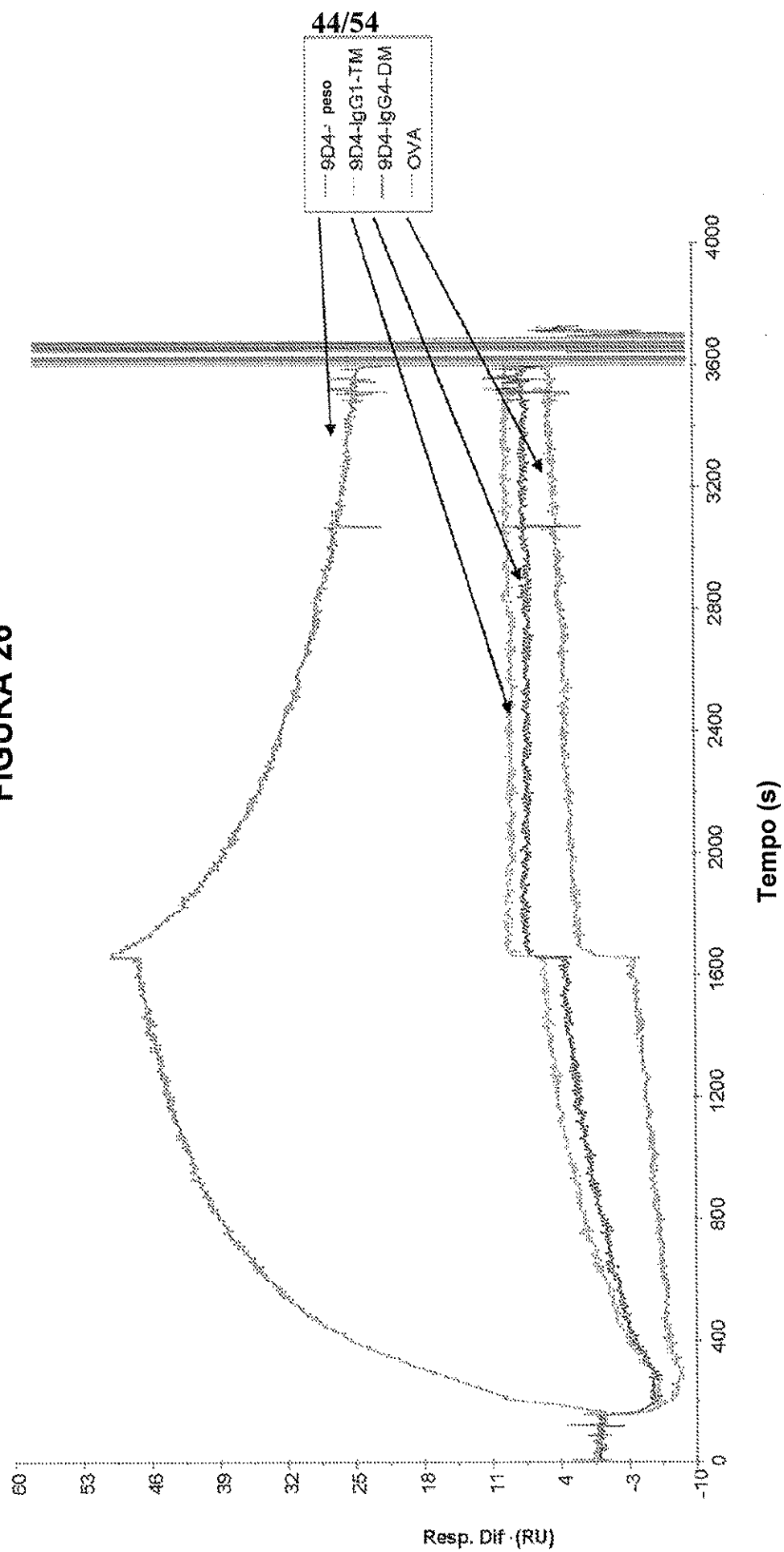
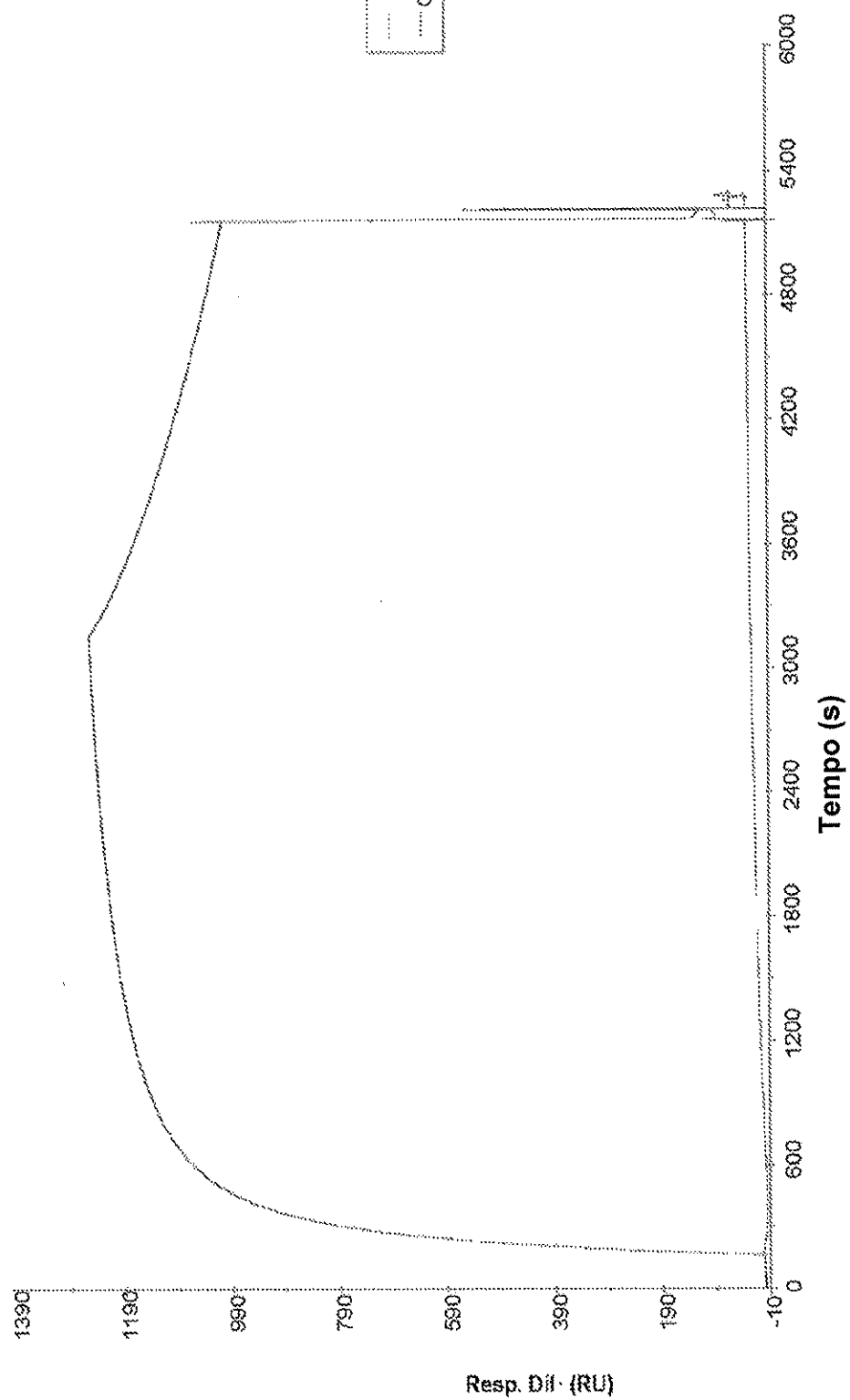


FIGURA 27A



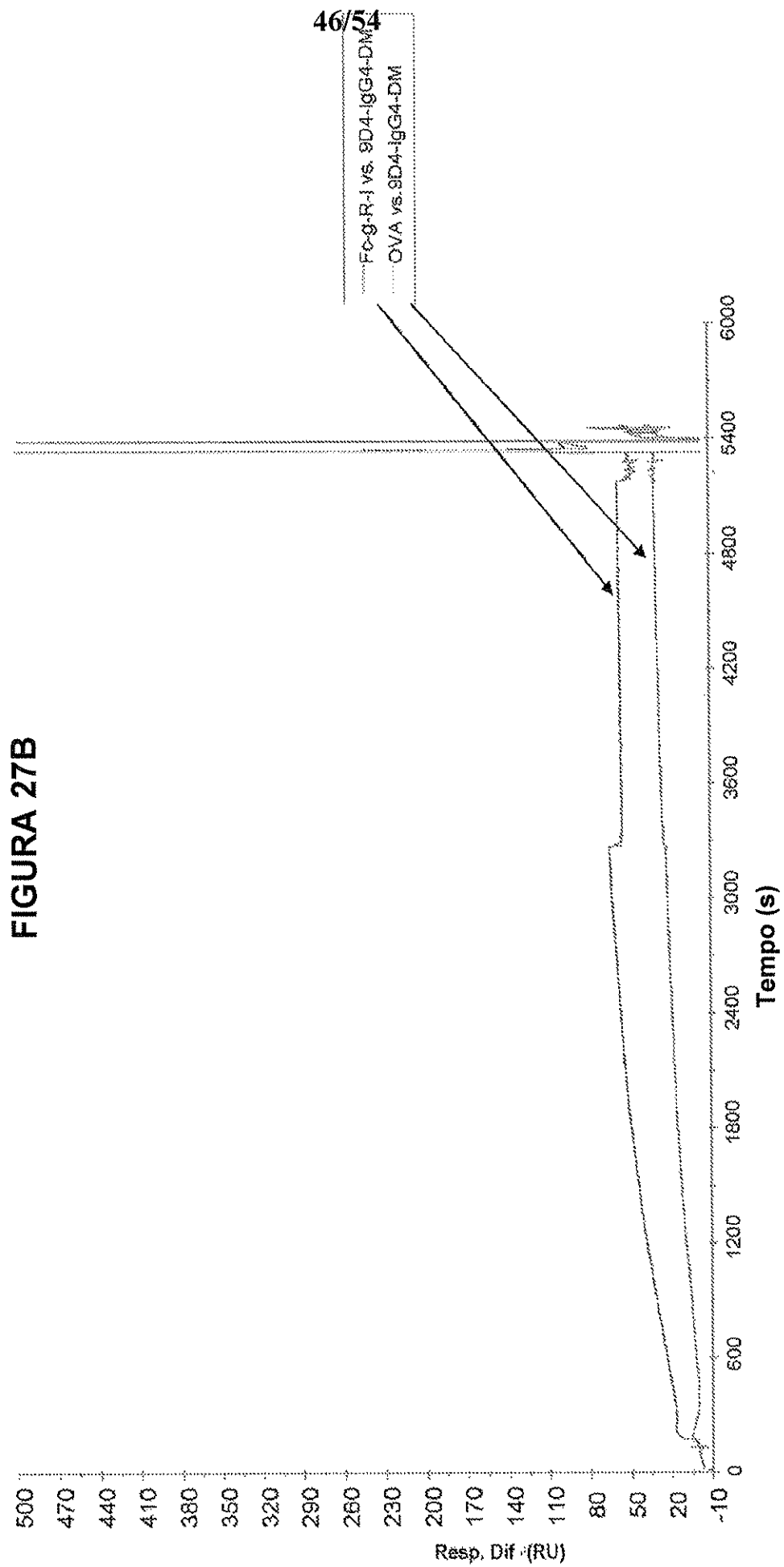


FIGURA 27C

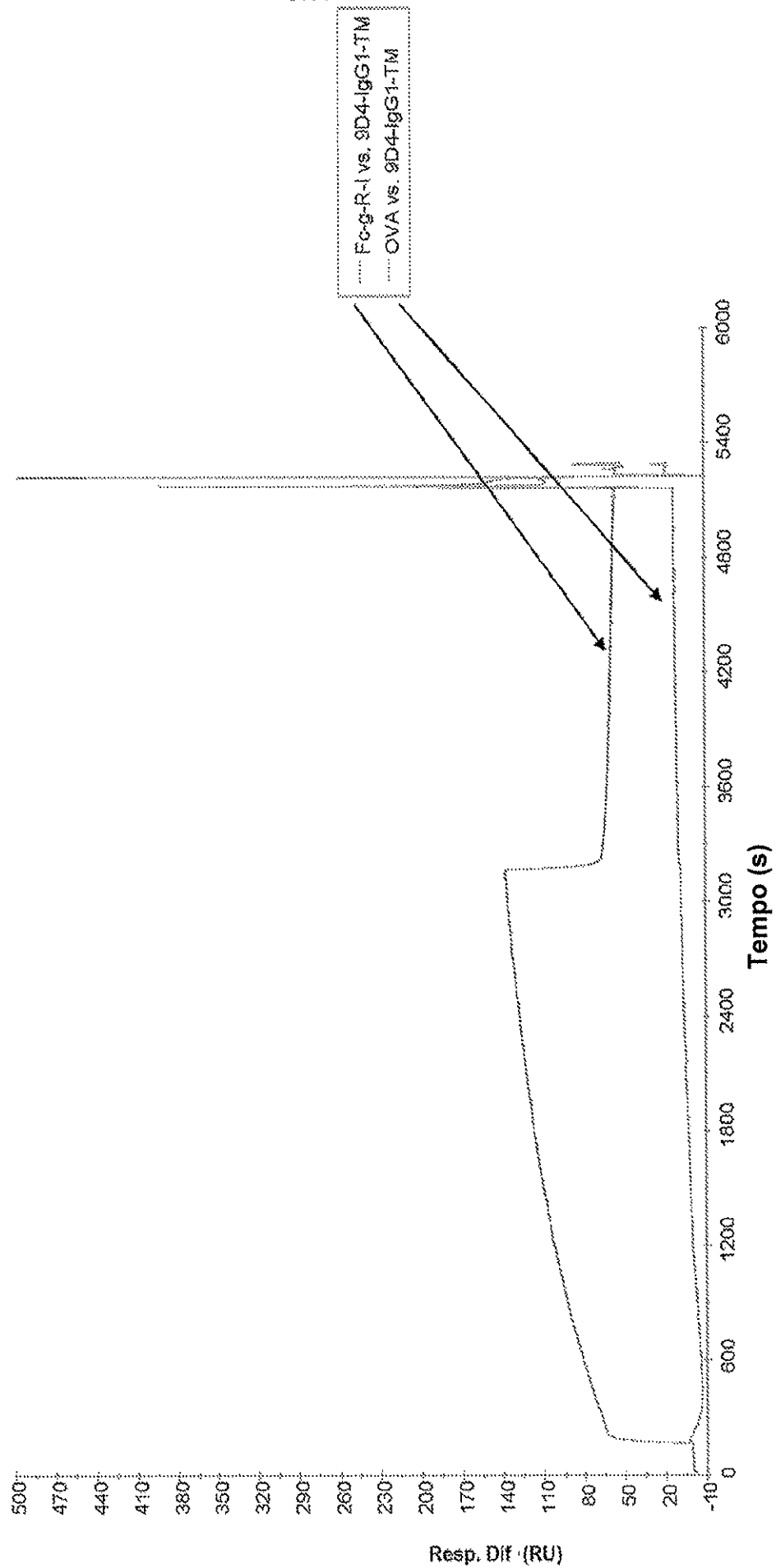
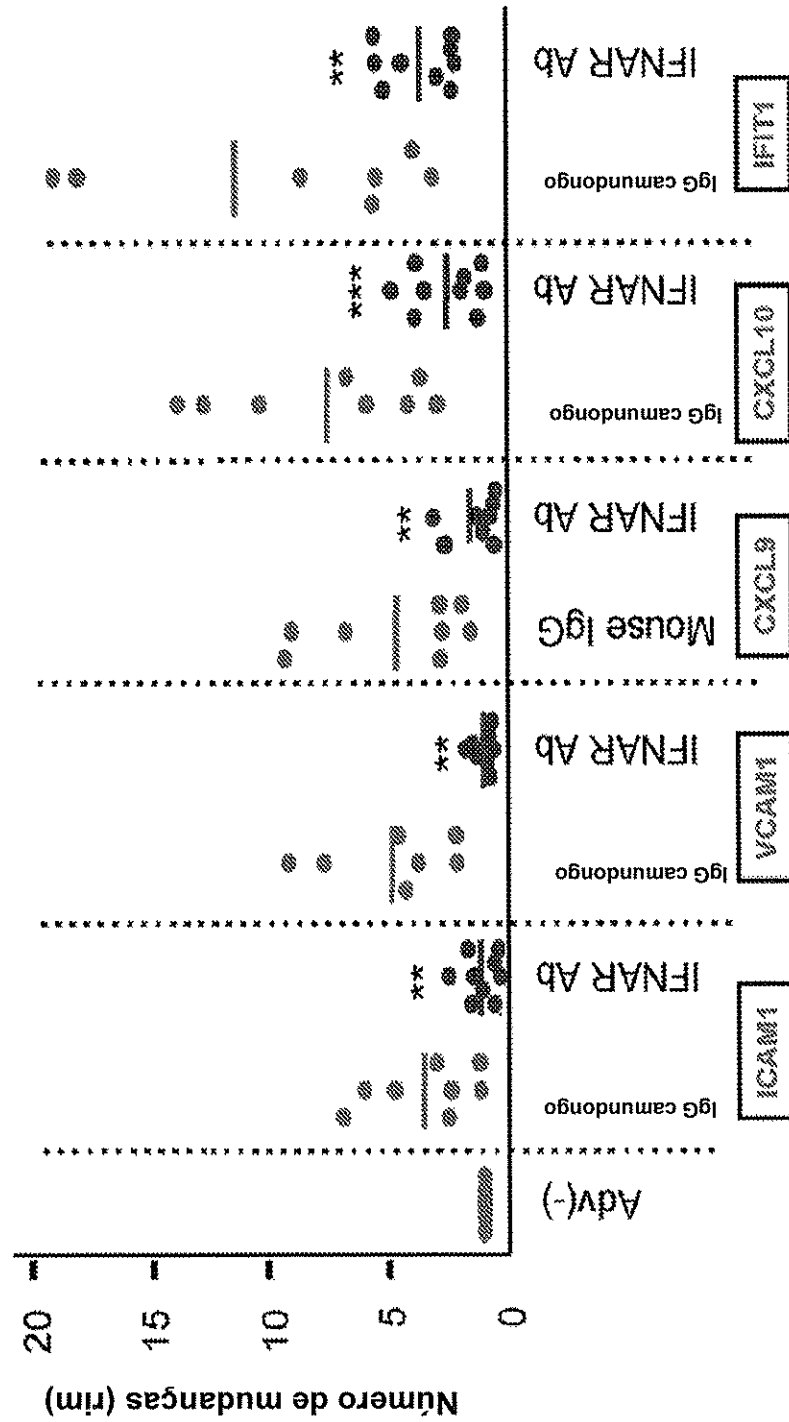


FIGURA 28



Ensaio de taqman para rim em amostras de 8 semanas

FIGURA 29

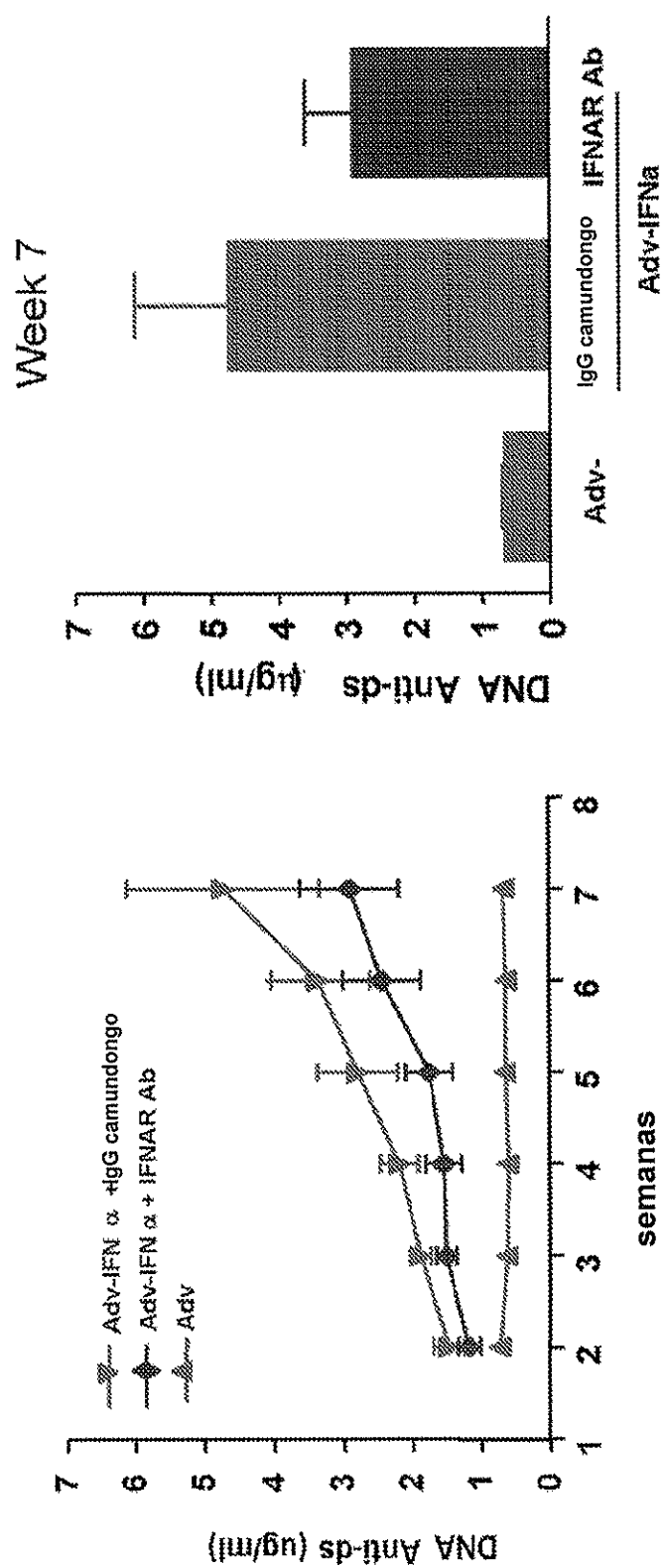
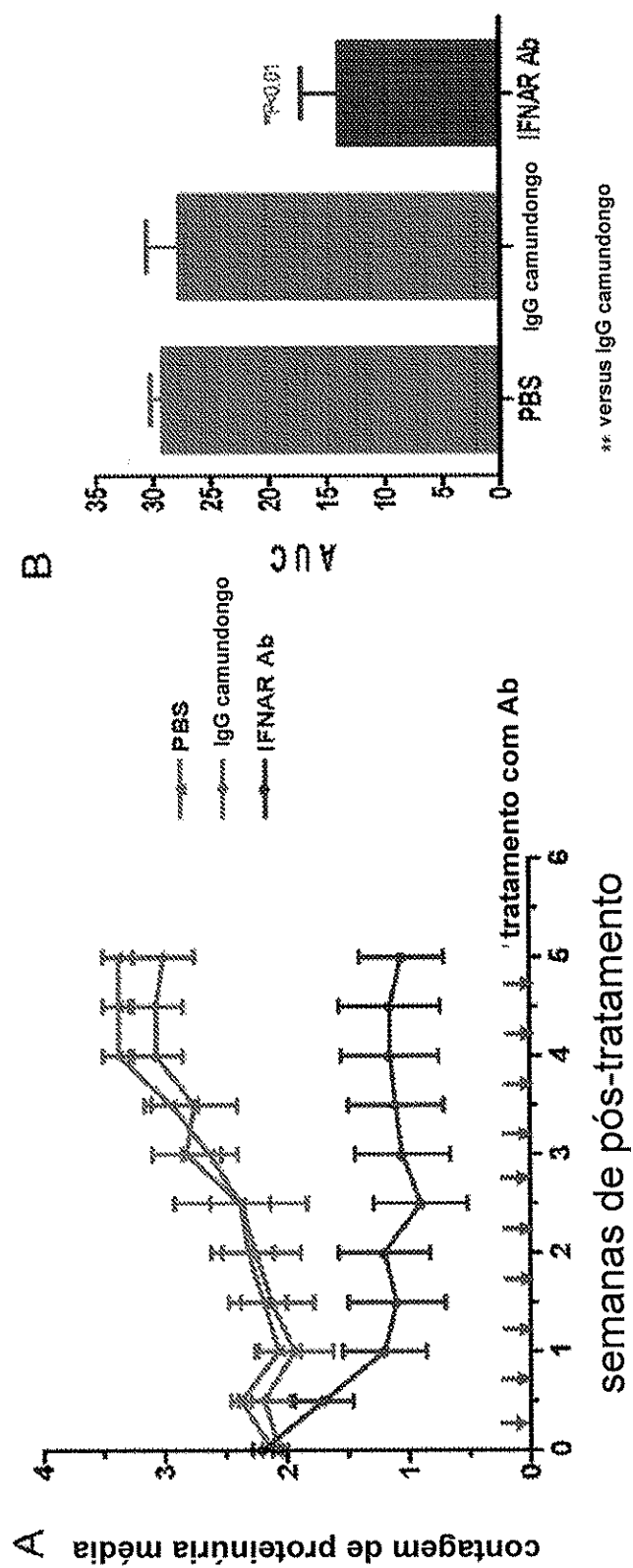
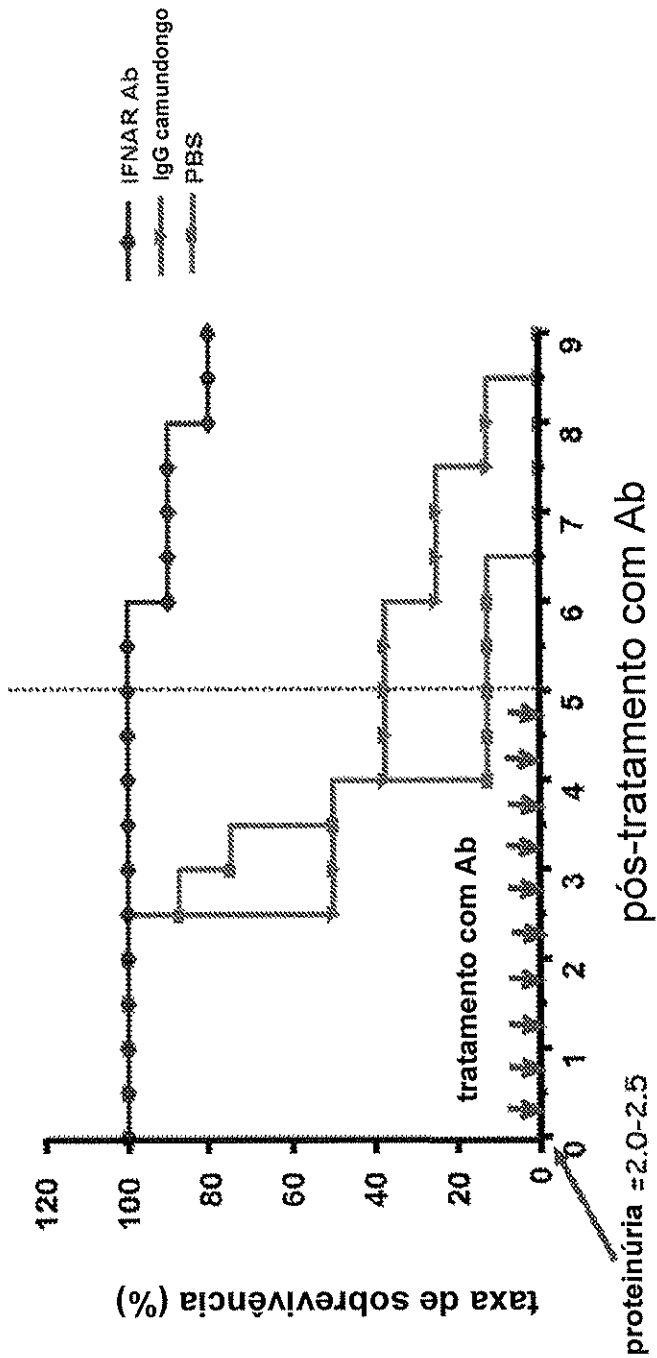


FIGURA 30



• contagem 1,5 = 300mg/dL, contagem 2,0 = 500 mg/dL, contagem 3,5 = morte do animal

FIGURA 31



Tx	% morte por semanas	sem proteinúria em 5 semanas
Adv-IFN α + PBS	7/8 (87.5 %)	0/8 (0%)
Adv-IFN α + IgG camundongo	5/8 (62.5%)	0/8 (0%)
Adv-IFN α + IFNAR Ab	0/8 (0%)	5/10 (50%)

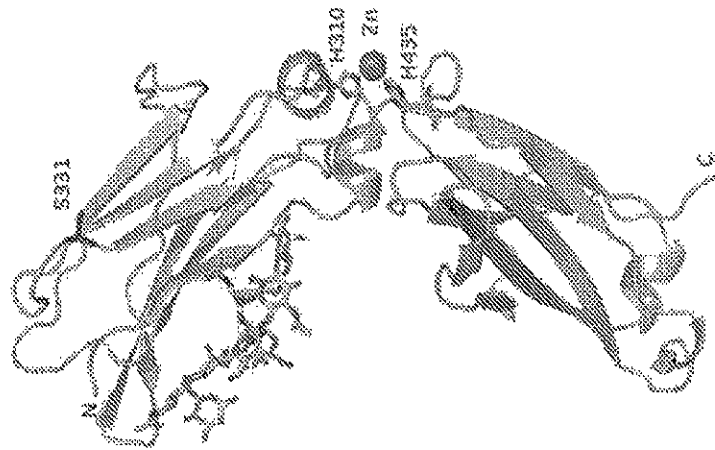
FIGURA 32

FIGURA 33

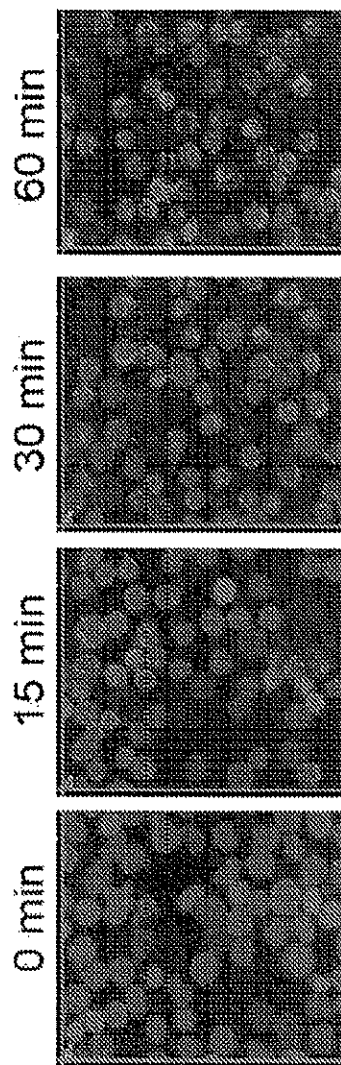


Fig. 34

