



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

(11) BR 112014000263-0 B1



(22) Data do Depósito: 12/07/2012

(45) Data de Concessão: 18/01/2022

(54) Título: ANTICORPO ISOLADO CAPAZ DE SE LIGAR ESPECIFICAMENTE À PROTEÍNA HEMAGLUTININA (HA) DOS SUBTIPOS DE VÍRUS INFLUENZA B, E, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA QUE O COMPREENDE

(51) Int.Cl.: C07K 16/10; A61K 39/42; A61P 31/16.

(30) Prioridade Unionista: 14/07/2011 EP 11173953.8; 14/07/2011 US 61/572,417.

(73) Titular(es): JANSSEN VACCINES & PREVENTION B.V..

(72) Inventor(es): THEODORUS HENDRIKUS JACOBUS KWAKS; DAVID A. T. M. ZUIJDGEEST; RONALD VOGELS; ROBERT HEINZ EDWARD FRIESEN.

(86) Pedido PCT: PCT EP2012063637 de 12/07/2012

(87) Publicação PCT: WO 2013/007770 de 17/01/2013

(85) Data do Início da Fase Nacional: 06/01/2014

(57) Resumo: ANTICORPO ISOLADO OU FRAGMENTO DE LIGAÇÃO DE ANTÍGENO DO MESMO, MOLÉCULA DE ÁCIDO NUCLEICO, E, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA. A presente invenção refere-se às moléculas de ligação, tais como anticorpos monoclonais humanos, que se ligam a um epítopo na região principal de hemaglutinina do vírus influenza A do grupo filogenético 1 e grupo 2, bem como vírus influenza B, e apresentam uma ampla atividade de neutralização contra tais vírus influenza. A descrição fornece moléculas de ácido nucleico que codificam as moléculas de ligação, suas sequências e composições que compreendem as moléculas de ligação. As moléculas de ligação podem ser usadas no diagnóstico, profilaxia e/ou tratamento de vírus influenza A do grupo filogenético 1 e 2, bem como vírus influenza B.

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para
**“ANTICORPO ISOLADO CAPAZ DE SE LIGAR ESPECIFICAMENTE
À PROTEÍNA HEMAGLUTININA (HA) DOS SUBTIPOS DE VÍRUS
INFLUENZA B, E, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA QUE O
COMPREENDE”.**

CAMPO DA INVENÇÃO

[0001] A invenção refere-se à medicina. A invenção refere-se em particular às moléculas humanas de ligação capazes de neutralizar vírus influenza A tanto do grupo filogenético 1 quanto do grupo filogenético 2. Em particular, a invenção refere-se às moléculas de ligação capazes de neutralizar vírus influenza A tanto do grupo filogenético 1 quanto do grupo filogenético 2, bem como vírus influenza B. A invenção refere-se adicionalmente ao diagnóstico, profilaxia e/ou tratamento de uma infecção causada por vírus influenza A do grupo filogenéticos 1 e 2, e preferivelmente também vírus influenza B.

FUNDAMENTOS DA INVENÇÃO

[0002] A infecção por influenza (também referida como "influenza" ou "o flu") é uma das doenças mais comuns conhecidas pelo homem, causando entre três e cinco milhões de casos de enfermidades graves, e entre 250.000 e 500.000 mortes a cada ano em todo o mundo. Influenza espalha-se rapidamente em epidemias sazonais, afetando 5-15 % da população e o ônus nos custos com cuidados de saúde e baixa produtividade é grande (Organização Mundial de Saúde (OMS)).

[0003] Existem 3 tipos de vírus Influenza (tipos A, B e C) responsáveis por patologias infecciosas em humanos e animais. Os vírus tipo A e tipo B são os agentes responsáveis pelas epidemias e pandemias sazonais de influenza observadas em humanos.

[0004] O vírus influenza A pode ser classificado nos subtipos de vírus Influenza com base nas variações em regiões antigênicas de dois genes que codificam as glicoproteínas de superfície

hemaglutinina (HA) e neuraminidase (NA), as quais são exigidas para anexação viral e liberação celular. Atualmente, dezesseis subtipos de HA (H1-H16) e nove NA (N1-N9) variantes antigênicos são conhecidos no vírus influenza A. Os subtipos do vírus Influenza podem ser adicionalmente classificados pela referência no seu grupo filogenético. A análise filogenética (Fouchier et al, 2005) demonstrou uma subdivisão de HAs que compreende dois grupos principais (Air, 1981): inter alia, os subtipos H1, H2, H5 H9 no grupo filogenético 1 (aqui também referido como "grupo 1") e, inter alia, os subtipos H3, H4 e H7 subtipos em grupo filogenético 2 (ou "grupo 2"). Apenas alguns dos subtipos de influenza A (isto é, H1N1, H1N2 e H3N2) circulam entre as pessoas, mas todas as combinações dos 16 subtipos HA e 9 subtipos NA foram identificadas em animais, em particular em espécies aviárias. Os animais infectados com influenza A agem frequentemente como um reservatório para os vírus influenza, e certos subtipos mostram atravessar a barreira de espécies em humanos, tal como a cepa altamente patogênica influenza A H5N1.

[0005] As cepas do vírus influenza tipo B são estritamente humanas. As variações antigênicas em HA nas cepas de vírus influenza tipo B são menos virulentas do que aquelas observadas nas cepas tipo A. Duas linhagens geneticamente e antigenicamente distintas do vírus influenza B são circulantes entre os humanos, da maneira representada pelas linhagens B/Yamagata/16/88 (também referida como B/Yamagata) e B Victoria/2/87 (B Victoria) (Ferguson et al, 2003). Embora o espectro de doença causada pelo vírus influenza B seja em geral menos virulento que aquele causado pelo vírus influenza A, doenças graves que exigem hospitalização ainda são frequentemente observadas na infecção com influenza B.

[0006] As abordagens atuais para lidar com as epidemias anuais de influenza incluem vacinação anual, preferivelmente que gera

proteção cruzada heterotípica. Entretanto, os vírus influenza que circulam entre os humanos são submetidos a mudanças antigênicas permanentes, que exigem adaptação anual da formulação de vacina contra influenza, para garantir a combinação mais próxima possível entre as cepas da vacina influenza e as cepas circulantes de influenza.

[0007] Embora a vacinação anual com vacinas contra influenza seja a melhor maneira de prevenir a influenza, os medicamentos antivirais tal como oseltamivir (Tamiflu®) podem ser eficientes para a prevenção e tratamento da infecção por influenza. No entanto, o número de cepas do vírus Influenza que mostram resistência contra medicamentos antivirais, tal como oseltamivir, é maior.

[0008] Uma abordagem alternativa é o desenvolvimento de tratamentos profiláticos ou terapêuticos a base de anticorpo para neutralizar vários vírus influenza sazonais e pandêmicos. O alvo principal da maioria dos anticorpos neutralizantes que protegem contra infecção pelo vírus Influenza é a cabeça globular (parte HA1) da proteína viral HA, que contém o sítio de ligação receptor, mas que é submetida à contínua evolução genética com substituições de aminoácido em sítios de ligação de anticorpo (movimento antigênico).

[0009] Recentemente, os anticorpos com ampla neutralização cruzada, que reconhecem um epítipo na região principal conservada de hemaglutinina do vírus influenza A do grupo filogenético 1 (incluindo, por exemplo, os subtipos H1 e H5 de influenza), foram identificados (ver, por exemplo, WO2008/028946), bem como os anticorpos de neutralização cruzada que reconhecem um epítipo muito conservado na região principal de HA de vírus influenza A do grupo filogenético 2 (incluindo, por exemplo, os subtipos H3 e H7) (WO 2010/130636). A atividade de neutralização destes anticorpos é restrita ao vírus influenza tanto do grupo 1 quanto do grupo 2. Além disso,

estes anticorpos não são capazes de se ligar e neutralizar o vírus influenza B.

[00010] Além do mais, WO 2010/010466 descreve um anticorpo humano F16 que se liga a hemaglutinina e é capaz de se ligar e neutralizar influenza A subtipos de grupo 1 (incluindo os subtipos H1 e H5) e grupo 2 (incluindo os subtipos H3 e H7). Este anticorpo também não se liga à HA do vírus influenza B.

[00011] Além disso, US 2009/0092620 descreve um anticorpo de murino que reconhece uma estrutura antigênica presente na hemaglutinina tanto do subtipo H1 quanto do H3, e na hemaglutinina do vírus influenza B que pertence aos grupos B/Victoria e B/Yamagata. Os anticorpos inibem a atividade de hemaglutinação de várias cepas H3N2, o que implica que este anticorpo se liga a um epítipo na parte principal globular de HA.

[00012] Em vista da gravidade das doenças respiratórias causadas pelo vírus influenza A e influenza B, bem como o elevado impacto econômico das epidemias sazonais, e o risco contínuo de pandemias, existe uma necessidade contínua de meios eficientes para a prevenção e tratamento de influenza subtipos A e B. Assim, existe uma necessidade de moléculas de ligação, preferivelmente moléculas humanas de ligação que neutralizam de maneira ampla, capazes de realizar neutralização cruzada do vírus influenza A tanto do grupo filogenético 1 quanto do grupo filogenético 2, e preferivelmente também do vírus influenza B.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

[00013] A invenção fornece moléculas de ligação capazes de se ligar especificamente às cepas do vírus influenza A tanto do grupo filogenético 1 (incluindo, por exemplo, vírus influenza que compreende HA do subtipo H1 quanto H5) quanto cepas do vírus influenza A do grupo filogenético 2 (incluindo, por exemplo, vírus influenza que

compreende HA do subtipo H3 e H7). Em uma modalidade, as moléculas de ligação também apresentam atividade de neutralização contra cepas do vírus influenza A a partir tanto do grupo filogenético 1 quanto do grupo filogenético 2. Em uma modalidade, as moléculas de ligação são, além disso, capazes de se ligar especificamente às cepas do vírus influenza B incluindo, por exemplo, cepas do vírus influenza B das linhagens B/Yamagata e/ou B Victoria. Em uma modalidade, as moléculas de ligação são, além disso, capazes de neutralizar cepas do vírus influenza B incluindo, por exemplo, cepas do vírus influenza B das linhagens B/Yamagata e/ou B Victoria. Em uma modalidade, as moléculas de ligação são capazes de neutralizar in vivo as cepas do vírus influenza A e/ou B. Em uma modalidade, as moléculas de ligação se ligam a um epítipo conservado na região principal da proteína HA dos vírus influenza A e B. Em uma modalidade, as moléculas de ligação não apresentam nenhuma atividade de inibição de hemaglutinação (HI).

[00014] A invenção fornece assim moléculas de ligação que se ligam a um epítipo na região principal da proteína hemaglutinina, que é compartilhada entre os subtipos do vírus influenza A no grupo filogenético 1 e subtipos do vírus Influenza no grupo filogenético 2, bem como subtipos do vírus influenza B, e, portanto refere-se as moléculas de ligação que reagem de maneira cruzada tanto entre os subtipos do grupo 1 e grupo 2 dos vírus influenza A e vírus influenza B. A invenção também refere-se às moléculas de ácido nucleico que codificam pelo menos a região de ligação das moléculas humanas de ligação.

[00015] As moléculas de ligação e/ou moléculas de ácido nucleico da invenção são adequadas para uso como um agente universal profilático, de diagnóstico e/ou tratamento para o vírus influenza A e vírus influenza B, independente do subtipo de influenza.

[00016] Pode-se supor que as moléculas de ligação de acordo com a presente invenção se ligam até o momento a epítomos desconhecidos e altamente conservados, os quais não são ou são muito menos propensos ao movimento ou deslocamento antigênico. Em particular, este epítomo é compartilhado entre os vírus influenza que pertencem tanto ao grupo filogenético 1 quanto ao grupo filogenético 2, e os vírus influenza B. É também incluído o uso de moléculas de ligação da invenção para identificar e/ou caracterizar estes epítomos.

[00017] A invenção fornece adicionalmente o uso das moléculas humanas de ligação e/ou das moléculas de ácido nucleico da invenção no diagnóstico, profilaxia e/ou tratamento de um sujeito que apresenta, ou está em risco de desenvolver, uma infecção com o vírus Influenza. Além do mais, a invenção pertence ao uso das moléculas humanas de ligação e/ou das moléculas de ácido nucleico da invenção no diagnóstico/detecção de tais infecções por influenza.

DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

[00018] A figura 1 mostra o bloqueio da mudança conformacional de HAs H1, H5, H9, H3, e H7 por CR91 14. (A) Ligação de FACS de CR9114 a várias conformações - precursor não clivado (HAO); pH neutro, clivado (HA); pH de fusão, clivado (pH de fusão) - de rHA expresso na superfície de A/New Caledonia/20/1999 (H1) A/Viet Nam/1203/2004 (H5), A/Hong Kong/1073/1999 (H9), A/Wisconsin/67/2005 (H3), e A/Netherlands/219/2003 (H7). A ligação é expressa como o percentual de ligação ao rHA não tratado (HAO). (B) A ligação FACS de CR9114 a HA expressa na superfície da maneira anterior, com a exceção de que mAb CR9114 foi adicionada antes da exposição a HAs clivado em um pH de 4,9.

[00019] A figura 2 mostra que MAb CR9114 compete com CR6261 e CR8020 para se ligar a H1 e H3, respectivamente. Os graus

adicionais de ligação dos mAbs indicados em HA imobilizada de A/New Caledonia/20/1999 (H1N1) saturada com 100 nM de CR6261 ou CR9114 (painéis A e B), ou em HÁ imobilizada de A/Wisconsin/67/2005 (H3N2) saturado com 100 nM de CR8020 ou CR91 14 (painéis C e D), medidos usando interferometria em bicamada.

[00020] A figura 3 demonstra a eficiência profilática de CR91 14 no modelo de camundongo com desafio letal com o vírus influenza B (B/Florida/04/2006). A. Curvas de sobrevivência Kaplan-Meier de camundongos tratados intravenosamente tanto com 15 mg/kg CR9114 quanto com veículo controle no dia 1 antes do desafio, seguido por um desafio no dia 0 de 25 LD B/Florida/04/2006. B. Mudança média do peso corporal (%) em relação ao dia 0. As barras representam CI de 95 % da média. Se um camundongo for morto/eutanizado durante o estudo, o último peso corporal observado foi levado em consideração. C. Classificações clínicas medianas. As barras representam variações interquartis. Explicação da classificação clínica: 0=nenhum sinal clínico; 1=revestimento rugoso; 2=revestimento rugoso, menos reativo durante o manuseio; 3=revestimento rugoso, enrolado, respiração forçada, menos reativo durante o manuseio; 4=revestimento rugoso, enrolado, respiração forçada, resposta inativa à manipulação/manuseio.

DESCRIÇÃO DA INVENÇÃO

[00021] As definições dos termos usados na presente invenção são fornecidas a seguir.

[00022] Considera-se que o termo "incluído" ou "incluindo", da maneira aqui usada, é para ser seguido pelas palavras "sem limitação".

[00023] Da maneira aqui usada, o termo "molécula de ligação" refere-se a uma imunoglobulina intacta, incluindo anticorpos

monoclonais, tais como anticorpos humanos monoclonais, quiméricos ou humanizados, ou a um domínio de ligação de antígeno e/ou variável que compreende o fragmento de uma imunoglobulina que compete com a imunoglobulina intacta para a ligação específica no parceiro de ligação da imunoglobulina, por exemplo, HA. Independente da estrutura, o fragmento de ligação de antígeno se liga ao mesmo antígeno que é reconhecido pela imunoglobulina intacta. Um fragmento de ligação de antígeno pode compreender um peptídeo ou polipeptídeo que compreende uma sequência de aminoácidos de pelo menos 2, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 125, 150, 175, 200, ou 250 resíduos de aminoácido contíguos da sequência de aminoácidos da molécula de ligação.

[00024] O termo "molécula de ligação", da maneira aqui usada inclui todas as classes e subclasses de imunoglobulina conhecidas na técnica. Dependendo da sequência de aminoácidos do domínio constante de suas cadeias pesadas, as moléculas de ligação podem ser divididas nas cinco classes principais de anticorpos intactos: IgA, IgD, IgE, IgG e IgM, e várias destas podem ser divididas adicionalmente em subclasses (isotipos), por exemplo, IgA1, IgA2, IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4.

[00025] Os fragmentos de ligação de antígeno incluem, inter alia, Fab, F(ab'), F(ab')₂, Fv, dAb, Fd, fragmentos de região de determinação de complementaridade (CDR), anticorpos de cadeia simples (Fvsc), anticorpos bivalentes de cadeia simples, anticorpos de fago de cadeia simples, diacorpos, triacorpos, tetracorpos, (poli)peptídeos que contêm pelo menos um fragmento de uma imunoglobulina que é suficiente para conferir ligação de antígeno específico ao polipeptídeo, etc. Os fragmentos anteriores podem ser produzidos de maneira sintética ou por clivagem enzimática ou química de imunoglobulina intactas, ou podem ser geneticamente

modificados por técnicas do DNA recombinante. Os métodos de produção são bem conhecidos na técnica e são descritos, por exemplo, em *Antibodies: A Laboratory Manual*, Editado por: E. Harlow e D. Lane (1988), Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, Nova Iorque, que é aqui incorporado pela referência. Uma molécula de ligação ou fragmento de ligação de antígeno desta pode apresentar um ou mais sítios de ligação. Se houver mais de um de sítio de ligação, os sítios de ligação podem ser idênticos uns aos outros, ou podem ser diferentes.

[00026] A molécula de ligação pode ser uma molécula de ligação nua ou não conjugada, mas também pode ser parte de um imunocongugado. Pretende-se que uma molécula de ligação nua ou não conjugada se refira a uma molécula de ligação que não é conjugada, operavelmente ligada ou de outra forma física ou funcionalmente associada a uma fração efetora ou marca, tal como inter alia uma substância tóxica, uma substância radioativa, um lipossomo, uma enzima. Será entendido que as moléculas de ligação nuas ou não conjugadas não excluem as moléculas de ligação que são estabilizadas, multimerizadas, humanizadas ou manipuladas de qualquer outra maneira, sem ser pela anexação de uma fração efetora ou marca. Dessa maneira, todas as moléculas de ligação nuas ou não conjugadas e modificadas pós-translacionalmente são incluídas aqui, incluindo onde as modificações são preparadas no ambiente celular que produz molécula de ligação natural, por uma célula que produz molécula de ligação recombinante, e são introduzidas manualmente após a preparação inicial da molécula de ligação. Certamente, o termo molécula de ligação nua ou não conjugada não exclui a capacidade da molécula de ligação formar associações funcionais com as células e/ou moléculas efetoras após a administração no corpo, uma vez que tais interações são necessárias a fim de exercer um efeito biológico. A

ausência do grupo efetor ou marca associada é aplicada, portanto, na definição da molécula de ligação nua ou não conjugada in vitro, não in vivo.

[00027] Da maneira aqui usada, o termo "amostra biológica" inclui uma variedade de tipos de amostra, incluindo amostras de sangue e outros líquidos de origem biológica, amostras de tecido sólido tal como um espécime de biópsia ou culturas de tecido, ou células derivadas destes e a progênie das mesmas. O termo também inclui amostras que foram manipuladas de qualquer maneira após seu procedimento, tal como por tratamento com reagentes, solubilização ou enriquecimento com certos componentes, tais como proteínas ou polinucleotídeos. O termo inclui vários tipos de amostras clínicas obtidas de qualquer espécie, e também inclui células em cultura, sobrenadantes celulares e lisados celulares.

[00028] O termo "regiões de determinação de complementariedade" (CDR), da maneira aqui usada, significa sequências nas regiões variáveis de moléculas de ligação, tais como imunoglobulinas, que em geral contribuem para uma grande extensão com o de sítio de ligação de antígeno que é complementar na forma e distribuição de carga com o epítipo reconhecido no antígeno. As regiões CDR podem ser específicas para os epítopos lineares, epítopos descontínuos, ou epítopos conformacionais de proteínas ou fragmentos de proteína, tanto presente na proteína em sua conformação natural quanto, em alguns casos, presente nas proteínas desnaturadas, por exemplo, por solubilização em SDS. Os epítopos também podem consistir em modificações pós-translacionais de proteínas.

[00029] O termo "eliminação", da maneira aqui usada, significa uma mudança tanto no aminoácido quanto na sequência de nucleotídeo na qual um ou mais resíduos de aminoácido ou nucleotídeo, respectivamente, estão ausentes, comparado com a referência,

frequentemente a molécula de ocorrência natural.

[00030] O termo "sequência de ácido nucleico que regula a expressão", da maneira aqui usada, refere-se à sequência de polinucleotídeos necessária e/ou que afeta a expressão de uma sequência codificante operavelmente ligada em um organismo hospedeiro particular. As sequências de ácido nucleico que regulam a expressão, tal como inter alia sequências de início de transcrição apropriadas, de finalização, promotoras, melhoradoras; sequências repressoras ou ativadoras; sinais que processam RNA eficiente, tal como sinais de união e poliadenilação; sequências que estabilizam o RNAm citoplasmático; sequências que melhoram a eficiência de tradução (por exemplo, sítios de ligação de ribossomo); sequências que melhoram a estabilidade de proteína e, quando desejado, sequências que melhoram a secreção de proteína, podem ser qualquer sequência de ácido nucleico que exibe atividade no organismo hospedeiro de escolha, e podem ser derivadas de genes que codificam proteínas, as quais são tanto homólogas quanto heterólogas ao organismo hospedeiro. A identificação e emprego de sequências que regulam a expressão é rotina para os versados na técnica.

[00031] O termo "variante funcional", da maneira aqui usada, refere-se a uma molécula de ligação que compreende uma sequência de nucleotídeo e/ou de aminoácidos que é alterada por um ou mais nucleotídeos e/ou aminoácidos, comparada às sequências de nucleotídeos e/ou de aminoácidos da molécula de ligação de referência que é capaz de competir para se ligar ao parceiro de ligação, isto é, o vírus Influenza, com a molécula de ligação de referência. Em outras palavras, as modificações na sequência de aminoácido e/ou de nucleotídeo da molécula de ligação de referência não afetam ou alteram significativamente as características de ligação

da molécula de ligação codificadas pela sequência de nucleotídeo, ou quem contêm a sequência de aminoácidos, isto é, a molécula de ligação ainda é capaz de reconhecer e se ligar a seu alvo. O variante funcional pode apresentar modificações conservativas de sequência, incluindo substituições, adições e eliminações de nucleotídeo e aminoácido. Estas modificações podem ser introduzidas por técnicas padrões conhecidas na tecnologia, tais como mutagênese de sítio direcionada e mutagênese mediada por PCR aleatória, e podem compreender nucleotídeos e aminoácidos naturais, bem como não naturais.

[00032] As substituições de aminoácido conservativas incluem aquelas nas quais o resíduo de aminoácido é substituído por um resíduo de aminoácido com propriedades estruturais e químicas similares. As famílias de resíduos de aminoácido com cadeias laterais similares foram definidas na técnica. Estas famílias incluem aminoácidos com cadeias laterais básicas (por exemplo, lisina, arginina, histidina), cadeias laterais acídicas (por exemplo, ácido aspártico, ácido glutâmico), cadeias laterais polares não carregadas (por exemplo, asparagina, glutamina, serina, treonina, tirosina, cisteína, triptofano), cadeias laterais não polares (por exemplo, glicina, alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenilalanina, metionina), cadeias laterais beta ramificadas (por exemplo, treonina, valina, isoleucina) e cadeias laterais aromáticas (por exemplo, tirosina, fenilalanina, triptofano). Será evidente para os versados na técnica que também outras classificações de famílias de resíduo de aminoácido, além daquelas usadas anteriormente, podem ser empregadas. Além do mais, um variante pode apresentar substituições não conservativas de aminoácido, por exemplo, substituição de um aminoácido por um resíduo de aminoácido que apresenta diferentes propriedades estruturais ou químicas. As variações similares menores também

podem incluir eliminações ou inserções de aminoácido, ou ambas. As orientações para determinar quais resíduos de aminoácido podem ser substituídos, inseridos ou eliminados sem atividade imunológica podem ser encontradas usando programas de computador bem conhecidos na técnica.

[00033] Uma mutação em uma sequência de nucleotídeo pode ser uma alteração única realizada em um locus (uma mutação pontual), tais como mutações de transição ou transversão ou, alternativamente, nucleotídeos múltiplos podem ser inseridos, eliminados ou alterados em um único locus. Além disso, uma ou mais alterações podem ser realizadas em qualquer número de loci em uma sequência de nucleotídeo. As mutações podem ser realizadas por qualquer método adequado conhecido na técnica.

[00034] O termo "subtipo do vírus Influenza", da maneira aqui usada em relação ao vírus influenza A, refere-se aos variantes do vírus influenza A que são caracterizados por várias combinações das proteínas virais de superfície hemaglutinina (H) e neuramidase (N). De acordo com a presente invenção, os subtipos do vírus Influenza podem ser referidos pelo número H tal como, por exemplo, "vírus Influenza que compreende HA do subtipo H1 ou H3", ou "vírus Influenza H1", "vírus Influenza H3", ou por uma combinação de um número H e um número N tal como, por exemplo, "subtipo do vírus Influenza H3N2" ou "H3N2".

[00035] O termo "subtipo" do vírus Influenza inclui especificamente todas as "cepas" individuais dos vírus Influenza em cada subtipo, o que em geral resulta de mutações e mostra diferentes perfis patogênicos. Tais cepas também podem ser referidas como vários "isolados" de um subtipo viral. Dessa maneira, da maneira aqui usada, os termos "cepas" e "isolados" podem ser usados indiferentemente. A nomenclatura atual para as cepas ou isolados de vírus Influenza de

humanos inclui a localização geográfica do primeiro isolamento, número da cepa e ano de isolamento, em geral com a descrição antigênica de HA e NA fornecida entre parênteses, por exemplo, A Moscow/10/00 (H3N2). As cepas não humanas também incluem o hospedeiro de origem na nomenclatura.

[00036] O termo "neutralização", da maneira aqui usada, em relação às moléculas de ligação da invenção referem-se às moléculas de ligação que inibem um vírus Influenza de infectar de maneira replicável uma célula alvo, independente do mecanismo pelo qual a neutralização é atingida. Assim, a neutralização pode ser, por exemplo, atingida inibindo a anexação ou adesão do vírus na superfície celular, ou por inibição da fusão de membranas virais e celulares, após a anexação do vírus na célula alvo, e similares.

[00037] O termo "neutralização cruzada" ou "neutralização cruzada", da maneira aqui usada em relação às moléculas de ligação da invenção, refere-se à capacidade das moléculas de ligação da invenção em neutralizar diferentes subtipos de vírus influenza A e/ou B.

[00038] O termo "hospedeiro", da maneira aqui usada, é pretendido para se referir a um organismo ou uma célula na qual um vetor, tal como um vetor de clonagem ou um vetor de expressão, foi introduzido. O organismo ou célula pode ser procarioto ou eucarioto. Preferivelmente, os hospedeiros isolados são células hospedeiras, por exemplo, células hospedeiras em cultura. O termo "células hospedeiras" significa apenas que as células são modificadas para a (super)-expressão das moléculas de ligação da invenção, e incluem células B que expressam originalmente estas moléculas de ligação e cujas células foram modificadas para super-expressar a molécula de ligação por imortalização, amplificação, melhoria de expressão etc. Pode-se entender que o termo hospedeiro é pretendido para se referir

não apenas ao organismo ou célula em particular, mas igualmente à progênie de um organismo ou célula como esta. Em decorrência de certas modificações poderem ocorrer em gerações sucessivas em virtude tanto de mutação quanto de influências ambientais, tal progênie pode não ser, de fato, idêntica ao organismo ou célula parental, mas ainda é incluída no escopo do termo "hospedeiro", da maneira aqui usada.

[00039] O termo "humano", quando aplicado às moléculas de ligação da maneira aqui definida, refere-se às moléculas que são tanto diretamente derivadas de um humano quanto baseadas em uma sequência da linhagem germinal humana. Quando uma molécula de ligação é derivada ou baseada em uma sequência humana e subsequentemente modificada, ainda é considerada humana, da maneira usada em toda a especificação. Em outras palavras, o termo humano, quando aplicado às moléculas de ligação, é pretendido para incluir moléculas de ligação com regiões variáveis e constantes derivadas de sequências de imunoglobulina da linha germinal humana, ou baseadas nas regiões variáveis ou constantes que ocorrem em um humano ou linfócito humano, e são modificadas de alguma forma. Assim, as moléculas humanas de ligação pode incluir resíduos de aminoácido não codificados pelas sequências de imunoglobulina da linhagem germinativa humana, compreendem substituições e/ou eliminações (por exemplo, mutações introduzidas, por exemplo, por mutagênese aleatória ou de sítio específica in vitro, ou por mutação somática in vivo). "Com base em", da maneira aqui usada, refere-se à situação que uma sequência de ácido nucleico pode ser exatamente copiada de um molde, ou com menos mutações, tais como por métodos de PCR propensa ao erro, ou realizada sinteticamente, combinando o molde de maneira exata ou com menos modificações.

[00040] O termo "inserção", também conhecido como o termo

"adição", significa uma alteração em uma sequência de aminoácidos ou nucleotídeos que resulta na adição de um ou mais resíduos de aminoácido ou nucleotídeo, respectivamente, comparada à sequência parental.

[00041] O termo "isolado", quando aplicado às moléculas de ligação da maneira aqui definida, refere-se às moléculas de ligação que são substancialmente livres de outras proteínas ou polipeptídeos, particularmente livres de outras moléculas de ligação com diferentes especificidades antigênicas, e são também substancialmente livres de outro material celular e/ou produtos químicos. Por exemplo, quando as moléculas de ligação são produzidas de maneira recombinante, elas são preferivelmente substancialmente livres de componentes de meio de cultura, e quando as moléculas de ligação são produzidas por síntese química, elas são preferivelmente substancialmente livres de precursores químicos ou outros produtos químicos, isto é, são separadas de precursores químicos ou outros produtos químicos que estão envolvidos na síntese da proteína. O termo "isolado", quando aplicado às moléculas de ácido nucleico que codificam moléculas de ligação da maneira aqui definida, é pretendido para se referir às moléculas de ácido nucleico em que a sequência de nucleotídeos que codifica as moléculas de ligação são livres de outra sequência de nucleotídeos, particularmente sequência de nucleotídeos que codifica moléculas de ligação que se ligam a outros parceiros de ligação. Além do mais, o termo "isolado" refere-se às moléculas de ácido nucleico que são substancialmente separadas de outros componentes celulares que acompanham naturalmente a molécula de ácido nucleico natural em seu hospedeiro natural, por exemplo, ribossomos, polimerases, ou sequências genômicas com a qual estão naturalmente associadas.

[00042] Além disso, moléculas de ácido nucleico "isoladas", tais como moléculas de DNAC, podem ser substancialmente livres de

outros material celular, ou meio de cultura quando produzidas por técnicas recombinantes, ou substancialmente livres de precursores químicos ou outros produtos químicos quando sintetizadas quimicamente.

[00043] O termo "anticorpo monoclonal", da maneira aqui usada, refere-se a uma preparação de moléculas de anticorpo de especificidade única. Um anticorpo monoclonal exibe uma especificidade de ligação única e afinidade por um epítipo particular. Dessa maneira, o termo "anticorpo monoclonal humano" refere-se a um anticorpo que exibe uma especificidade de ligação que apresenta regiões variáveis e constantes derivadas ou baseadas em sequências de imunoglobulina de linhagem germinativa humana, derivadas de sequências completamente sintéticas. O método de preparar o anticorpo monoclonal não é relevante para a especificidade de ligação.

[00044] O termo "de ocorrência natural", da maneira aqui usada e aplicada a um objeto, refere-se ao fato de que um objeto ou composto pode ser encontrado na natureza. Por exemplo, um polipeptídeo ou sequência de polinucleotídeo que está presente em um organismo que pode ser isolado de uma fonte na natureza, e que não foi intencionalmente modificado pelo homem no laboratório, é de ocorrência natural.

[00045] O termo "molécula de ácido nucleico", da maneira usada na presente invenção, refere-se a uma forma polimérica de nucleotídeos e inclui tanto fitas sentido quanto antessentido de RNA, DNAC, DNA genômico e polímeros de formas sintéticas e mistas dos anteriores. Um nucleotídeo refere-se a um ribonucleotídeo, desoxinucleotídeo ou uma forma modificada de cada tipo de nucleotídeo. O termo também inclui as formas de DNA de fita simples e dupla. Além disso, um polinucleotídeo pode incluir tanto os nucleotídeos de ocorrência natural quanto os modificados ligados pelas ligações de nucleotídeo de

ocorrência natural e/ou de ocorrência não natural. As moléculas de ácido nucleico podem ser modificadas quimicamente ou bioquimicamente, ou podem conter bases de nucleotídeo não natural ou derivadas, uma vez que será facilmente entendido pelos versados na técnica. Tais modificações incluem, por exemplo, marcas, metilação, substituição de um ou mais dos nucleotídeos de ocorrência natural com um análogo, modificações internucleotídeo tais como ligações não carregadas (por exemplo, metil fosfonatos, fosfotriésteres, fosforamidatos, carbamatos, etc.), ligações carregadas (por exemplo, fosforotioatos, fosforoditioatos, etc.), frações pendentes (por exemplo, polipeptídeos), intercalantes (por exemplo, acridina, psoraleno, etc.), quelantes, alquiladores, e ligações modificadas (por exemplo, ácidos nucleicos alfa anoméricos, etc.). O termo anterior também é pretendido para incluir qualquer conformação topológica, incluindo conformações de fita simples, de fita dupla, parcialmente em duplex, triplex, em forma de granpo, circular e em forma de cadeado. São também incluídas as moléculas sintéticas que mimetizam polinucleotídeos em sua capacidade de se ligar a uma determinada sequência, por meio da ligação de hidrogênio e outras interações químicas. Tais moléculas são conhecidas na técnica e incluem, por exemplo, aquelas nas quais as ligações de peptídeo substituem as ligações fosfato na parte principal da molécula. Uma referência a uma sequência de ácido nucleico inclui seu complemento, a menos que de outra forma especificada. Assim, uma referência a uma molécula de ácido nucleico com uma sequência particular pode ser entendida para incluir sua fita complementar, com sua sequência complementar. A fita complementar também é usada, por exemplo, para terapia antissentido, sondas de hibridização e oligonucleotídeos iniciadores de PCR.

[00046] O termo "operavelmente ligado" refere-se a dois ou mais

elementos de sequência de ácido nucleico que são em geral fisicamente ligados, e estão em uma relação funcional um com o outro. Por exemplo, um promotor é operavelmente ligado a uma sequência codificante, se o promotor for capaz de iniciar ou regular a transcrição ou expressão de uma sequência codificante, em que no caso a sequência codificante pode ser entendida como estando "no controle do" promotor.

[00047] "Excipiente farmacêuticamente aceitável" significa qualquer substância inerte que é combinada com uma molécula ativa, tal como um medicamento, agente, ou molécula de ligação para preparar uma forma de dosagem confiável ou conveniente. O "excipiente farmacêuticamente aceitável" é um excipiente que não é tóxico aos receptores nas dosagens e concentrações usadas, e é compatível com outros ingredientes da formulação que compreende o medicamento, agente ou molécula de ligação. Os excipientes farmacêuticamente aceitáveis são amplamente aplicáveis e conhecidos na técnica.

[00048] O termo "que se liga especificamente", da maneira aqui usada, em referência à interação de uma molécula de ligação, por exemplo, um anticorpo e seu parceiro de ligação, por exemplo, um antígeno, significa que a interação é dependente da presença de uma estrutura particular, por exemplo, um determinante ou epítipo antigênico no parceiro de ligação. Em outras palavras, o anticorpo se liga preferivelmente ou reconhece o parceiro de ligação mesmo quando o parceiro de ligação está presente em uma mistura de outras moléculas ou organismos. A ligação pode ser mediada por interações covalentes ou não covalentes, ou uma combinação de ambos. Ainda em outras palavras, o termo "que se liga especificamente" significa que se liga imuno especificamente a um determinante antigênico ou epítipo e que não se liga imuno especificamente a outros determinantes antigênicos ou epítipos. Uma molécula de ligação que se liga

imunoespecificamente a um antígeno pode se ligar a outros peptídeos ou polipeptídeos com menor afinidade, da maneira determinada, por exemplo, por radioimunoensaios (RIA), ensaios imunoabsorção ligados à enzima (ELISA), BIACORE, ou outros ensaios conhecidos na técnica. As moléculas de ligação ou fragmentos destas que se ligam imunoespecificamente a um antígeno podem apresentar reação cruzada com antígenos relacionados, que carregam o mesmo epítopo.

[00049] Preferivelmente, as moléculas de ligação ou fragmentos desta que se ligam imunoespecificamente a um antígeno não reagem de maneira cruzada com outros antígenos.

[00050] Uma "substituição", da maneira aqui usada, significa a substituição de um ou mais aminoácidos ou nucleotídeos por diferentes aminoácidos ou nucleotídeos, respectivamente.

[00051] O termo "quantidade terapeuticamente eficiente" refere-se a uma quantidade da molécula de ligação da maneira aqui definida que é eficiente para prevenir, melhorar e/ou tratar uma condição que resulta da infecção com um vírus influenza B. A melhora, da maneira aqui usada, pode se referir à redução de sintomas de doença visíveis ou perceptíveis, viremia, ou qualquer outra manifestação mensurável da infecção por influenza.

[00052] O termo "tratamento" refere-se ao tratamento terapêutico, bem como medidas profiláticas ou preventivas para curar, ou interromper, ou pelo menos retardar o progresso da doença. Aqueles que precisam de tratamento incluem aqueles que já sofrem com uma condição que resulta de infecção com vírus Influenza, bem como aqueles em que a infecção com vírus Influenza deve ser prevenida. Os indivíduos parcialmente ou totalmente recuperados de infecção com vírus Influenza também pode precisar de tratamento. A prevenção inclui inibir ou reduzir a dispersão do vírus Influenza ou inibir ou reduzir o início, desenvolvimento ou progressão de um ou mais dos sintomas

associados com infecção com vírus Influenza.

[00053] O termo "vetor" significa uma molécula de ácido nucleico na qual uma segunda molécula de ácido nucleico pode ser inserida para introdução em um hospedeiro onde esta será replicada, e em alguns casos expressa. Em outras palavras, um vetor é capaz de transportar uma molécula de ácido nucleico na qual está ligado. A clonagem, bem como os vetores de expressão são contemplados pelo termo "vetor", da maneira aqui usada. Os vetores incluem, mas sem limitação, plasmídeos, cosmídeos, cromossomos bacterianos artificiais (BAC), e cromossomos de levedura artificiais (YAC) e vetores derivados de bacteriófagos, ou vírus de planta, ou animal (incluindo humano). Os vetores compreendem uma origem de replicação reconhecida pelo hospedeiro proposto, e no caso de vetores de expressão, regiões promotoras e outras regulatórias reconhecidas pelo hospedeiro. Um vetor que contém uma segunda molécula de ácido nucleico é introduzido em uma célula por transformação, transfecção, ou preparando o uso de mecanismos virais de entrada. Certos vetores são capazes de replicação autônoma em um hospedeiro no qual eles são introduzidos (por exemplo, vetores com uma origem de replicação bacteriana podem se replicar em bactérias). Outros vetores podem ser integrados no genoma de um hospedeiro mediante a introdução no hospedeiro, e são replicados por meio disso junto com o genoma do hospedeiro.

DESCRIÇÃO DETALHADA

[00054] Em um primeiro aspecto, a presente invenção inclui moléculas de ligação capazes de se ligar especificamente a hemaglutinina (HA) de vírus influenza A subtipos do grupo filogenético 1 e vírus influenza A subtipos do grupo filogenético 2. Em uma modalidade, as moléculas de ligação são capazes de neutralizar vírus influenza A subtipos tanto do grupo filogenético 1 quanto do grupo

filogenético 2. As moléculas de ligação da invenção são assim exclusivas, nas quais são capazes de neutralização cruzada com cepas do grupo 1 do vírus influenza A e cepas do grupo 2 do vírus influenza A. Em uma modalidade, as moléculas de ligação são capazes de neutralizar pelo menos um ou mais, preferivelmente dois ou mais, preferivelmente três ou mais, preferivelmente quatro ou mais, ainda mais preferivelmente cinco ou mais subtipos do grupo 1 do vírus influenza A selecionados do grupo que consiste no subtipo H1, H2, H5, H6, H8, H9 e H11, e pelo menos um ou mais, preferivelmente dois ou mais, preferivelmente três ou mais subtipos do grupo 2 de vírus influenza A selecionados do grupo que consiste no subtipo H3, H4, H7 e H10. Em uma modalidade, as moléculas de ligação são capazes de se ligar especificamente à hemaglutinina (HA) dos subtipos de vírus influenza B. Em uma outra modalidade, as moléculas de ligação são capazes de neutralizar vírus influenza B. Em uma modalidade, as moléculas de ligação são capazes de neutralizar in vivo o vírus influenza A e/ou B. As cepas do vírus influenza A e B podem ser tanto cepas do vírus Influenza humano quanto não humano (isto é, obtidas de animais não humanos, por exemplo aves).

[00055] Preferivelmente, as moléculas de ligação são moléculas humanas de ligação. Em uma modalidade preferida, as moléculas de ligação são anticorpos humanos, ou fragmentos de ligação de antígeno destes.

[00056] Em uma modalidade, as moléculas de ligação são derivadas do gene da linhagem germinativa VH1-69. Assim, as moléculas de ligação usam toda a estrutura codificada pela linhagem germinativa VH1-69.

[00057] Em uma modalidade, a interação de ligação das moléculas de ligação, preferivelmente o anticorpo, e HA é mediada exclusivamente pelas sequências de cadeia pesada variável.

[00058] Em uma modalidade, as moléculas de ligação compreendem uma cadeia pesada CDR1 que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 133 ou SEQ ID NO: 139, uma cadeia pesada CDR2 que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 134, SEQ ID NO: 140 ou SEQ ID NO: 151, e uma cadeia pesada CDR3 que compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste em SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 141, SEQ ID NO: 145, SEQ ID NO: 152, SEQ ID NO: 161, e SEQ ID NO: 162. As regiões CDR de moléculas de ligação da invenção são mostradas na tabela 7. As regiões CDR são de acordo com Kabat et al. (1991), da maneira descrita em Sequências de Proteínas de Interesse Imunológico.

[00059] Os vírus influenza infectam células se ligando aos resíduos de ácido siálico na superfície celular de células alvo, e a seguir transferem para os endossomos, fundindo suas membranas com as membranas endossomais e liberando o complexo genoma-transcriptase na célula. Tanto os processos de ligação do receptor quanto de fusão de membrana são mediados pela glicoproteína HA. A HA do vírus Influenza A compreende duas regiões estruturalmente distintas, isto é, uma região principal globular que contém um de sítio de ligação receptor, que é responsável pela anexação do vírus na célula alvo e está envolvida na atividade de hemaglutinação de HA, e uma região principal que contém um peptídeo de fusão que é necessário para a fusão de membrana entre o envelope viral e a membrana endossomal da célula. A proteína HA é um trímero no qual cada monômero consiste em dois glicopolipeptídeos ligados a dissulfeto, HA1 e HA2, que são produzidos durante a infecção por clivagem proteolítica de um precursor (HA0). A clivagem é necessária para a infectividade do vírus, uma vez que é exigida para preparar a HA na fusão de membrana, para permitir mudança conformacional.

[00060] A ativação da molécula preparada ocorre em pH baixo nos endossomos, entre pH 5 e pH 6, e exige mudanças extensivas na estrutura de HA. Cada um dos estágios na preparação e ativação de HA para sua participação no processo de fusão de membrana apresenta um alvo diferente para inibição, por exemplo, por anticorpos monoclonais. Em uma modalidade, as moléculas de ligação são capazes de bloquear as mudanças conformacionais induzidas por pH em HA associadas com fusão de membrana.

[00061] As moléculas de ligação da invenção podem ser capazes de se ligar especificamente à subunidade de HAO, HA1 e/ou HA2 de o HA proteína. Podem ser capazes de se ligar especificamente aos epítomos lineares, ou estruturais e/ou conformacionais em HAO, HA1 e/ou HA2 da proteína HA. A molécula HA pode ser purificada a partir do vírus ou produzida recombinantemente, e opcionalmente isolada antes do uso. Alternativamente, HA pode ser expressa na superfície das células. Em uma modalidade, as moléculas de ligação da invenção são capazes de se ligar especificamente a um epítomo na região principal de HA. Em uma modalidade, as moléculas de ligação se ligam a um epítomo que é acessível na conformação de pré-fusão de HA.

[00062] As moléculas de ligação da invenção podem ser capazes de se ligar especificamente aos vírus influenza que são viáveis, vivos e/ou infectivos, ou que estão na forma inativada/atenuada. Os métodos para inativar/atenuar vírus, por exemplo, vírus influenza, são bem conhecidos na técnica e incluem, mas sem limitação, tratamento com formalina, β -propiolactona (BPL), mertiolate e/ou luz ultravioleta.

[00063] As moléculas de ligação da invenção também podem ser capazes de se ligar especificamente a um ou mais fragmentos dos vírus influenza, tal como inter alia uma preparação de uma ou mais proteínas e/ou (poli)peptídeos derivados dos subtipos de vírus

influenza A e/ou B, ou uma ou mais proteínas e/ou polipeptídeos dos vírus influenza A e/ou B produzidos de maneira recombinante. O nucleotídeo e/ou sequência de aminoácidos de proteínas de várias cepas de influenza A e B pode ser encontrado na base de dados GenBank, base de dados NCBI Virus Influenza Sequence, base de dados Influenza Sequence (ISD), base de dados EMBL e/ou outras bases de dados. Também está a alcance dos versados na técnica encontrar tais sequências nas respectivas bases de dados.

[00064] Em uma outra modalidade, as moléculas de ligação da invenção são capazes de se ligar especificamente a um fragmento das proteínas e/ou polipeptídeos anteriormente mencionados, em que o fragmento pelo menos compreende um epítopo reconhecido pelas moléculas de ligação da invenção. Um "epítopo" da maneira aqui usada é uma fração que é capaz de se ligar a uma molécula de ligação da invenção com elevada afinidade suficiente para formar um complexo detectável de antígeno-molécula de ligação.

[00065] As moléculas de ligação da invenção podem ou não ser capazes de se ligar especificamente à parte extracelular de HA (também denominada aqui HA solúvel (HAs)).

[00066] As moléculas de ligação da invenção podem ser moléculas de imunoglobulina intacta, tais como anticorpos policlonais ou monoclonais, ou as moléculas de ligação podem ser fragmentos de ligação de antígeno destas incluindo, mas sem limitação, regiões variáveis de cadeia pesada e leve, Fab, F(ab'), F(ab')₂, Fv, dAb, Fd, fragmentos de região de determinação de complementaridade (CDR), anticorpos de cadeia simples (Fvsc), anticorpos bivalentes de cadeia simples, anticorpos de fago de cadeia simples, diacorpos, triacorpos, tetracorpos, e (polipeptídeos que contêm pelo menos um fragmento de uma imunoglobulina, que é suficiente para conferir ligação de antígeno específico às cepas de vírus Influenza ou um fragmento destas. Em

uma modalidade preferida as moléculas de ligação da invenção são anticorpos monoclonais humanos, e/ou fragmentos de ligação de antígeno destes. As moléculas de ligação também podem ser Nanobodies, alfacorpos, affibodies, estruturas de domínio FN3 e outras estruturas baseadas em domínios em proteínas de repetição (humanas) como adnectinas, anticalinas, darpinas, etc, ou outras estruturas que compreendem sequências de ligação de epítopo.

[00067] As moléculas de ligação da invenção podem ser usadas na forma não isolada ou isolada. Além do mais, as moléculas de ligação da invenção podem ser usadas sozinhas ou em uma mistura que compreende pelo menos uma molécula de ligação (ou variante ou fragmento deste) da invenção, e/ou com outras moléculas de ligação que se ligam a influenza e apresentam efeito de inibição do vírus Influenza. Em outras palavras, as moléculas de ligação podem ser usadas em combinação, por exemplo, como uma composição farmacêutica que compreende duas ou mais moléculas de ligação da invenção, variantes ou fragmentos destas. Por exemplo, moléculas de ligação com atividades diferentes, mas complementares, podem ser combinadas em uma terapia única para atingir um efeito profilático, terapêutico ou de diagnóstico desejado, mas alternativamente as moléculas de ligação com atividades idênticas também podem ser combinadas em uma terapia única para atingir um efeito profilático, terapêutico ou de diagnóstico desejado. Opcionalmente, a mistura compreende opcionalmente pelo menos um outro agente terapêutico. Preferivelmente, o agente terapêutico tal como, por exemplo, inibidores de M2 (por exemplo, amantidina, rimantadina) inibidores de e/ou neuraminidase (por exemplo, zanamivir, oseltamivir) são usados na profilaxia e/ou tratamento de uma infecção por vírus Influenza.

[00068] Tipicamente, as moléculas de ligação de acordo com a invenção podem se ligar aos seus parceiros de ligação, isto é, um

vírus influenza A do grupo 1 (tal como H1N1) e um vírus influenza A do grupo 2 (tal como H3N2), e/ou um vírus influenza B, e/ou fragmentos destes, com uma constante de afinidade (valor de K_d), que é menor que $0,2 \times 10^{-4}$ M, $1,0 \times 10^{-5}$ M, $1,0 \times 10^{-6}$ M, $1,0 \times 10^{-7}$ M, preferivelmente menor que $1,0 \times 10^{-8}$ M, mais preferivelmente menor que $1,0 \times 10^{-9}$ M, mais preferivelmente menor que $1,0 \times 10^{-10}$, ainda mais preferivelmente menor que $1,0 \times 10^{-11}$ M, 12 e em particular menor que $1,0 \times 10^{-12}$ M. As constantes de afinidade podem variar entre os isotipos de anticorpo. Por exemplo, a afinidade de ligação para um isotipo IgM refere-se a uma afinidade de ligação de pelo menos cerca de $1,0 \times 10^{-7}$ M. As constantes de afinidade, por exemplo, podem ser medidas usando ressonância de superfície de plasma, por exemplo, usando o sistema BIACORE (Pharmacia Biosensor AB, Uppsala, Suécia).

[00069] As moléculas de ligação da invenção exibem atividade de neutralização. A atividade de neutralização, por exemplo, pode ser medida da maneira aqui descrita. Os ensaios alternativos que medem a atividade de neutralização são descritos, por exemplo, em WHO Manual on Animal Influenza Diagnosis and Surveillance, Geneva: World Health Organisation, 2005, versão 2002.5.

[00070] Tipicamente, as moléculas de ligação de acordo com a invenção apresentam uma atividade de neutralização de 50 $\mu\text{g/mL}$ ou menos, preferivelmente 20 $\mu\text{g/mL}$ ou menos, mais preferivelmente uma atividade de neutralização de 10 ou menos, ainda mais preferivelmente 5 ou menos, da maneira determinada em um ensaio in vitro de neutralização de vírus (VNA), da maneira descrita no exemplo 6. As moléculas de ligação de acordo com a invenção podem se ligar ao vírus Influenza ou um fragmento deste, na forma solúvel tal como, por exemplo, em uma amostra ou em suspensão, ou podem se ligar aos vírus influenza ou fragmentos destes ligados ou anexados a um

carreador ou substrato, por exemplo, placas de microtitulação, membranas e microesferas, etc. Os carreadores ou substratos podem ser constituídos de vidro, plástico (por exemplo, poliestireno), polissacarídeos, náilon, nitrocelulose ou teflon, etc. A superfície de tais suportes pode ser sólida ou porosa e de forma conveniente. Além do mais, as moléculas de ligação podem se ligar aos vírus Influenza na forma purificada/isolada ou não purificada/não isolada.

[00071] Da maneira discutida anteriormente, a presente invenção refere-se às moléculas humanas de ligação isoladas que são capazes de reconhecer e se ligar a um epítopo na proteína hemaglutinina (HA) de influenza, em que as ditas moléculas de ligação apresentam atividade de neutralização contra vírus influenza A do grupo filogenético 1 e vírus influenza A do grupo filogenético 2. De acordo com a invenção, pode-se observar que as moléculas de ligação da presente invenção neutralizam de maneira cruzada os subtipos do vírus Influenza que pertencem a ambos os grupos filogenéticos. Os versados na técnica, com base nas presentes descrições, podem determinar se um anticorpo reage de maneira cruzada de fato com proteínas HA de diferentes subtipos, e também podem determinar se são capazes de neutralizar o vírus influenza de diferentes subtipos in vitro e/ou in vivo.

[00072] Em uma modalidade, a molécula de ligação de acordo com a presente invenção é selecionada do grupo que consiste em:

a) uma molécula de ligação que compreende uma região CDR1 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 133, uma região CDR2 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 134, e uma região CDR3 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 135,

b) uma molécula de ligação que compreende uma região CDR1 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 139, uma região CDR2 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 140, e uma região CDR3 de cadeia

pesada de SEQ ID NO: 141,

c) uma molécula de ligação que compreende uma região CDR1 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 139, uma região CDR2 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 134, e uma região CDR3 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 145,

d) uma molécula de ligação que compreende uma região CDR1 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 139, uma região CDR2 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 151, e uma região CDR3 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 152,

e) uma molécula de ligação que compreende uma região CDR1 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 139, uma região CDR2 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 134, e uma região CDR3 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 152,

f) uma molécula de ligação que compreende uma região CDR1 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 139, uma região CDR2 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 151, e uma região CDR3 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 161,

g) uma molécula de ligação que compreende uma região CDR1 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 139, uma região CDR2 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 151, e uma região CDR3 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 162, e

h) uma molécula de ligação que compreende uma região CDR1 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 139, uma região CDR2 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 134, e uma região CDR3 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 141.

[00073] Em uma modalidade preferida, a molécula de ligação compreende uma região CDR1 de cadeia pesada que compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 139, uma região CDR2 de cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 134, e uma região CDR3 de cadeia pesada que

compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 145 ou SEQ ID NO: 152.

[00074] Em uma outra modalidade, as moléculas humanas de ligação de acordo com a invenção são selecionadas do grupo que consiste em:

a) uma molécula de ligação que apresenta uma região CDR1 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 133, uma região CDR2 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 134, e uma região CDR3 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 135, uma região de CDR1 de cadeia leve que apresenta a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 136, uma região de CDR2 de cadeia leve que apresenta a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 137, e uma região de CDR3 de cadeia leve que apresenta a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 138,

b) uma molécula de ligação que compreende uma região CDR1 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 139, uma região CDR2 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 140, e uma região CDR3 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 141, uma região de CDR1 de cadeia leve que apresenta a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 142, uma região de CDR2 de cadeia leve que apresenta a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 143, e uma região de CDR3 de cadeia leve que apresenta a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 144,

c) uma molécula de ligação que compreende uma região CDR1 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 139, uma região CDR2 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 134, e uma região CDR3 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 145, uma região de CDR1 de cadeia leve que apresenta a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 146, uma região de CDR2 de cadeia leve que apresenta a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 174, e uma região de CDR3 de cadeia leve que apresenta a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 147,

d) uma molécula de ligação que compreende uma região

CDR1 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 139, uma região CDR2 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 134, e uma região CDR3 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 145, uma região de CDR1 de cadeia leve que apresenta a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 148, uma região de CDR2 de cadeia leve que apresenta a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 149, e uma região de CDR3 de cadeia leve que apresenta a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 150,

e) uma molécula de ligação que compreende uma região CDR1 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 139, uma região CDR2 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 151, e uma região CDR3 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 152, uma região de CDR1 de cadeia leve que apresenta a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 153, uma região de CDR2 de cadeia leve que apresenta a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 154, e uma região de CDR3 de cadeia leve que apresenta a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 155,

f) uma molécula de ligação que compreende uma região CDR1 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 139, uma região CDR2 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 134, e uma região CDR3 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 152, uma região de CDR1 de cadeia leve que apresenta a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 148, uma região de CDR2 de cadeia leve que apresenta a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 149, e uma região de CDR3 de cadeia leve que apresenta a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 150,

g) uma molécula de ligação que compreende uma região CDR1 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 139, uma região CDR2 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 134, e uma região CDR3 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 152, uma região de CDR1 de cadeia leve que apresenta a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 156, uma região de CDR2 de cadeia leve que apresenta a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 157, e uma região de CDR3 de cadeia

leve que apresenta a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 158,

h) uma molécula de ligação que compreende uma região CDR1 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 139, uma região CDR2 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 134, e uma região CDR3 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 152, uma região de CDR1 de cadeia leve que apresenta a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 148, uma região de CDR2 de cadeia leve que apresenta a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 159, e uma região de CDR3 de cadeia leve que apresenta a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 160,

i) uma molécula de ligação que compreende uma região CDR1 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 139, uma região CDR2 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 151, e uma região CDR3 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 161, uma região de CDR1 de cadeia leve que apresenta a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 142, uma região de CDR2 de cadeia leve que apresenta a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 143, e uma região de CDR3 de cadeia leve que apresenta a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 144,

j) uma molécula de ligação que compreende uma região CDR1 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 139, uma região CDR2 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 151, e uma região CDR3 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 162, uma região de CDR1 de cadeia leve que apresenta a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 163, uma região de CDR2 de cadeia leve que apresenta a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 164, e uma região de CDR3 de cadeia leve que apresenta a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 165,

k) uma molécula de ligação que compreende uma região CDR1 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 139, uma região CDR2 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 134, e uma região CDR3 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 152, uma região de CDR1 de cadeia leve que apresenta a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 166, uma

região de CDR2 de cadeia leve que apresenta a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 167, e uma região de CDR3 de cadeia leve que apresenta a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 168,

l) uma molécula de ligação que compreende uma região CDR1 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 139, uma região CDR2 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 134, e uma região CDR3 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 152, uma região de CDR1 de cadeia leve que apresenta a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 169, uma região de CDR2 de cadeia leve que apresenta a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 149, e uma região de CDR3 de cadeia leve que apresenta a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 150,

m) uma molécula de ligação que compreende uma região CDR1 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 139, uma região CDR2 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 134, e uma região CDR3 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 141, uma região de CDR1 de cadeia leve que apresenta a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 163, uma região de CDR2 de cadeia leve que apresenta a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 169, e uma região de CDR3 de cadeia leve que apresenta a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 170,

n) uma molécula de ligação que compreende uma região CDR1 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 139, uma região CDR2 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 134, e uma região CDR3 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 152, uma região de CDR1 de cadeia leve que apresenta a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 171, uma região de CDR2 de cadeia leve que apresenta a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 164, e uma região de CDR3 de cadeia leve que apresenta a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 172,

o) uma molécula de ligação que compreende uma região CDR1 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 139, uma região CDR2 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 134, e uma região CDR3 de cadeia

pesada de SEQ ID NO: 145, uma região de CDR1 de cadeia leve que apresenta a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 142, uma região de CDR2 de cadeia leve que apresenta a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 143, e uma região de CDR3 de cadeia leve que apresenta a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 173, e

p) uma molécula de ligação que compreende uma região CDR1 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 139, uma região CDR2 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 134, e uma região CDR3 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 152, uma região de CDR1 de cadeia leve que apresenta a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 142, uma região de CDR2 de cadeia leve que apresenta a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 143, e uma região de CDR3 de cadeia leve que apresenta a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 144.

[00075] Em uma outra modalidade, as moléculas humanas de ligação de acordo com a invenção são selecionadas do grupo que consiste em:

a) uma molécula de ligação que compreende uma região CDR1 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 139, uma região CDR2 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 134, e uma região CDR3 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 145, uma região de CDR1 de cadeia leve que apresenta a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 146, uma região de CDR2 de cadeia leve que apresenta a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 174, e uma região de CDR3 de cadeia leve que apresenta a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 147,

b) uma molécula de ligação que compreende uma região CDR1 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 139, uma região CDR2 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 134, e uma região CDR3 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 152, uma região de CDR1 de cadeia leve que apresenta a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 171, uma

região de CDR2 de cadeia leve que apresenta a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 164, e uma região de CDR3 de cadeia leve que apresenta a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 172,

c) uma molécula de ligação que compreende uma região CDR1 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 139, uma região CDR2 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 134, e uma região CDR3 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 145, uma região de CDR1 de cadeia leve que apresenta a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 142, uma região de CDR2 de cadeia leve que apresenta a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 143, e uma região de CDR3 de cadeia leve que apresenta a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 173, e

d) uma molécula de ligação que compreende uma região CDR1 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 139, uma região CDR2 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 134, e uma região CDR3 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 152, uma região de CDR1 de cadeia leve que apresenta a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 142, uma região de CDR2 de cadeia leve que apresenta a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 143, e uma região de CDR3 de cadeia leve que apresenta a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 144.

[00076] Em uma outra modalidade, a molécula de ligação de acordo com a invenção é selecionada do grupo que consiste em:

a) uma molécula de ligação que compreende uma região variável de cadeia pesada de SEQ ID NO: 2,

b) uma molécula de ligação que compreende uma região variável de cadeia pesada de SEQ ID NO: 6,

c) uma molécula de ligação que compreende uma região variável de cadeia pesada de SEQ ID NO: 10,

d) uma molécula de ligação que compreende uma região variável de cadeia pesada de SEQ ID NO: 14,

e) uma molécula de ligação que compreende uma região variável de cadeia pesada de SEQ ID NO: 18,

f) uma molécula de ligação que compreende uma região variável de cadeia pesada de SEQ ID NO: 22,

g) uma molécula de ligação que compreende uma região variável de cadeia pesada de SEQ ID NO: 26,

h) uma molécula de ligação que compreende uma região variável de cadeia pesada de SEQ ID NO: 30,

i) uma molécula de ligação que compreende uma região variável de cadeia pesada de SEQ ID NO: 34,

j) uma molécula de ligação que compreende uma região variável de cadeia pesada de SEQ ID NO: 38,

k) uma molécula de ligação que compreende uma região variável de cadeia pesada de SEQ ID NO: 42,

l) uma molécula de ligação que compreende uma região variável de cadeia pesada de SEQ ID NO: 46,

m) uma molécula de ligação que compreende uma região variável de cadeia pesada de SEQ ID NO: 50,

n) uma molécula de ligação que compreende uma região variável de cadeia pesada de SEQ ID NO: 54,

o) uma molécula de ligação que compreende uma região variável de cadeia pesada de SEQ ID NO: 58, e

p) uma molécula de ligação que compreende uma região variável de cadeia pesada de SEQ ID NO: 62.

[00077] Em uma modalidade, a molécula de ligação de acordo com a invenção é selecionada do grupo que consiste em uma molécula de ligação que compreende uma região variável de cadeia pesada de SEQ ID NO: 10, uma molécula de ligação que compreende uma região variável de cadeia pesada de SEQ ID NO: 54, uma molécula de ligação que compreende uma região variável de cadeia pesada de

SEQ ID NO: 58, e uma molécula de ligação que compreende uma região variável de cadeia pesada de SEQ ID NO: 62.

[00078] Em uma modalidade adicional, as moléculas de ligação de acordo com a invenção compreendem uma região variável de cadeia leve que compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste em SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO:20, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:44, SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:60, e SEQ ID NO:64.

[00079] Ainda em uma outra modalidade, a molécula de ligação é selecionada do grupo que consiste em:

a) uma molécula de ligação que compreende uma região variável de cadeia pesada de SEQ ID NO: 2 e uma região variável de cadeia leve de SEQ ID NO: 4,

b) uma molécula de ligação que compreende uma região variável de cadeia pesada de SEQ ID NO: 6 e uma região variável de cadeia leve de SEQ ID NO: 8,

c) uma molécula de ligação que compreende uma região variável de cadeia pesada de SEQ ID NO: 10 e uma região variável de cadeia leve de SEQ ID NO: 12,

d) uma molécula de ligação que compreende uma região variável de cadeia pesada de SEQ ID NO: 14 e uma região variável de cadeia leve de SEQ ID NO: 16,

e) uma molécula de ligação que compreende uma região variável de cadeia pesada de SEQ ID NO: 18 e uma região variável de cadeia leve de SEQ ID NO: 20,

f) uma molécula de ligação que compreende uma região variável de cadeia pesada de SEQ ID NO: 22 e uma região variável de cadeia leve de SEQ ID NO: 24,

g) uma molécula de ligação que compreende uma região variável de cadeia pesada de SEQ ID NO: 26 e uma região variável de cadeia leve de SEQ ID NO: 28,

h) uma molécula de ligação que compreende uma região variável de cadeia pesada de SEQ ID NO: 30 e uma região variável de cadeia leve de SEQ ID NO: 32,

i) uma molécula de ligação que compreende uma região variável de cadeia pesada de SEQ ID NO: 34 e uma região variável de cadeia leve de SEQ ID NO: 36,

j) uma molécula de ligação que compreende uma região variável de cadeia pesada de SEQ ID NO: 38 e uma região variável de cadeia leve de SEQ ID NO: 40,

k) uma molécula de ligação que compreende uma região variável de cadeia pesada de SEQ ID NO: 42 e uma região variável de cadeia leve de SEQ ID NO: 44,

l) uma molécula de ligação que compreende uma região variável de cadeia pesada de SEQ ID NO: 46 e uma região variável de cadeia leve de SEQ ID NO: 48,

m) uma molécula de ligação que compreende uma região variável de cadeia pesada de SEQ ID NO: 50 e uma região variável de cadeia leve de SEQ ID NO: 52,

n) uma molécula de ligação que compreende uma região variável de cadeia pesada de SEQ ID NO: 54 e uma região variável de cadeia leve de SEQ ID NO: 56,

o) uma molécula de ligação que compreende uma região variável de cadeia pesada de SEQ ID NO: 58 e uma região variável de cadeia leve de SEQ ID NO: 60, e

p) uma molécula de ligação que compreende uma região variável de cadeia pesada de SEQ ID NO: 62 e uma região variável de cadeia leve de SEQ ID NO: 64.

[00080] Em uma modalidade, as moléculas humanas de ligação de acordo com a invenção são selecionadas do grupo que consiste em: uma molécula de ligação que compreende uma região variável de cadeia pesada de SEQ ID NO: 10 e uma região variável de cadeia leve de SEQ ID NO: 12, uma molécula de ligação que compreende uma região variável de cadeia pesada de SEQ ID NO: 54 e uma região variável de cadeia leve de SEQ ID NO: 56, uma molécula de ligação que compreende uma região variável de cadeia pesada de SEQ ID NO: 58 e uma região variável de cadeia leve de SEQ ID NO: 60, e uma molécula de ligação que compreende uma região variável de cadeia pesada de SEQ ID NO: 62 e uma região variável de cadeia leve de SEQ ID NO: 64.

[00081] Em uma modalidade preferida, as moléculas de ligação de acordo com a invenção são para uso como um medicamento, e preferivelmente para uso no tratamento diagnóstico, terapêutico e/ou profilático da infecção por influenza causada pelo vírus influenza A e/ou B.

[00082] Preferivelmente, o vírus Influenza que causa a infecção por influenza e que pode ser tratado usando as moléculas de ligação da presente invenção é um vírus influenza A do grupo filogenético 1 e/ou 2, e/ou um vírus influenza B. A presente invenção também refere-se a uma composição farmacêutica que compreende pelo menos uma molécula de ligação de acordo com a invenção, e um excipiente farmaceuticamente aceitável.

[00083] Ainda em uma outra modalidade, a invenção refere-se ao uso de uma molécula de ligação de acordo com a invenção na preparação de um medicamento para o diagnóstico, profilaxia, e/ou tratamento de uma infecção por vírus Influenza. Tais infecções podem ocorrer em populações pequenas, mas também podem se disseminar em todo o mundo em epidemias sazonais ou, pior, em pandemias

globais onde milhões de indivíduos estão em risco. A invenção fornece moléculas de ligação que podem neutralizar a infecção de cepas influenza que causam tais epidemias sazonais, bem como pandemias potenciais. De maneira importante, a proteção e tratamento podem ser visualizados agora com as moléculas de ligação da presente invenção em relação a vários subtipos de influenza, uma vez que foi descrito que as moléculas de ligação da presente invenção são capazes de neutralização cruzada em vários subtipos de influenza tanto do grupo filogenético 1, que inclui os subtipos H1, H2, H5, H6, H8, H9 e H11, quanto do grupo filogenético 2, que inclui os subtipos H3, H4, H7 e H10, bem como os subtipos de influenza B.

[00084] Um outro aspecto da invenção inclui variantes funcionais das moléculas de ligação da maneira aqui definida. Mas as moléculas são consideradas variantes funcionais de uma molécula de ligação de acordo com a invenção, se os variantes forem capazes de competir com o que se liga especificamente a um vírus Influenza ou um fragmento deste, com as moléculas de ligação "parental" ou "de referência". Em outras palavras, as moléculas são consideradas como variantes funcionais de uma molécula de ligação de acordo com a invenção quando os variantes funcionais ainda são capazes de se ligar ao mesmo epítipo ou epítipo de sobreposição do vírus Influenza, ou um fragmento deste. Em relação a este pedido, "parental" e "referência" serão usados como sinônimos, significando que a informação da molécula de referência ou parental, ou a própria molécula física pode formar a base para a variação. Os variantes funcionais incluem, mas sem limitação, derivados que são substancialmente similares em sequência estrutural primária, incluindo aqueles que apresentam modificações no receptor Fc ou outras regiões envolvidas com funções efetoras, e/ou que contêm, por exemplo, modificações in vitro ou in vivo, químicas e/ou bioquímicas

que não são encontradas na molécula de ligação parental. Tais modificações incluem inter alia acetilação, acilação, anexação covalente de um nucleotídeo ou derivado de nucleotídeo, anexação covalente de um lipídeo ou derivado de lipídeo, reticulação, formação de ligação dissulfeto, glicosilação, hidroxilação, metilação, oxidação, peguilação, processamento proteolítico, fosforilação, e similares. Alternativamente, os variantes funcionais podem ser moléculas de ligação da maneira definida na presente invenção, que compreendem uma sequência de aminoácidos contendo substituições, inserções, eliminações ou combinações destas de um ou mais aminoácidos, comparada às sequências de aminoácidos das moléculas de ligação parentais. Além do mais, os variantes funcionais podem compreender truncações da sequência de aminoácidos tanto em uma quanto em ambas as terminações amino ou carboxil. Os variantes funcionais de acordo com a invenção podem apresentar as mesmas ou diferentes afinidades de ligação, tanto maiores quanto menores, comparados à molécula de ligação parental, mas ainda são capazes de se ligar ao vírus Influenza ou um fragmento deste. Por exemplo, os variantes funcionais de acordo com a invenção podem apresentar maiores ou menores afinidades de ligação com um vírus Influenza ou um fragmento deste, comparados às moléculas de ligação parentais. Preferivelmente, as sequências de aminoácidos das regiões variáveis incluindo, mas sem limitação, regiões de estrutura, regiões hipervariáveis, em particular as regiões CDR3, são modificadas. Em geral, as regiões variáveis de cadeia leve e de cadeia pesada compreendem três regiões hipervariáveis, que compreendem três CDRs, e regiões mais conservadas, as assim denominadas regiões de estrutura (FRs). As regiões hipervariáveis compreendem resíduos de aminoácido de CDRs e resíduos de aminoácido de alças hipervariáveis. Os variantes funcionais pretendidos para estar no

escopo da presente invenção apresentam pelo menos cerca de 50 % a cerca de 99 %, preferivelmente pelo menos cerca de 60 % a cerca de 99 %, more preferivelmente pelo menos cerca de 70 % a cerca de 99 %, ainda mais preferivelmente pelo menos cerca de 80 % a cerca de 99 %, acima de tudo preferivelmente pelo menos cerca de 90 % a cerca de 99 %, em particular pelo menos cerca de 95 % a cerca de 99 %, e em particular pelo menos cerca de 97 % a cerca de 99 % de identidade de sequência de aminoácidos e/ou homologia com as moléculas de ligação parentais da maneira aqui definida. Os algoritmos de computador tais como inter alia Gap ou Bestfit, conhecidos pelos versados na técnica, podem ser usados para alinhar de maneira ideal as sequências de aminoácidos para serem comparadas e para definir resíduos de aminoácido similares ou idênticos. Os variantes funcionais podem ser obtidos alterando as moléculas de ligação parentais ou partes destas por métodos gerais de biologia molecular conhecidos na técnica incluindo, mas sem limitação, PCR propensa ao erro, mutagênese direcionada para oligonucleotídeo, mutagênese de sítio direcionada e embaralhamento de cadeia pesada e/ou leve. Em uma modalidade, os variantes funcionais da invenção apresentam atividade de neutralização contra vírus influenza A do grupo 1 e grupo 2, e/ou vírus influenza B. A atividade de neutralização pode ser tanto idêntica quanto ser maior ou menor, comparada às moléculas de ligação parentais. A partir daqui, quando o termo molécula de ligação (humana) é usado, este também inclui variantes funcionais da molécula de ligação (humana). Os ensaios para verificar se uma molécula de ligação variante apresenta atividade de neutralização são bem conhecidos na técnica (ver WHO Manual on Animal Influenza Diagnosis and Surveillance, Geneva: World Health Organisation, 2005 versão 2002.5).

[00085] Ainda em um aspecto adicional, a invenção inclui

imunoconjugados, isto é, moléculas que compreendem pelo menos uma molécula de ligação da maneira aqui definida, e que compreende adicionalmente pelo menos uma marcação, tal como inter alia uma fração/agente detectável. São também contempladas na presente invenção as misturas de imunoconjugados de acordo com a invenção, ou misturas de pelo menos um imunoconjugado de acordo com a invenção e uma outra molécula, tal como um agente terapêutico ou uma outra molécula de ligação ou imunoconjugado. Em uma modalidade adicional, os imunoconjugados da invenção podem compreender mais de uma marcação. Estas marcações podem ser as mesmas ou distintas umas das outras, e podem ser unidas/conjugadas não covalentemente com as moléculas de ligação. A(s) marcação(s) também pode(m) ser unida/conjugada diretamente com as moléculas humanas de ligação por meio de ligação covalente. Alternativamente, a(s) marcação(s) pode(m) ser unida/conjugada com as moléculas de ligação por meios de um ou mais compostos de ligação. As técnicas para conjugar marcações às moléculas de ligação são bem conhecidas pelos versados na técnica.

[00086] As marcações dos imunoconjugados da presente invenção podem ser agentes terapêuticos, mas também podem ser frações/agentes detectáveis. As marcações adequadas na terapia e/ou prevenção podem ser toxinas ou partes funcionais destas, antibióticos, enzimas, outras moléculas de ligação que melhoram a fagocitose ou estimulação imune. Os imunoconjugados que compreendem um agente detectável podem ser usados diagnosticamente, por exemplo, para garantir se um sujeito foi infectado com um vírus Influenza ou para monitorar o desenvolvimento ou progressão de uma infecção de vírus Influenza como parte de um procedimento de teste clínico, por exemplo, para determinar a eficiência de um dado regime de tratamento. Entretanto, também podem ser usados para outros

propósitos de detecção, e/ou analítico, e/ou diagnóstico. As frações/agentes detectáveis incluem, mas sem limitação, enzimas, grupos prostéticos, materiais fluorescentes, materiais luminescentes, materiais bioluminescentes, materiais radioativos, metais que emitem pósitron, e íons de metal paramagnéticos não radioativo. As marcações usadas para marcar as moléculas de ligação com propósitos de detecção, e/ou analítico, e/ou de diagnóstico dependem das técnicas de detecção/análise/diagnóstico específicas, e/ou métodos usados, tais como inter alia coloração imuno-histoquímica de amostras de (tecido), detecção por citometria de fluxo, detecção por citometria de varredura a laser, imunoenaios fluorescentes, ensaios imunoabsorção ligados à enzima (ELISAs), radioimunoenaios (RIAs), bioensaios (por exemplo, ensaio de fagocitose), aplicações de Western blotting, etc. As marcas adequadas para as técnicas de detecção/análise/diagnóstico e/ou métodos conhecidos na técnica estão bem ao alcance dos versados na técnica.

[00087] Além do mais, as moléculas humanas de ligação ou imunoconjugados da invenção também podem ser anexadas aos suportes sólidos, os quais são particularmente usados para imunoenaios in vitro ou purificação de vírus influenza ou fragmentos destes. Tais suportes sólidos podem ser porosos ou não porosos, planares ou não planares. As moléculas de ligação da presente invenção podem ser fundidas às sequências marcadoras, tal como um peptídeo, para facilitar a purificação. Os exemplos incluem, mas sem limitação, a marcação hexa-histidina, a marcação hemaglutinina (HA), a marcação myc ou a marcação flag. Alternativamente, um anticorpo pode ser conjugado a um segundo anticorpo para formar um heteroconjugado de anticorpo. Em um outro aspecto, as moléculas de ligação da invenção podem ser conjugadas/anexadas a um ou mais antígenos. Preferivelmente, estes antígenos são antígenos que são

reconhecidos pelo sistema imune de um sujeito no qual o conjugado de molécula de ligação-antígeno é administrado. Os antígenos podem ser idênticos, mas também podem diferir um do outro. Os métodos de conjugação para anexar os antígenos e moléculas de ligação são bem conhecidos na técnica e incluem, mas sem limitação, o uso de agentes de reticulação. As moléculas de ligação da invenção se ligarão ao vírus Influenza HA e os antígenos anexados às moléculas de ligação iniciarão um ataque potente de célula T no conjugado, o que eventualmente leva à destruição do vírus Influenza.

[00088] Após produzir imunoconjugados quimicamente por conjugação, direta ou indiretamente, por exemplo, por meio de um ligador, os imunoconjugados podem ser produzidos como proteínas de fusão que compreendem as moléculas de ligação da invenção e uma marcação adequada. As proteínas de fusão podem ser produzidas por métodos conhecidos na técnica tal como, por exemplo, construindo recombinantemente moléculas de ácido nucleico que compreendem sequência de nucleotídeos, as quais codificam as moléculas de ligação em alinhamento com sequência de nucleotídeos que codifica a(s) marcação(s) adequada (s) e expressando a seguir as moléculas de ácido nucleico.

[00089] É um outro aspecto da presente invenção fornecer uma molécula de ácido nucleico que codifica pelo menos uma molécula de ligação, variante funcional ou imunoconjugado de acordo com a invenção. Tais moléculas de ácido nucleico podem ser usadas como intermediários para propósitos de clonagem, por exemplo, no processo de maturação de afinidade da maneira descrita anteriormente. Em uma modalidade preferida, as moléculas de ácido nucleico são isoladas ou purificadas.

[00090] Os versados na técnica entenderão que os variantes funcionais destas moléculas de ácido nucleico são também

pretendidos para ser uma parte da presente invenção. Os variantes funcionais são a sequência de ácido nucleicos, que pode ser diretamente traduzida usando o código genético padrão, para fornecer uma sequência de aminoácidos idêntica àquela traduzida a partir de moléculas parentais de ácido nucleico.

[00091] Preferivelmente, as moléculas de ácido nucleico codificam moléculas de ligação que compreendem as regiões CDR da maneira descrita anteriormente. Em uma modalidade adicional, as moléculas de ácido nucleico codificam moléculas de ligação que compreendem duas, três, quatro, cinco ou ainda todas as seis regiões de CDR das moléculas de ligação da invenção.

[00092] Em outra modalidade, as moléculas de ácido nucleico codificam moléculas de ligação que compreendem uma cadeia pesada compreendendo as sequências variáveis de cadeia pesada, da maneira descrita anteriormente. Em outra modalidade, as moléculas de ácido nucleico codificam moléculas de ligação que compreendem uma cadeia leve compreendendo as sequências variáveis de cadeia leve, da maneira descrita anteriormente. A sequência de nucleotídeos e as sequências de aminoácidos das regiões variáveis de cadeia pesada e leve das moléculas de ligação da invenção são fornecidas a seguir.

[00093] É outro aspecto da invenção fornecer vetores, isto é, construtos de ácido nucleico que compreendem uma ou mais moléculas de ácido nucleico de acordo com a presente invenção.

[00094] Os vetores podem ser derivados de plasmídeos tais como, inter alia, F, RI, RPI, Col, pBR322, TOL, Ti, etc; cosmídeos; fagos tais como lambda, lambdoid, M13, Mu, PI, P22, Q, T-even, T-odd, T2, T4, T7, etc; vírus de plantas. Os vetores podem ser usados para clonar e/ou para a expressão das moléculas de ligação da invenção e podem ainda ser usados com propósitos da terapia de gene. Os vetores que

compreendem uma ou mais moléculas de ácido nucleico de acordo com a invenção, operavelmente ligadas a uma ou mais moléculas de ácido nucleico que regulam a expressão, são também incluídos pela presente invenção. A escolha do vetor é dependente dos procedimentos recombinantes a seguir e do hospedeiro usado. A introdução de vetores em células hospedeiras pode ser afetada, *inter alia*, por transfecção com fosfato de cálcio, infecção por vírus, transfecção mediada por DEAE-dextrano, transfecção por lipofectamina ou eletroporação. Os vetores podem ser replicados de maneira autônoma ou podem ser replicados juntos com o cromossomo no qual eles estão integrados. Preferivelmente, os vetores contêm um ou mais marcadores de seleção. A escolha dos marcadores pode depender das células hospedeiras de escolha, embora isto não seja importante para a invenção, é bem conhecido pelos versados na técnica. Incluem, mas sem limitação, genes de canamicina, neomicina, puromicina, higromicina, zeocina, timidina quinase do vírus Herpes simplex (HSV-TK), gene de diidro folato redutase de camundongo (dhfr). Os vetores que compreendem uma ou mais moléculas de ácido nucleico que codificam as moléculas humanas de ligação da maneira descrita anteriormente, operavelmente ligados a uma ou mais moléculas de ácido nucleico que codificam proteínas ou peptídeos que podem ser usados para isolar as moléculas humanas de ligação, também são incluídos na invenção. Estas proteínas ou peptídeos incluem, mas sem limitação, glutathione-S-transferase, proteína de ligação de maltose, poliestidina de ligação ao metal, proteína fluorescente verde, luciferase e beta-galactosidase.

[00095] Os hospedeiros que contêm uma ou mais cópias dos vetores mencionados anteriormente são um indivíduo adicional da presente invenção. Preferivelmente, os hospedeiros são células hospedeiras. Células hospedeiras incluem, mas sem limitação, células

de mamífero, planta, inseto, de origem fúngica ou bacteriana. As células bacterianas incluem, mas sem limitação, células de bactérias Gram-positivas ou bactérias Gram-negativas, tais como várias espécies dos gêneros *Escherichia*, tal como *E. coli*, e *Pseudomonas*. No grupo de células fúngicas, preferivelmente as células de levedura são usadas. A expressão em levedura pode ser atingida usando cepas de levedura tais como, inter alia, *Pichia pastoris*, *Saccharomyces cerevisiae* e *Hansenula polymorpha*. Além do mais, as células de inseto tais como as células de *Drosophila* e Sf9 podem ser usadas como células hospedeiras. Além disso, as células hospedeiras podem ser células de planta tal como, inter alia, células de plantas de colheita tal como plantas florestais, ou células de plantas que fornecem alimento ou matérias primas tais como plantas de cereal, ou plantas medicinais, ou células de cultura ornamental, ou células de tubérculos de flores. As plantas transformadas (transgênicas) ou células de planta são produzidas por métodos conhecidos, por exemplo, transferência de gene mediada por *Agrobacterium*, transformação de discos de folha, transformação de protoplasto por transferência de DNA induzida por polietileno glicol, eletroporação, sonicação, microinjeção ou transferência holística de gene. Adicionalmente, um sistema de expressão adequado pode ser um sistema de baculovírus.

[00096] Os sistemas de expressão usando células de mamíferos, tais como células de ovário de Hamster chinês (CHO), células COS, células BHK, células NSO ou células de melanoma de Bowes são preferidas na presente invenção. As células de mamífero fornecem proteínas expressas com modificações pós-translacionais que são muito similares às moléculas naturais de origem mamífera. Uma vez que a presente invenção refere-se a moléculas que podem ser administradas em humanos, um sistema de expressão completamente humano pode ser particularmente preferido. Portanto, ainda mais

preferivelmente, as células hospedeiras são células humanas. Os exemplos de células humanas, inter alia, são células HeLa, 911, AT1080, A549, 293 e HEK293T. Em modalidades preferidas, as células humanas produtoras compreendem pelo menos uma parte funcional de uma sequência de ácido nucleico que codifica uma região E1 de adenovirus no formato expressável. Ainda em modalidades mais preferidas, as ditas células hospedeiras são derivadas de uma retina humana e imortalizadas com ácidos nucleicos que compreendem sequências E1 adenovirais, tais como células 911 ou a linhagem celular depositada no European Collection of Cell Cultures (ECACC), CAMR, Salisbury, Wiltshire SP4 OJG, Great Britain em 29 de fevereiro de 1996, com o número 96022940 e comercializada com o nome comercial PER.C6® (PER.C6 é uma marca registrada de Crucell Holland B.V.). Com o propósito deste pedido "células PER.C6" referem-se às células depositadas com o número 96022940 ou anteriores, passagens à montante ou à jusante, bem como descendentes destes ancestrais das células depositadas, bem como derivados de qualquer dos precedentes. A produção de proteínas recombinantes em células hospedeiras pode ser realizada de acordo com métodos bem conhecidos na técnica. O uso das células comercializadas com a marca comercial PER.C6® como uma plataforma de produção para as proteínas de interesse foi descrito em WO 00/63403, cuja descrição é aqui incorporada pela referência na sua íntegra.

[00097] Ainda em uma outra modalidade, as moléculas de ligação da presente invenção também podem ser produzidas em mamíferos transgênicos e não humanos tais como, inter alia, coelhos, cabras ou vacas, e secretadas, por exemplo, no leite destes.

[00098] Ainda em uma outra modalidade alternativa, as moléculas de ligação de acordo com a presente invenção podem ser geradas por

mamíferos transgênicos não humanos, por exemplo, tais como camundongos ou coelhos transgênicos que expressam genes de imunoglobulina humana. Preferivelmente, os mamíferos transgênicos não humanos apresentam um genoma que compreende um transgene humano de cadeia pesada e um transgene humano de cadeia leve que codifica todas ou uma porção das moléculas humanas de ligação, da maneira descrita anteriormente. Os mamíferos transgênicos não humanos podem ser imunizados com uma preparação purificada ou enriquecida de vírus Influenza ou um fragmento deste. Os protocolos para imunizar mamíferos não humanos são bem estabelecidos na técnica. Ver *Using Antibodies: A Laboratory Manual*, Editado por: E. Harlow, D. Lane (1998), Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, Nova Iorque e *Current Protocols in Immunology*, Editado por: J.E. Coligan, A.M. Kruisbeek, D.H. Margulies, E.M. Shevach, W. Strober (2001), John Wiley & Sons Inc., Nova Iorque, cujas descrições são aqui incorporadas pela referência. Os protocolos de imunização incluem frequentemente múltiplas imunizações, tanto com quanto sem adjuvantes tal como adjuvante completo de Freund, mas também podem incluir imunizações de DNA nu. Em uma outra modalidade, as moléculas humanas de ligação são produzidas por células B, plasma e/ou células de memória derivadas dos animais transgênicos. Ainda em uma outra modalidade, as moléculas humanas de ligação são produzidas por hibridomas, que são preparados por fusão de células B obtidas dos mamíferos transgênicos não humanos anteriormente descritos em células imortalizadas. As células B, plasma células e hibridomas obtíveis a partir dos mamíferos transgênicos não humanos descritos anteriormente, e moléculas humanas de ligação obtidas dos mamíferos transgênicos não humanos, B-células, plasma e/ou células de memória e hibridomas descritos anteriormente são também uma parte da presente invenção.

[00099] Ainda em um aspecto adicional, a invenção fornece composições que compreendem pelo menos uma molécula de ligação, preferivelmente um anticorpo monoclonal humano, de acordo com a invenção, pelo menos um variante funcional deste, pelo menos um imunoconjugado de acordo com a invenção, e/ou uma combinação destes. Além destas, as composições podem compreender, inter alia, moléculas de estabilização, tal como albumina ou polietileno glicol ou sais. Preferivelmente, os sais usados são sais que mantêm a atividade biológica desejada das moléculas de ligação e não transmitem nenhum efeito toxicológico indesejado. Se necessário, as moléculas humanas de ligação da invenção podem ser revestidas nestes ou em um material para proteger as mesmas da ação de ácidos ou outras condições naturais ou não naturais que podem inativar as moléculas de ligação.

[000100] Ainda em um aspecto adicional, a invenção fornece composições que compreendem pelo menos uma molécula de ácido nucleico definida na presente invenção. As composições podem compreender soluções aquosas, tais como soluções aquosas contendo sais (por exemplo, NaCl ou sais da maneira descrita anteriormente), detergentes (por exemplo, SDS) e/ou outros componentes adequados.

[000101] Além do mais, a presente invenção pertence às composições farmacêuticas que compreendem pelo menos uma molécula de ligação, tal como um anticorpo monoclonal humano da invenção (ou fragmento ou variante funcional deste), pelo menos um imunoconjugado de acordo com a invenção, pelo menos uma composição de acordo com a invenção, ou combinações destes. A composição farmacêutica da invenção compreende adicionalmente pelo menos um excipiente farmacêuticamente aceitável. Os excipientes farmacêuticamente aceitáveis são bem conhecidos pelos

versados na técnica. A composição farmacêutica de acordo com a invenção pode compreender adicionalmente pelo menos um outro agente terapêutico. Os agentes adequados também são bem conhecidos pelos versados na técnica.

[000102] Em uma modalidade preferida, a composição farmacêutica de acordo com a invenção compreende pelo menos uma molécula de ligação adicional, isto é, a composição farmacêutica pode ser um coquetel ou mistura de moléculas de ligação. A composição farmacêutica pode compreender pelo menos duas moléculas de ligação de acordo com a invenção, ou pelo menos uma molécula de ligação de acordo com a invenção e pelo menos um vírus Influenza adicional que se liga e/ou neutraliza molécula, tal como um outro anticorpo direcionado contra a proteína HA ou contra outras estruturas antigênicas presentes nos vírus influenza, tal como M2. Em uma outra modalidade, a molécula de ligação adicional pode ser formulada para administração simultânea separada ou sequencial.

[000103] Em uma modalidade as composições farmacêuticas podem compreender duas ou mais moléculas de ligação que apresentam atividade de neutralização contra vírus influenza A e/ou vírus influenza B. Em uma modalidade, as moléculas de ligação exibem atividade de neutralização sinérgica, quando usadas em combinação. Da maneira aqui usada, o termo "sinérgico" significa que o efeito combinado das moléculas de ligação, quando usadas em combinação, é maior que seus efeitos aditivos quando usadas individualmente. As moléculas de ligação que agem de maneira sinérgica podem se ligar a diferentes estruturas no mesmo ou em distintos fragmentos de vírus Influenza. Uma maneira de calcular a sinergia é por meio do índice de combinação. O conceito do índice de combinação (CI) foi descrito por Chou e Talalay (1984). As composições, por exemplo, podem compreender uma molécula de ligação com atividade de neutralização

e uma molécula de ligação sem neutralização. As moléculas de ligação não neutralizantes e neutralizantes também podem agir sinergisticamente na neutralização do vírus Influenza.

[000104] Em uma modalidade, a composição farmacêutica pode compreender pelo menos uma molécula de ligação de acordo com a invenção, e pelo menos uma molécula de ligação de vírus Influenza neutralizante adicional. As moléculas de ligação na composição farmacêutica preferivelmente são capazes de reagir com vírus influenza de diferentes subtipos. As moléculas de ligação podem ser de afinidade elevada e podem apresentar uma ampla especificidade. Preferivelmente, ambas as moléculas de ligação são moléculas de neutralização cruzada, nas quais cada qual neutraliza diferentes subtipos de vírus influenza. Além disso, preferivelmente, neutralizam as muitas cepas de cada subtipo diferente do vírus Influenza tanto quanto possível.

[000105] Uma composição farmacêutica de acordo com a invenção pode compreender adicionalmente pelo menos um outro agente terapêutico, profilático e/ou de diagnóstico. Preferivelmente, a composição farmacêutica compreende pelo menos um outro agente profilático e/ou terapêutico. Preferivelmente, os ditos agentes terapêuticos e/ou profiláticos adicionais são agentes capazes de prevenir e/ou tratar uma infecção pelo vírus Influenza, e/ou um condição que resulta de uma infecção como esta. Os agentes terapêuticos e/ou profiláticos incluem, mas sem limitação, agentes antivirais. Tais agentes pode ser moléculas de ligação, moléculas pequenas, compostos orgânicos ou inorgânicos, enzimas, sequência de polinucleotídeos, peptídeos antivirais, etc. Outros agentes que são atualmente usados para tratar pacientes infectados com vírus influenza são inibidores de M2 (por exemplo, amantidina, rimantadina) e/ou inibidores de neuraminidase (por exemplo, zanamivir,

oseltamivir). Estes podem ser usados em combinação com as moléculas de ligação da invenção. "Em combinação" significa aqui simultaneamente, como formulações separadas, ou como uma formulação única combinada, ou de acordo com um regime de administração sequencial como formulações separadas, em qualquer ordem. Os agentes capazes de prevenir e/ou tratar uma infecção com vírus Influenza e/ou um condição que resulta de uma infecção como esta, que não estão na fase experimental, também podem ser usados como outros agentes terapêuticos e/ou profiláticos usados na presente invenção.

[000106] As moléculas de ligação ou composições farmacêuticas da invenção podem ser testadas em sistemas adequados de modelo animal, antes do uso em humanos. Tais sistemas de modelo animal incluem, mas sem limitação, camundongo, furão e macaco.

[000107] Tipicamente, as composições farmacêuticas têm que ser estéreis e estáveis nas condições de fabricação e armazenamento. As moléculas de ligação, imunoconjugados, moléculas de ácido nucleico ou composições da presente invenção podem estar na forma de pó para reconstituição no excipiente farmacêuticamente aceitável apropriado, antes ou no momento da distribuição. No caso de pós estéreis para a preparação de soluções injetáveis estéreis, os métodos de preparação preferidos são secagem a vácuo e secagem por congelamento (liofilização) que rendem um pó do ingrediente ativo, e qualquer ingrediente desejado adicional a partir de uma solução deste previamente esterilizada por filtração.

[000108] Alternativamente, as moléculas de ligação, imunoconjugados, moléculas de ácido nucleico ou composições da presente invenção podem estar em solução, e o excipiente farmacêuticamente aceitável apropriado pode ser adicionado e/ou misturado antes ou durante o período de distribuição para fornecer

uma forma injetável de dosagem única. Preferivelmente, o excipiente farmaceuticamente aceitável usado na presente invenção é adequado em concentração elevada do medicamento, pode manter a fluidez adequada e, se necessário, pode retardar a absorção.

[000109] A escolha da via de administração ideal das composições farmacêuticas será influenciada por vários fatores, incluindo as propriedades físico-químicas das moléculas ativas nas composições, a urgência da situação clínica e a relação das concentrações plasmáticas das moléculas ativas para o efeito terapêutico desejado. Por exemplo, se necessário, as moléculas de ligação da invenção podem ser preparadas com carreadores que as protegerão contra a liberação rápida, tal como uma liberação controlada da formulação, incluindo implantes, adesivos transdérmicos, e sistemas de distribuição microencapsulados. Os polímeros biodegradáveis e biocompatíveis podem ser usados, inter alia, tal como etileno vinil acetato, polianidretos, ácido poliglicólico, colágeno, poliortoésteres, e ácido polilático. Além do mais, pode ser necessário revestir as moléculas de ligação, ou coadministrar as moléculas de ligação, com um material ou composto que previne a inativação das moléculas humanas de ligação. Por exemplo, as moléculas de ligação podem ser administradas a um sujeito em um carreador apropriado, por exemplo, lipossomos ou um diluente.

[000110] As vias de administração podem ser divididas em duas categorias principais, administração oral e parenteral. A via de administração preferida é intravenosa ou por inalação.

[000111] As formas de dosagem oral podem ser formuladas, inter alia, como comprimidos, pastilhas, tabletes, suspensões aquosas ou oleosas, pós ou grânulos dispersíveis, emulsões, cápsulas duras, cápsulas de gelatina macia, xaropes ou elixires, pílulas, drágeas, líquidos, géis ou lamas. Estas formulações podem conter excipientes

farmacêuticos incluindo, mas sem limitação, diluentes inertes, agentes de granulação e desintegração, agentes de ligação, agentes de lubrificação, conservantes, agentes de coloração, flavorizantes ou adoçantes, óleos vegetais ou minerais, agentes de umectação e agentes espessantes.

[000112] As composições farmacêuticas da presente invenção também podem ser formuladas para administração parenteral. As formulações para administração parenteral podem estar, inter alia, na forma de soluções ou suspensões para injeção ou infusão aquosa ou não aquosa, isotônica, estéril e não tóxica. As soluções ou suspensões podem compreender agentes que são não tóxicos para os receptores nas dosagens e concentrações empregadas, tais como 1,3-butanediol, solução de Ringer, solução de Hank, solução isotônica de cloreto de sódio, óleos, ácidos graxos, agentes anestésicos locais, conservantes, tampões, agentes que aumentam a viscosidade ou solubilidade, antioxidantes solúveis em água, antioxidantes solúveis em óleo e agentes quelantes de metal.

[000113] Em um aspecto adicional, as moléculas de ligação tais como anticorpos monoclonais humanos (fragmentos e variantes funcionais destes), imunoconjugados, composições, ou composições farmacêuticas da invenção podem ser usados como um medicamento. Assim, um método de diagnóstico, tratamento e/ou prevenção de uma infecção por vírus Influenza usando as moléculas de ligação, imunoconjugados, composições, ou composições farmacêuticas da invenção é uma outra parte da presente invenção. As moléculas anteriormente mencionadas, inter alia, podem ser usadas no diagnóstico, profilaxia, tratamento, ou combinação destes, de uma infecção por vírus Influenza, causada pelo vírus influenza, que compreende HA do subtipo H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8, H9, H10 e/ou H11. Em uma modalidade, as moléculas anteriormente

mencionadas também podem ser usadas no diagnóstico, profilaxia, tratamento ou combinação destes de uma infecção por vírus Influenza, causada por um vírus influenza B. Elas são adequadas para o tratamento de pacientes ainda não tratados que sofrem de uma infecção por vírus Influenza, e pacientes que foram ou estão sendo tratados para uma infecção pelo vírus Influenza.

[000114] As moléculas ou composições anteriormente mencionadas podem ser empregadas junto com outras moléculas usadas no diagnóstico, profilaxia e/ou tratamento. Estas podem ser usadas in vitro, ex vivo ou in vivo. Por exemplo, as moléculas de ligação tais como anticorpos monoclonais humanos (ou variantes funcionais destes), imunoconjugados, composições ou composições farmacêuticas da invenção podem ser coadministrados com uma vacina contra vírus Influenza (se disponível). Alternativamente, a vacina também pode ser administrada antes ou após a administração das moléculas da invenção. Em vez de uma vacina, os agentes antivirais também podem ser empregados junto com as moléculas de ligação da presente invenção. Os agentes antivirais adequados são mencionados anteriormente.

[000115] As moléculas são tipicamente formuladas nas composições e composições farmacêuticas da invenção em uma quantidade terapêutica ou diagnosticamente eficiente. Alternativamente, podem ser formuladas e administradas separadamente. Por exemplo, as outras moléculas tais como os agentes antivirais podem ser aplicadas sistemicamente, enquanto as moléculas de ligação da invenção podem ser aplicadas intravenosamente.

[000116] O tratamento pode ser alvejado em grupos de pacientes que são susceptíveis à infecção por influenza. Tais grupos de pacientes incluem, mas sem limitação, por exemplo, o paciente mais velho (por exemplo, > 50 anos, > 60 anos, e preferivelmente > 65

anos), o jovem (por exemplo, < 5 anos, < 1 ano), pacientes hospitalizados e pacientes já infectados que fora tratados com um composto antiviral, mas mostraram uma resposta antiviral inadequada. [000117] Os regimes de dosagem podem ser ajustados para fornecer as respostas desejadas ideais (por exemplo, uma resposta terapêutica). Uma faixa de dosagem adequada, por exemplo, pode ser 0,01-100 mg/kg de peso corporal, preferivelmente 0,1-50 mg/kg de peso corporal, preferivelmente 0,01-15 mg/kg de peso corporal. Além do mais, por exemplo, um bolo único pode ser administrado, várias doses divididas podem ser administradas com o tempo ou a dose pode ser proporcionalmente reduzida ou aumentada, da maneira indicada pelas exigências da situação terapêutica. As moléculas e composições de acordo com a presente invenção são preferivelmente estéreis. Os métodos para tornar estas moléculas e composições estéreis são conhecidos na técnica. As outras moléculas usadas no diagnóstico, profilaxia e/ou tratamento podem ser administradas em um regime de dosagem similar, da maneira proposta para as moléculas de ligação da invenção. Se as outras moléculas forem administradas separadamente, elas podem ser administradas a um paciente antes (por exemplo, 2 minutos, 5 minutos, 10 minutos, 15 minutos, 30 minutos, 45 minutos, 60 minutos, 2 horas, 4 horas, 6 horas, 8 horas, 10 horas, 12 horas, 14 horas, 16 horas, 18 horas, 20 horas, 22 horas, 24 horas, 2 dias, 3 dias, 4 dias, 5 dias, 7 dias, 2 semanas, 4 semanas ou 6 semanas antes), ao mesmo tempo, ou subsequente (por exemplo, 2 minutos, 5 minutos, 10 minutos, 15 minutos, 30 minutos, 45 minutos, 60 minutos, 2 horas, 4 horas, 6 horas, 8 horas, 10 horas, 12 horas, 14 horas, 16 horas, 18 horas, 20 horas, 22 horas, 24 horas, 2 dias, 3 dias, 4 dias, 5 dias, 7 dias, 2 semanas, 4 semanas ou 6 semanas após) à administração de uma ou mais das moléculas humanas de ligação ou composições farmacêuticas da invenção. O

regime de dosagem exato é em geral escolhido durante os testes clínicos em pacientes humanos.

[000118] As moléculas humanas de ligação e composições farmacêuticas que compreendem as moléculas humanas de ligação são particularmente usadas, e frequentemente preferidas, quando são administradas aos seres humanos como agentes terapêuticos in vivo, uma vez que a resposta imune do receptor ao anticorpo administrado será frequentemente e substancialmente menor que aquela ocasionada pela administração de uma molécula de ligação monoclonal de murino, quimérica ou humanizada.

[000119] Em um outro aspecto, a invenção refere-se ao uso das moléculas de ligação, tais como anticorpos monoclonais humanos neutralizantes (fragmentos e variantes funcionais destes), imunoconjugados, moléculas de ácido nucleico, composições ou composições farmacêuticas de acordo com a invenção na preparação de um medicamento para o diagnóstico, profilaxia, tratamento, ou combinação destes, de uma infecção pelo vírus Influenza, em particular uma infecção causada pelo vírus Influenza que compreende HA dos subtipos H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8, H9, H10 e/ou H11 e/ou vírus influenza B.

[000120] A seguir, estojos que compreendem pelo menos uma molécula de ligação tal como um anticorpo monoclonal humano neutralizante (fragmentos e variantes funcionais destes), pelo menos um imunoconjugado, pelo menos uma molécula de ácido nucleico, pelo menos uma composição, pelo menos uma composição farmacêutica, pelo menos um vetor, pelo menos um hospedeiro de acordo com a invenção ou uma combinação destes também são uma parte da presente invenção. Opcionalmente, os componentes descritos anteriormente dos estojos da invenção são embalados em recipientes adequados e marcados para o diagnóstico, profilaxia e/ou tratamento

das condições indicadas. Os componentes anteriormente mencionados podem ser armazenados em recipientes de dose única ou multidose como uma solução aquosa, preferivelmente estéril, ou como uma formulação liofilizada, preferivelmente estéril, para reconstituição. Os recipientes podem ser formados a partir de uma variedade de materiais tais como vidro ou plástico, e podem apresentar uma porta de acesso estéril (por exemplo, o recipiente pode ser uma bolsa ou frasco de solução intravenosa com uma rolha perfurável por uma agulha de injeção hipodérmica). O estojo pode compreender adicionalmente mais recipientes que compreendem um tampão farmacologicamente aceitável. Pode-se incluir adicionalmente outros materiais desejáveis a partir de um ponto de vista comercial e do usuário, incluindo outros tampões, diluentes, filtros, agulhas, seringas, meio de cultura para um ou mais dos hospedeiros adequados e, possivelmente ainda pelo menos um outro agente terapêutico, profilático ou de diagnóstico. Podem ser associadas aos estojos as instruções rotineiras incluídas em embalagens comerciais de produtos terapêuticos, profiláticos ou de diagnóstico, que contêm informação sobre, por exemplo, as indicações, uso, dosagem, fabricação, administração, contraindicações e/ou cuidados em relação ao uso de tais produtos terapêuticos, profiláticos ou de diagnóstico.

[000121] As moléculas de ligação de acordo com a presente invenção também podem ser vantajosamente usadas como um agente de diagnóstico em um método *in vitro* para a detecção de vírus Influenza. A invenção está relacionada assim a um método de detectar vírus Influenza grupo filogenético 1 ou grupo 2, ou vírus Influenza subtipo influenza B em uma amostra, em que o método compreende as etapas de: (a) colocar uma amostra em contato com uma quantidade diagnosticamente eficiente de uma molécula de ligação (fragmentos e variantes funcionais destes) ou um imunoc conjugado de

acordo com a invenção, e (b) determinar se a molécula de ligação ou imunoconjugado se liga especificamente a uma molécula da amostra. A amostra pode ser uma amostra biológica incluindo, mas sem limitação, sangue, soro, fezes, escarro, aspirados nasofaríngeos, lavados brônquicos, urina, tecido ou outro material biológico de sujeitos infectados (potencialmente), ou uma amostra não biológica tal como água, bebida, etc. Os sujeitos infectados (potencialmente) pode ser sujeitos humanos, mas também animais que são suspeitos de serem carreadores de vírus Influenza podem ser testados em relação à presença do vírus usando as moléculas humanas de ligação ou imunoconjugados da invenção. a amostra pode ser primeiro manipulada para prepará-la de maneira mais adequada para o método de detecção. A manipulação significa, inter alia, tratar a amostra suspeita de conter e/ou conter o vírus de uma maneira tal que o vírus seja desintegrado em componentes antigênicos tais como proteínas, polipeptídeos ou outros fragmentos antigênicos. Preferivelmente, as moléculas humanas de ligação ou imunoconjugados da invenção são colocadas em contato com a amostra em condições que permitem a formação de um complexo imunológico entre as moléculas humanas de ligação e o vírus, ou componentes antigênicos destes que podem estar presentes na amostra. A formação de um complexo imunológico, se houver, indicando a presença do vírus na amostra, é então detectada e medida por meios adequados. Tais métodos incluem, inter alia, imunoensaios de ligação homogêneos e heterogêneos, tais como análises por radioimunoensaios (RIA), ELISA, imunofluorescência, imuno-histoquímica, FACS, BIACORE e Western blot.

[000122] As técnicas de ensaio preferidas, especialmente para seleção clínica em grande escala de soros e sangue de paciente, e produtos derivados do sangue são as técnicas ELISA e Western blot. Os testes de ELISA são particularmente preferidos. Para uso como

reagentes nestes ensaios, as moléculas de ligação ou imunoconjugados da invenção são ligadas convenientemente na superfície interna de placas de microtitulação. As moléculas de ligação ou imunoconjugados da invenção podem ser ligadas diretamente no poço de microtitulação. Entretanto, a ligação máxima das moléculas de ligação ou imunoconjugados da invenção aos poços pode ser realizada pré-tratando os poços com polilisina antes da adição das moléculas de ligação ou imunoconjugados da invenção. Além do mais, as moléculas de ligação ou imunoconjugados da invenção podem ser covalentemente anexados por meios conhecidos aos poços. Em geral, as moléculas de ligação ou imunoconjugados são usadas em uma concentração entre 0,01 a 100 µg/mL para revestimento, embora as quantidades mais elevadas e mais reduzidas também possam ser usadas. As amostras são então adicionadas aos poços revestidos com as moléculas de ligação ou imunoconjugados da invenção.

[000123] Além do mais, as moléculas de ligação da invenção podem ser usadas para identificar estruturas de ligação específicas do vírus Influenza. As estruturas de ligação pode ser epítomos em proteínas e/ou polipeptídeos. Pode ser linear, mas também estruturais e/ou conformacionais. Em uma modalidade, as estruturas de ligação podem ser analisadas por meio de análise PEPSCAN (ver, inter alia, WO 84/03564, WO 93/09872, Sloatstra et al, 1996). Alternativamente, uma biblioteca aleatória de peptídeo, que compreende peptídeos de uma proteína de vírus Influenza, pode ser selecionada para peptídeos capazes de se ligar às moléculas de ligação da invenção.

[000124] A invenção é ilustrada adicionalmente nos exemplos e figuras a seguir. Os exemplos não são pretendidos para limitar o escopo da invenção de maneira alguma.

EXEMPLOS

Exemplo 1

[000125] Construção de bibliotecas de exibição de fago Fvsc usando RNA extraído de células mononucleares do sangue periférico

[000126] O sangue periférico foi coletado de doadores saudáveis normais por venapunção em tubos de amostra com anticoagulante EDTA. As bibliotecas de exibição de fago Fvsc foram obtidas da maneira descrita em WO 2008/028946, que é aqui incorporado pela referência. RNA foi isolado das células mononucleares do sangue periférico e o DNAc foi preparado. Uma abordagem de amplificação por PCR de dois ciclos foi aplicada usando os conjuntos de oligonucleotídeo iniciador mostrados nas tabelas 1 e 2 para isolar as regiões VH e VL da imunoglobulina, a partir do respectivo repertório do doador.

[000127] O primeiro ciclo de amplificação nos respectivos DNAc usando os conjuntos de oligonucleotídeo iniciador mencionados na tabela 1 rendeu 7, 6 e 9 produtos de cerca de 650 pares de base, respectivamente para as regiões VH, Vkappa e Vlambda. Para a amplificação da região VH de IgM, o oligonucleotídeo iniciador constante OCM foi usado em combinação com OH1 a OH7. O programa do termociclador para o primeiro ciclo de amplificação foi: 2 minutos a 96 °C (etapa de desnaturação), 30 ciclos de 30 segundos 96 °C/ 30 segundos a 60 °C/ 60 segundos a 72 °C, 10 min a 72 °C com alongamento final e 6 °C para refrigeração. Os produtos foram colocados e isolados em um gel de agarose a 1 % usando colunas de extração em gel (Macherey Nagel), e foram eluídos em 50 µL de Tris-HCl 5 mM pH 8,0. Dez por cento dos produtos do primeiro ciclo (3 a 5 µL) foram submetidos ao segundo ciclo de amplificação usando os oligonucleotídeos iniciadores mencionados na tabela 2. Estes oligonucleotídeos iniciadores foram estendidos com sítios de restrição que possibilitam a clonagem direcional das respectivas regiões VL e VH no vetor de exibição de fago PDV-C06. O programa de PCR para

os segundos ciclos de amplificação foi da maneira a seguir: 2 minutos a 96 °C (etapa de desnaturação), 30 ciclos de 30 segundos a 96 °C/ 30 segundos a 60 °C/ 60 segundos a 72 °C, 10 minutos a 72 °C para alongamento final e 6 °C para refrigeração. Os produtos do segundo ciclo (~350 pares de base) foram primeiro agrupados de acordo com segmentos J de ocorrência natural, encontrados nos produtos de gene de imunoglobulina, resultando em 7, 6 e 9 agrupamentos para respectivamente as regiões VH, Vkappa e Vlambda (ver tabelas 3 e 4). Para obter uma distribuição normalizada de sequências de imunoglobulina na biblioteca imune, os agrupamentos de cadeia leve 6 Vkappa e 9 Vlambda foram misturados de acordo com os percentuais mencionados na tabela 3. Este agrupamento único final VL (3 µg) foi digerido por toda a noite com as enzimas de restrição Sail e NotI, carregado e isolado a partir de um gel de agarose a 1 % (~350 pares de base), usando colunas de extração em gel Macherey Nagel, e foi ligado em no vetor PDV-C06 com corte de Sall-NotI (~5.000 pares de base) da maneira a seguir: 10 µL de vetor PDV-C06 (50 ng/µL), 7 µL de inserção de VL (10 ng/µL), 5 µL de tampão de ligação 10 X (NEB), 2,5 T4 DNA Ligase (400 U/µL) (NEB), 25,5 µL de água ultrapura (vetor para razão de inserção foi 1:2). A ligação foi realizada por toda a noite em um banho maria de 16 °C. A seguir, o volume foi duplicado com água, extraído com um volume igual de fenol-clorofórmio-álcool isoamílico (75:24:1) (Invitrogen), seguido por extração com clorofórmio (Merck) e precipitado com 1 µL de Pellet Paint (Novogen), 10 µL de acetato de sódio (3 M pH 5,0) e 100 µL de isopropanol por 2 horas a -20 °C. A amostra obtida foi subsequencialmente centrifugada a 20.000 x g por 30 minutos a 4 °C. O precipitado obtido foi lavado com etanol a 70 % e centrifugado por 10 minutos a 20.000 x g em temperatura ambiente. O etanol foi removido por aspiração a vácuo e o precipitado foi seco no ar por vários minutos, e a seguir foi dissolvido em 50 µL de

tampão contendo Tris-HCl 10 mM, pH 8,0. 2 µL de mistura de ligação foram usados para a transformação de 40 µL de células TG-1 eletrocompetentes (Agilent) em uma cubeta de eletroporação de 0,1 cm resfriada (Biorad) usando um aparelho Genepulser II (Biorad) ajustado em 1,7 kV, 200 Ohm, 25 µP (constante de tempo ~4,5 msec). Imediatamente após o pulso, as bactérias foram enxaguadas na cubeta com 1.000 µL de meio SOC (Invitrogen) contendo 5 % (p/v) de glicose (Sigma) a 37 °C e transferidas para um tubo de cultura de fundo redondo de 15 mL. Mais 500 µL de SOC/glicose foram usados para lavar as bactérias residuais na cubeta e foram adicionadas ao tubo de cultura. As bactérias foram recuperadas cultivando exatamente uma hora a 37 °C em um incubador Hasker a 220 rpm. As bactérias transformadas foram colocadas em placas de petri grandes de 240 mm (NUNC) contendo 150 mL de ágar 2TY (16 g/L de bacto-triptona, 10 g/L de bacto-extrato de levedura, 5 g/L de NaCl, 15 g/L de ágar, pH 7,0) suplementado com 50 µg/ml de ampicilina e 5 % (p/v) de glicose (Sigma). Uma diluição 1 para 1.000 foi plaqueada com propósito de contagem em placas de Petri de 15 cm contendo o mesmo meio. Este procedimento de transformação foi repetido sequencialmente dez vezes e cada transformação completa foi plaqueada em uma placa de Petri quadrada separada e crescida por toda a noite em uma estufa de cultura a 37 °C. Tipicamente, em torno de 1×10^6 cfu (1×10^6 por placa de Petri) foram obtidos usando o protocolo anterior. A biblioteca de cadeia leve de VL intermediária foi coletada das placas estriando suavemente as bactérias em 10 mL de meio 2TY por placa. A massa celular foi determinada por medição de OD600 e duas vezes 500 OD de bactérias foram usadas para a preparação de maxi DNA plasmidial usando duas colunas P500 maxiprep (Macherey Nagel), de acordo com as instruções do fabricante.

[000128] Análogo às regiões variáveis VL, os produtos do segundo ciclo VH-JH foram primeiro misturados juntos para obter a distribuição de uso do segmento J normal (ver tabela 4), resultando em 7 subgrupos VH denominados PH1 a PH7. Os agrupamentos foram misturados para adquirir uma distribuição de sequência normalizada usando os percentuais representados na tabela 4, obtendo-se a fração VH que foi digerida com as enzimas de restrição Sfil e XhoI e ligada na biblioteca intermediária de PDV-VL cortada com Sfil-XhoI, obtida da maneira descrita anteriormente. O ajuste da ligação, método de purificação, transformação subsequente de TGI e coleta de bactérias foi essencialmente da maneira descrita para a biblioteca intermediária de VL (ver anteriormente), com a exceção de que 20 transformações e 20 placas de Petri foram usadas. A biblioteca final (aproximadamente 1×10^8 cfu) foi verificada em relação à frequência de inserção com uma PCR de colônia, usando um conjunto de oligonucleotídeo iniciador que flanqueia as regiões VH-VL inseridas. 90 % das colônias mostraram um tamanho correto de inserção. Os produtos da PCR de colônia foram usados para análise subsequente de sequência de DNA para verificar a variação de sequência e para avaliar o percentual de colônias que exibem uma ORF completa. Isto resultou em 76 %. Finalmente, a biblioteca foi recuperada e amplificada usando fagos auxiliares CT (ver WO 02/103012), e foi usada para a seleção de anticorpo fágico escolhendo métodos da maneira descrita a seguir.

Exemplo 2

[000129] Seleção de fagos que carregam fragmentos Fv de cadeia simples contra hemaglutinina de Influenza A e Influenza B

[000130] Os fragmentos de anticorpo foram selecionados usando bibliotecas de exibição de fago para anticorpo, construídas essencialmente da maneira descrita anteriormente, e tecnologia de exibição de fago geral e tecnologia MABSTRACT®, essencialmente da

maneira descrita na patente U.S. 6.265.150 e em WO 98/15833 (ambos os quais são aqui incorporados pela referência). Além do mais, os métodos e fagos auxiliares da maneira descrita em WO 02/103012 (que é aqui incorporado pela referência) foram usados na presente invenção.

[000131] A seleção foi realizada contra hemaglutinina recombinante (HA) de influenza A subtipo H1 (A/New Caledonia/20/99), H3 (A/Wisconsin/67/2005), H4 (A/Duck/Hong Kong/24/1976), H5 (A/Chicken/Vietnam/28/2003), H7 (A/Netherlands/219/2003) e H9 (A/HongKong/1073/99). Os antígenos HA foram diluídos em PBS (5,0 µL), adicionados em tubos MaxiSorp™ Nunc-Immuno (Nunc) e incubados por toda a noite a 4 °C em um agitador. Os imunotubos foram esvaziados e lavados três vezes em tampão bloco (2 % de leite desnatado em pó (ELK) em PBS). Subsequentemente, os imunotubos foram preenchidos completamente com tampão em bloco e incubados por 1-2 horas em temperatura ambiente. As alíquotas de biblioteca de exibição de fago (500-1.000 µL, $0,5 \times 10^{13}$ – 1×10^{13} cfu, amplificadas usando fago auxiliar CT (ver WO 02/103012)) foram bloqueadas em tampão de bloqueio suplementado com 10 % de soro bovino fetal inativado sem ser pelo calor, e 2 % de soro de camundongo por 1-2 horas em temperatura ambiente. A biblioteca de fago bloqueado foi adicionada aos imunotubos, incubada por 2 horas em temperatura ambiente, e lavada com tampão de lavagem (0,05 % (v/v) de Tween-20 em PBS) para remover fagos não ligados. Os fagos ligados foram eluídos do respectivo antígeno por incubação com 1 mL de trietilamina 100 mM (TEA) por 10 minutos em temperatura ambiente. Subsequentemente, os fagos eluídos foram misturados com 0,5 mL de Tris-HCl 1 M pH 7,5 para neutralizar o pH. Esta mistura foi usada para infectar 5 mL de uma cultura de E. coli XL 1-azul que foi crescida a 37 °C, em uma OD de 600 nm de aproximadamente 0,3. Os fagos

infectaram naturalmente as bactérias em XL1-azul por 30 minutos a 37 °C. A seguir, a mistura foi centrifugada por 10 minutos a 3.000 x g em temperatura ambiente, e o precipitado bacteriano foi ressuspenso em 0,5 mL de meio 2-triptona extrato de levedura (2TY). A suspensão bacteriana obtida foi dividida em duas placas de ágar 2TY suplementadas com tetraciclina, ampicilina e glicose. Após incubação por toda a noite das placas a 37 °C, as colônias foram retiradas das placas e usadas para prepara uma biblioteca de fago enriquecida, essencialmente da maneira descrita por De Kruif et al. (1995) e WO 02/103012. Resumidamente, as bactérias estriadas foram usadas para inocular o meio 2TY contendo ampicilina, tetraciclina e glicose e foram crescidas em uma temperatura de 37 °C, em uma OD600 nm de ~0,3. Os fagos auxiliares CT foram adicionados e infectam naturalmente as bactérias, após o que o meio foi trocado para 2TY contendo ampicilina, tetraciclina e canamicina. A incubação continuou por toda a noite a 30 °C. No dia seguinte, as bactérias foram removidas do meio 2TY por centrifugação, após o que os fagos no meio foram precipitados usando polietileno glicol (PEG) 6.000/NaCl. Finalmente, os fagos foram dissolvidos em 2 mL de PBS com 1 % de albumina sérica bovina (BSA), esterilizados por filtração e usados no segundo ciclo de seleção. O segundo ciclo de seleção é realizado tanto no mesmo subtipo HA quanto no HA de um subtipo diferente.

[000132] Dois ciclos consecutivos de seleção foram realizados antes do isolamento de anticorpos de fago de cadeia simples individuais. Após o segundo ciclo de seleção, as colônias individuais de E. coli foram usadas para preparar anticorpos monoclonais de fago. Essencialmente, as colônias individuais foram crescidas até a fase log no formato de placa de 96 poços e infectadas com fagos auxiliares VCS-M13, após o que a produção de anticorpo de fago continuou naturalmente por toda a noite. Os fagemídeos tiveram sua sequência

analisada e todos os fagemídeos exclusivos foram usados para análise adicional. Os sobrenadantes contendo anticorpos de fago foram usados diretamente em ELISA para se ligar aos antígenos HA. Alternativamente, os anticorpos de fago foram precipitados em PEG/NaCl e esterilizados por filtração tanto por Elisa quanto por análise de citometria de fluxo.

Exemplo 3

[000133] Validação dos anticorpos de fago de cadeia simples específicos de HA

[000134] Os sobrenadantes selecionados contendo anticorpos de fago de cadeia simples, que foram obtidos nas seleções descritas anteriormente, foram validados em ELISA para especificidade, isto é, ligação em diferentes antígenos HA. Com este propósito, os baculovírus que expressaram HAs recombinantes de H1 (A/New Caledonia/20/99), H3 (A/Wisconsin/67/2005), H5 (A/Vietnam/1203/04) H7 (A/Netherlands/219/2003), e B (B/Ohio/01/2005) (Proteína Sciences, CT, USA) foram revestidos em placas de ELISA Maxisorp™. Após o revestimento, as placas foram lavadas três vezes com PBS contendo 0,1 % de Tween-20 v/v e foram bloqueadas em PBS contendo 3 % de BSA ou 2 % de ELK por 1 hora em temperatura ambiente. Os anticorpos de fago de cadeia simples selecionados foram incubados por 1 hora em um volume de PBS igual contendo 4 % de ELK, para obter anticorpos de fago bloqueados. As placas foram esvaziadas, lavadas três vezes com PBS/0,1 % de Tween-20 e os anticorpos de fago de cadeia simples bloqueados foram adicionados aos poços. A incubação continuou naturalmente por uma hora, as placas foram lavadas com PBS/0,1 % de Tween-20 e os anticorpos de fago ligados foram detectados (usando medição de OD 492nm) usando um conjugado anticorpo anti-M13 conjugado com peroxidase. Como um controle, o procedimento foi realizado simultaneamente sem

anticorpo de fago de cadeia simples e com um anticorpo de fago de cadeia simples de controle negativo não relacionado. A partir das seleções dos diferentes antígenos de HA com as bibliotecas de fago, 13 anticorpos de fago de cadeia simples exclusivos que se ligam especificamente a HA recombinante de influenza A H1, H3, H5, H7 e influenza B foram obtidos (SC09-003, SC09-004, SC09-005, SC09-006, SC09-007, SC09-008, SC09-009, SC09-010, SC09-011, SC09-030, SC09-112, SC09-113 e SC09-114). Ver tabela 5.

[000135] Alternativamente, os anticorpos de fago precipitados com PEG/NaCl e esterilizados por filtração foram usados para validar a ligação e especificidade por análise de FACS. Com este propósito, HAs de influenza A recombinante de tamanho completo, subtipos H1 (A/New Caledonia/20/1999), H3 (A Wisconsin/67/2005) e H7 (A/Netherlands/219/2003), foram expressos na superfície de células PER.C6. As células foram incubadas com anticorpos de fago de cadeia simples por 1 hora, seguido por três etapas de lavagem com PBS+0,1 % de BSA. Os fagos ligados foram detectados usando FITC conjugado com M13-anticorpo. A partir das seleções nos diferentes antígenos de HA com as bibliotecas de fago, 14 anticorpos de fago de cadeia simples que se ligam especificamente aos subtipos de influenza A H1, H3 e H7 HA foram encontrados (SC09-003, SC09-004, SC09-005, SC09-006, SC09-007, SC09-008, SC09-009, SC09-010, SC09-011, SC09-012, SC09-030, SC09-112, SC09-113 e SC09-114). Ver tabela 6.

[000136] Todos os 16 anticorpos de fago, SC09-003, SC09-004, SC09-005, SC09-006, SC09-007, SC09-008, SC09-009, SC09-010, SC09-011, SC09-012, SC09-029, SC09-030, SC09-031, SC09-112, SC09-113 e SC09-114, foram usados para a construção de imunoglobulinas completamente humanas.

Exemplo 4

[000137] Construção de moléculas de imunoglobulina completamente humanas (anticorpos monoclonais humanos) a partir de Fvs de cadeia simples selecionados

[000138] A partir dos anticorpos de fago de cadeia simples (Fvsc) específicos selecionados, clones de DNA plasmidial foram obtidos e as sequências de nucleotídeos e aminoácidos foram determinadas de acordo com técnicas padrões. As regiões variáveis de cadeia pesada e leve dos Fvscs foram clonadas diretamente por digestão com restrição para a expressão nos vetores de expressão de IgG plg-C911-HCgama1 (ver SEQ ID NO: 175), plG-C909-Ckappa (ver SEQ ID NO: 176), ou plg-C910-Clambda (ver SEQ ID No: 177). A identidade do gene de VH e VL (ver Tomlinson IM et al. V-BASE Sequence Directory. Cambridge, Reino Unido: MRC Centre for Protein Engineering (1997)) dos Fvscs foi determinada (ver tabela 7).

[000139] A sequência de nucleotídeos para todos os construtos foi verificada de acordo com técnicas padrões conhecidas pelos versados na técnica. Os construtos de expressão resultantes que expressam as cadeias pesadas e leves de IgG1 de humano foram expressas de maneira transiente, em combinação com as células 293T, e os sobrenadantes contendo anticorpos IgG1 de humanos foram obtidos e produzidos usando procedimentos de purificação padrão.

[000140] A sequência de aminoácidos das CDRs das cadeias pesadas e leves das moléculas de imunoglobulina selecionadas é fornecida na tabela 7.

[000141] O número de diferenças no aminoácido e o % de identidade de todos os domínios variáveis de cadeia pesada e leve são fornecidos na tabela 8.

Exemplo 5

[000142] Reatividade de ligação cruzada de IgGs

[000143] Um painel de cinco dos anticorpos IgG descritos

anteriormente, CR9005, CR9030, CR9112, CR9113 e CR9114, foi validado em ELISA para especificidade de ligação, isto é, que se liga em diferentes antígenos HA. Com este propósito, baculovírus que expressaram HAs recombinantes H1 (A/New Caledonia/20/1999), H3 (A/Wisconsin/67/2005), H5 (A/Vietnam/1203/04), H7 (A/Netherlands/219/2003) e H9 (A/HongKong/1073/99) (Protein Sciences, CT, Estados Unidos) foram revestidos em placas Maxisorp™ ELISA. Após revestimento, as placas foram lavadas três vezes com PBS contendo 0,1 % v/v de Tween-20 e foram bloqueadas em PBS contendo 3 % de BSA ou 2 % de ELK por 1 hora em temperatura ambiente. As placas foram esvaziadas, lavadas três vezes com PBS/0,1 % de Tween-20 e os anticorpos IgG foram adicionados aos poços. A incubação continuou naturalmente por uma hora, as placas foram lavadas com PBS/0,1 % de Tween-20 e os anticorpos ligados foram detectados (usando medição de OD 492nm) usando um anticorpo IgG anti-humano conjugado com peroxidase. Como um controle, um IgG CR4098 não relacionado foi usado.

[000144] CR9005, CR9030, CR9112, CR9113 e CR91 14 mostraram apresentar atividade de ligação cruzada heterosubtípica em todas as HAs recombinantes testadas. Ver tabela 9.

[000145] Adicionalmente, os anticorpos selecionados foram usados para testar ligação heterosubtípica por análise FACS. Com este propósito, os subtipos HAs de influenza A recombinante de tamanho completo H1 (A/New Caledonia/20/1999), H3 (A/Wisconsin/67/2005) e H7 (A/Netherlands/219/2003) foram expressos na superfície das células PER.C6. As células foram incubadas com os anticorpos IgG por 1 hora, seguido por três etapas de lavagem com PBS+0,1 % de BSA. Os anticorpos ligados foram detectados usando anticorpo anti-humano conjugado com PE. Como um controle, as células PER.C6 não transfectadas foram usadas. CR9005, CR9030, CR9112, CR9113

e CR9114 exibiram atividade de ligação cruzada com os subtipos HA de influenza A H1, H3 e H7, mas não com as células PER.C6 tipo selvagem. Ver tabela 9.

Exemplo 6

[000146] Atividade cruzada de neutralização de IgGs

[000147] A fim de determinar se os IgGs selecionados eram capazes de bloquear múltiplas cepas de influenza A, mais ensaios *in vitro* de neutralização de vírus (VNA) foram realizados. Os VNA foram realizados em células MDCK (ATCC CCL-34). As células MDCK foram cultivadas em meio de cultura de célula MDCK (meio MEM suplementado com antibióticos, Hepes 20 mM e 0,15 % (p/v) de bicarbonato de sódio (meios MEM completos), suplementado com 10 % (v/v) de soro fetal bovino). As cepas H1 (A/WSN/33, A/New Caledonia/20/1999, A/Solomon Islands/IVR-145 (recombinante com multiplicação elevada de A/Solomon Islands/3/2006), A/Brisbane/59/2007, A/NYMC/X-181 (recombinante com multiplicação elevada de A/California/07/2009), H2 (A/Env/MPU3156/05), H3 (A/Hong Kong/1/68, A/Johannesburg/33/94, A/Panama/2000/1999, A/Hiroshima/52/2005, A/Wisconsin/67/2005 e A/Brisbane/10/2007), H4 (A/WF/HK/MPA892/06), H5 (PR8-H5N1-HK97 (6:2 recombinante de A/Hong Kong/156/97 e A/PR/8/34) e A/Eurasian Wigeon/MPF461/07), H6 (A/Eurasian Wigeon/MPD41 1/07), H7 (NIBRG-60 (6:2 recombinante de A/Mallard/Netherlands/ 12/2000) e PR8-H7N7-NY (7:1 recombinante de A/New York/107/2003 (H7N7) e A/PR/8/34)), H8 (A/Eurasian Wigeon/MPH571/08) H9 (A/Hong Kong/1073/99 e A/Chick/HK/SSP 176/09), H10 (A/Chick/Germany/N/49) e H14 (PR8-H14N5 (6:2 recombinante de A/mallard/Astrakhan/263/1982 (H14N5) e A/PR/8/34)) que foram usadas no ensaio foram todas diluídas em uma titulação de $5,7 \times 10^3$ TCID₅₀/mL (50 % de dose infectiva de cultura de tecido por mL), com a titulação calculada de acordo com o método

de Spearman e Karber. As preparações de IgG (200 µg/mL) foram diluídas em série de 2 vezes (1:2 - 1:512) em meio MEM completo, em poços quadruplicados. 25 µL da respectiva diluição de IgG foram misturados com 25 µL de suspensão de vírus (100 TCID₅₀/25 µL) e incubados por uma hora a 37 °C. A suspensão foi então transferida em quadruplicata em placas de 96 poços contendo culturas confluentes de MDCK, em 50 µL de meio MEM completo. Antes do uso, as células MDCK foram semeadas em 3 x 10⁴ células por poço em meio de cultura de célula MDCK, crescendo até as células atingirem confluência, foram lavadas com 300-350 µL de PBS, pH 7,4, e finalmente 50 µL de meio MEM completo foram adicionados em cada poço. As células inoculadas foram cultivadas por 3-4 dias a 37 °C e foram observadas diariamente para o desenvolvimento de efeito citopatogênico (CPE). O CPE foi comparado com o controle positivo.

[000148] CR9005, CR9112, CR9113 e CR9114 mostram atividade cruzada heterosubtípica de neutralização com as cepas representativas de todos os subtipos de vírus influenza A testados H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8, H9 e H10. Ver tabela 10.

Exemplo 7

[000149] Anticorpos pan-influenza se ligam à conformação de pré-fusão de HA

[000150] A fim de determinar se os IgGs selecionados eram capazes de se ligar à conformação pré ou pós-fusão da molécula HA, um experimento in vitro com alteração de pH foi realizado. Com este propósito, os subtipos HA de influenza A recombinante de tamanho total H1 (A/New Caledonia/20/99), H3 (A/Wisconsin/67/2005), H5 (A/Vietnam/1203/04), H7 (A/Netherlands/219/03) e H9 (A/Hong Kong/1073/99) foram expressos na superfície das células PER.C6. Para garantir a ligação de mAb em diferentes conformações estruturais de HA, as células foram desanexadas do suporte plástico

usando PBS-EDTA, e foram subsequentemente tratadas com tripsina (TrypLE™Select, Gibco) por 5 minutos em RT, lavadas (1 % de BSA em PBS) e incubadas por 15 minutos em tampão de ácido cítrico-fosfato de sódio (pH 4,9). As amostras de célula foram reservadas após cada etapa de processamento (não tripsinizada/HA0; tripsinizada/HA1-HA2; pH 4,9/HÁ de fusão) e as frações de cada tratamento foram incubadas com mAb CR9114 por 1 hora. As células foram então incubadas por 30 minutos com IgG anti-humano conjugado com ficoeritrina (Southern Biotech) em 1 % de BSA. As células coradas foram analisadas usando um FACS Canto com software FACS Diva (Becton Dickinson). A ligação FACS de IgG1s em HA expressa na superfície ocorreu após tratamento sequencial com tripsina e meio tamponado com pH 4,9, e foi expressa como ligação percentual em HÁ não tratada (A). Ver figura 1A.

[000151] O anticorpo CR9114 mostra uma diminuição acentuada na ligação após alteração de pH, indicando especificidade para um epítipo presente apenas antes do pH baixo ter induzido alteração conformacional da molécula de HA.

[000152] Alternativamente, para testar se os IgGs podem bloquear a alteração conformacional de HA induzida pelo baixo pH, o anticorpo CR9114 foi adicionado antes da etapa de pH baixo. As amostras de tratamentos consecutivos foram divididas e coradas com cada IgG anti-humana conjugada com ficoeritrina (Southern Biotech). As células coradas foram analisadas usando um FACS Canto com software FACS Diva (Becton Dickinson). Ver figura 1B.

[000153] O anticorpo CR9114 mostra um nível elevado de ligação residual com vários HAs após o deslocamento de pH, indicando que quando estes anticorpos são ligados na molécula de HA, a alteração conformacional induzida por pH baixo não ocorre.

Exemplo 8

[000154] Medições de afinidade de Fabs em várias HAs de influenza A e B.

[000155] HA solúvel recombinante de *A/New Caledonia/20/1999* (H1), *A/Brisbane/59/2007* (H1), *A/Wisconsin/67/2005* (H3), *A/Brisbane/10/2007* (H3), *B/Florida/4/2006* (B), *B/Brisbane/60/2008* (B) e *B/Malaysia/2506/2004* (B) produzidas usando vetores de baculovírus em células de inseto foram obtidas de Protein Sciences Corp (CT, USA) e biotiniladas em temperatura ambiente (RT) por 40 minutos, usando sulfo-NHS-LC-LC-biotina ligado a EZ (Pierce). A etapa de troca de tampão para PBS foi realizada usando filtros centrífugos Amicon Ultra de 0,5 mL (Millipore). HA biotinilada foi ligada aos sensores de estreptavidina a 37 °C por 1.200 segundos. A associação de fragmento Fab de CR9005, CR9112, CR9113 e CR9114 em HA foi medida em Octet QK (ForteBio) por 700 segundos a 37 °C, expondo os sensores a 100 nM de anticorpo em tampão conético 1 x (ForteBio). A dissociação dos fragmentos Fab foi avaliada expondo os sensores ao tampão cinético 1 x por 9.000 segundos a 37 °C. Os fragmentos Fab de CR9005, CR9112, CR9113 e CR9114 se ligaram todos com afinidades micro a pico-molar à HA H1, H3 de influenza B.

Exemplo 9

[000156] Competição por ligação com outros anticorpos de ligação central

[000157] HA solúvel recombinante de *A/New Caledonia/20/1999* (H1N1) e *A/Wisconsin/67/2005* (H3N2) produzida usando vetores baculovírus em células de inseto foi obtida de Protein Sciences Corp (CT, USA) e biotinilada em temperatura ambiente (RT) por 40 minutos, usando sulfo-NHS-LC-LC-biotina ligada a EZ (Pierce). A etapa de troca de tampão para PBS foi realizada usando filtros de centrífuga 0,5 mL da Amicon Ultra (Millipore). HA biotinilada foi ligada aos sensores de estreptavidina a 37 °C por 1.200 segundos. A associação de

anticorpos CR9114 e CR6261 com HA H1 foi medida em *Octet QK* (ForteBio) por 700 segundos a 37 °C, expondo os sensores em 100 nM de anticorpo em tampão cinético 1 x (ForteBio), após o que o grau de ligação adicional foi avaliado expondo os sensores em um segundo anticorpo (100 nM em tampão cinético 1 x), na presença do primeiro anticorpo (100 nM) por 700 segundos a 37 °C. Como um controle, mAb CR9020, que se liga à parte principal globular de H1 foi usado. A associação de anticorpos CR9114 e CR8020 em HA H3 foi medida em *Octet QK* (ForteBio) por 900 segundos a 37 °C, expondo os sensores em 100 nM de anticorpo em tampão cinético 1 x (ForteBio), após o que o grau de ligação adicional foi avaliado expondo os sensores a um segundo anticorpo (100 nM em tampão cinético 1 x), na presença do primeiro anticorpo (100 nM) por 900 segundos a 37 °C. Como um controle, mAb CR8057, que se liga à parte principal globular de H3 foi usado.

[000158] CR9114 competes para se ligar à HÁ H1 com CR6261 e a HA H3 com CR8020. Portanto, CR9114 se liga provavelmente a um epítopo que se sobrepõe tanto com os epítopos de CR6261 quanto de CR8020 na região central de HA. (Ver figura 2)

Exemplo 10

[000159] Atividade profilática de anticorpo monoclonal IgG de humano CR9114 contra o desafio letal de influenza B *in vivo*

[000160] Um estudo foi realizado para testar o efeito profilático do anticorpo monoclonal CR9114 contra um desafio letal com vírus influenza B *in vivo*. MAb CR9114 foi testado em relação à eficiência profilática em um modelo de camundongo com desafio letal, com vírus influenza B/Florida/04/2006 adaptado para camundongo (Central Veterinary Institute (CVI), Lelystad, Holanda). O vírus B/Florida/04/2006 foi adaptado para camundongos após 5 passagens pulmão-a-pulmão. O vírus influenza B com 5 passagens adaptado a

camundongo foi propagado em ovos embrionados de galinha em laboratório CVI. Todos os camundongos (Balb/c, fêmea, 6-8 semanas, n=10 por grupo) foram climatizados e mantidos por um período de pelo menos 4 dias antes do início do experimento. MAb CR9114 foi dosado em 15 mg/kg intravenosamente na veia caudal (veia coccígena) no dia 1 antes do desafio, assumindo um peso médio de 18 g por camundongo e um volume de dose fixo de 0,2 mL. Um grupo controle foi obtido e dosado com veículo controle. Os camundongos foram então desafiados no dia 0 com 25 LD₅₀ de vírus influenza B *B/Florida/04/2006* por inoculação intranasal. Os sinais clínicos e pesos corporais foram determinados diariamente a partir do dia 1 antes do desafio, até o dia 8. Os sinais clínicos foram classificados com um sistema de classificação (0=sem sinais clínicos; 1=revestimento rugoso; 2=revestimento rugoso, menos reativo durante o manuseio; 3=revestimento rugoso, enrolado, respiração forçada, menos reativo durante o manuseio; 4=revestimento rugoso, enrolado, respiração forçada, resposta inativa à manipulação/manuseio). Em uma classificação de 4, o animal foi eutanizado.

[000161] Todos os camundongos estavam ativos e pareciam saudáveis sem mostrar sinais de doença durante o período de climatização. A figura 3A mostra as taxas de sobrevivência dos camundongos, após administração de mAb. Os camundongos dosados com 15 mg/kg de mAb CR9114 mostraram uma taxa de sobrevivência de 100 %, ao passo que nenhum grupo mAb controle sobreviveu 50 %.

[000162] Na figura 3B, é mostrada a mudança do peso corporal médio dos camundongos durante o período de 8 dias de estudo, após a administração de mAb. No grupo mAb CR9114 os camundongos não perderam peso durante o período de 8 dias no estudo, ao passo que no grupo de veículo controle a perda de peso foi observada. As

classificações clínicas medianas dos camundongos são representadas na figura 3C. Dos camundongos tratados com 15 mg/kg de mAb CR9114 no dia 1 pré-desafio, todos sobreviveram e nenhum dos animais mostrou nenhum sinal clínico durante o período de observação (a partir do dia 0 ao dia 8, após infecção). Estes resultados mostraram que o anticorpo humano anti-influenza CR9114, identificado e desenvolvido da maneira aqui descrita, é capaz de fornecer proteção contra uma dose letal de vírus influenza B *in vivo*. Quando administrado um dia antes da infecção, em uma dose de 15 mg/kg ou mais, mAb CR9114 foi capaz de prevenir de maneira competitiva a manifestação clínica de infecção por influenza B em camundongos.

Tabela 1. Primeiro ciclo de amplificações de Vkappa, Vlambda e VH

Nome do iniciador	Sequência de nucleotídeo do iniciador	SEQ ID NO:
OK1 (HuVK1B)	GAC ATC CAG WTG ACC CAG TCT CC	65
OK2 (HuVK2)	GAT GTT GTG ATG ACT CAG TCT CC	66
OK3 (HuVK2B2)	GAT ATT GTG ATG ACC CAG ACT CC	67
OK4 (HuVK3B)	GAA ATT GTG WTG ACR CAG TCT CC	68
OK5 (HuVK5)	GAA ACG ACA CTC ACG CAG TCT CC	69
OK6 (HuVK6)	GAA ATT GTG CTG ACT CAG TCT CC	70
OCK (HuCK)	ACA CTC TCC CCT GTT GAA GCT CTT	71
OL1 (HuVL1A)*	CAG TCT GTG CTG ACT CAG CCA CC	72
OL1 (HuVL1B)*	CAG TCT GTG YTG ACG CAG CCG CC	73
OL1 (HuVL1C)*	CAG TCT GTC GTG ACG CAG CCG CC	74
OL2 (HuVL2B)	CAG TCT GCC CTG ACT CAG CC	75
OL3 (HuVL3A)	TCC TAT GWG CTG ACT CAG CCA CC	76
OL4 (HuVL3B)	TCT TCT GAG CTG ACT CAG GAC CC	77
OL5 (HuVL4B)	CAG CYT GTG CTG ACT CAA TC	78

Nome do iniciador	Sequência de nucleotídeo do iniciador	SEQ ID NO:
OL6 (HuVL5)	CAG GCT GTG CTG ACT CAG CCG TC	79
OL7 (HuVL6)	AAT TTT ATG CTG ACT CAG CCC CA	80
OL8 (HuVL7/8)	CAG RCT GTG GTG ACY CAG GAG CC	81
OL9 (HuVL9)#	CWG CCT GTG CTG ACT CAG CCM CC	82
OL9 (HuVL10)#	CAG GCA GGG CTG ACT CAG	83
OCL (HuCL2)X	TGA ACA TTC TGT AGG GGC CAC TG	84
OCL (HuCL7)X	AGA GCA TTC TGC AGG GGC CAC TG	85
OH1(HuVH1B7A)+	CAG RTG CAG CTG GTG CAR TCT GG	86
OH1 (HuVH1C)+	SAG GTC CAG CTG GTR CAG TCT GG	87
OH2 (HuVH2B)	CAG RTC ACC TTG AAG GAG TCT GG	88
OH3 (HuVH3A)	GAG GTG CAG CTG GTG GAG	89
OH4 (HuVH3C)	GAG GTG CAG CTG GTG GAG WCY GG	90
OH5 (HuVH4B)	CAG GTG CAG CTA CAG CAG TGG GG	91
OH6 (HuVH4C)	CAG STG CAG CTG CAG GAG TCS GG	92
OH7 (HuVH6A)	CAG GTA CAG CTG CAG CAG TCA GG	93
OCM (HuCIgM)	TGG AAG AGG CAC GTT CTT TTC TTT	94

* Mix em razão 1:1:1

Mix em razão 1:1

X Mix em razão 1:1

+ Mix em razão 1:1

Tabela 2. Segundo ciclo de amplificações de Vkappa, Vlambda e VH

Nome do iniciador	Sequência de nucleotídeo do iniciador	SEQ ID NO
OK1S (HuVK1B-SAL)	TGA GCA CAC AGG TCG ACG GAC ATC CAG WTG ACC CAG TCT CC	95
OK2S (HuVK2-SAL)	TGA GCA CAC AGG TCG ACG GAT GTT GTG ATG ACT CAG TCT CC	96
OK3S (HuVK2B2-SAL)	TGA GCA CAC AGG TCG ACG GAT ATT GTG ATG ACC CAG ACT CC	97
OK4S (HuVK3B-SAL)	TGA GCA CAC AGG TCG ACG GAA ATT GTG WTG ACR CAG TCT CC	98
OK5S (HuVK5-SAL)	TGA GCA CAC AGG TCG ACG GAA ACG ACA CTC ACG CAG TCT CC	99
OK6S (HuVK6-SAL)	TGA GCA CAC AGG TCG ACG GAA ATT GTG CTG ACT CAG TCT CC	100
OJK1 (HuJK1-NOT)	GAG TCA TTC TCG ACT TGC GGC CGC ACG TTT GAT TTC CAC CTT GGT CCC	101
OJK2 (HuJK2-NOT)	GAG TCA TTC TCG ACT TGC GGC CGC ACG TTT GAT CTC CAG CTT GGT CCC	102
OJK3 (HuJK3-NOT)	GAG TCA TTC TCG ACT TGC GGC CGC ACG TTT GAT ATC CAC TTT GGT CCC	103
OJK4 (HuJK4-NOT)	GAG TCA TTC TCG ACT TGC GGC CGC ACG TTT GAT CTC CAC CTT GGT CCC	104
OJK5 (HuJK5-NOT)	GAG TCA TTC TCG ACT TGC GGC CGC ACG TTT AAT CTC CAG TCG TGT CCC	105
OL1S (HuVL1A-SAL)*	TGA GCA CAC AGG TCG ACG CAG TCT GTG CTG ACT CAG CCA CC	106

Nome do iniciador	Sequência de nucleotídeo do iniciador	SEQ ID NO
OL1S (HuVL1B-SAL)*	TGA GCA CAC AGG TCG ACG CAG TCT GTG YTG ACG CAG CCG CC	107
OL1S (HuVL1C-SAL)*	TGA GCA CAC AGG TCG ACG CAG TCT GTC GTG ACG CAG CCG CC	108
OL2S (HuVL2B-SAL)	TGA GCA CAC AGG TCG ACG CAG TCT GCC CTG ACT CAG CC	109
OL3S (HuVL3A-SAL)	TGA GCA CAC AGG TCG ACG TCC TAT GWG CTG ACT CAG CCA CC	110
OL4S (HuVL3B-SAL)	TGA GCA CAC AGG TCG ACG TCT TCT GAG CTG ACT CAG GAC CC	111
OL5S (HuVL4B-SAL)	TGA GCA CAC AGG TCG ACG CAG CYT GTG CTG ACT CAA TC	112
OL6S (HuVL5-SAL)	TGA GCA CAC AGG TCG ACG CAG GCT GTG CTG ACT CAG CCG TC	113
OL7S (HuVL6-SAL)	TGA GCA CAC AGG TCG ACG AAT TTT ATG CTG ACT CAG CCC CA	114
OL8S (HuVL7/8-SAL)	TGA GCA CAC AGG TCG ACG CAG RCT GTG GTG ACY CAG GAG CC	115
OL9S (HuVL9-SAL)#	TGA GCA CAC AGG TCG ACG CWG CCT GTG CTG ACT CAG CCM CC	116
OL9S (HuVL10-SAL)#	TGA GCA CAC AGG TCG ACG CAG GCA GGG CTG ACT CAG	117
OJL1 (HuJL1-NOT)	GAG TCA TTC TCG ACT TGC GGC CGC ACC TAG GAC GGT GAC CTT GGT CCC	118
OJL2 (HuJL2/3-NOT)	GAG TCA TTC TCG ACT TGC GGC CGC ACC TAG GAC GGT CAG CTT GGT CCC	119

Nome do iniciador	Sequência de nucleotídeo do iniciador	SEQ ID NO
OJL3 (HuJL7-NOT)	GAG TCA TTC TCG ACT TGC GGC CGC ACC GAG GAC GGT CAG CTG GGT GCC	120
OH1S (HuVH1B-SFI)+	GTC CTC GCA ACT GCG GCC CAG CCG GCC ATG GCC CAG RTG CAG CTG GTG CAR TCT GG	121
OH1S (HuVH1C-SFI)+	GTC CTC GCA ACT GCG GCC CAG CCG GCC ATG GCC SAG GTC CAG CTG GTR CAG TCT GG	122
OH2S (HuVH2B-SFI)	GTC CTC GCA ACT GCG GCC CAG CCG GCC ATG GCC CAG RTC ACC TTG AAG GAG TCT GG	123
OH3S (HuVH3A-SFI)	GTC CTC GCA ACT GCG GCC CAG CCG GCC ATG GCC GAG GTG CAG CTG GTG GAG	124
OH4S (HuVH3C-SFI)	GTC CTC GCA ACT GCG GCC CAG CCG GCC ATG GCC GAG GTG CAG CTG GTG GAG WCY GG	125
OH5S (HuVH4B-SFI)	GTC CTC GCA ACT GCG GCC CAG CCG GCC ATG GCC CAG GTG CAG CTA CAG CAG TGG GG	126
OH6S (HuVH4C-SFI)	GTC CTC GCA ACT GCG GCC CAG CCG GCC ATG GCC CAG STG CAG CTG CAG GAG TCS GG	127
OH7S (HuVH6A-SFI)	GTC CTC GCA ACT GCG GCC CAG CCG GCC ATG GCC CAG GTA CAG CTG CAG CAG TCA GG	128
OJH1 (HuJH1/2-XHO)	GAG TCA TTC TCG ACT CGA GAC RGT GAC CAG GGT GCC	129

Nome do iniciador	Sequência de nucleotídeo do iniciador	SEQ ID NO
OJH2 (HuJH3-XHO)	GAG TCA TTC TCG ACT CGA GAC GGT GAC CAT TGT CCC	130
OJH3 (HuJH4/5-XHO)	GAG TCA TTC TCG ACT CGA GAC GGT GAC CAG GGT TCC	131
OJH4 (HuJH6-XHO)	GAG TCA TTC TCG ACT CGA GAC GGT GAC CGT GGT CCC	132

* Mix em razão 1:1:1

Mix em razão 1:1

+ Mix em razão 1:1

Tabela 3: Visão geral do segundo ciclo de amplificações da região VL

Molde	iniciador 5'	iniciador 3'	Produto	Comparti- lhado em PK/PL (%)	Agrupa- mento	Compartilh ado em VL (%)
	OK1S	OJK1	K1J1	25		
	OK1S	OJK2	K1J2	25		
K1	OK1S	OJK3	K1J3	10	PK1	30
	OK1S	OJK4	K1J4	25		
	OK1S	OJK5	K1J5	15		
	OK2S	OJK1	K2J1	25		
	OK2S	OJK2	K2J2	25		
K2	OK2S	OJK3	K2J3	10	PK2	4
	OK2S	OJK4	K2J4	25		
	OK2S	OJK5	K2J5	15		
	OK3S	OJK1	K3J1	25		
	OK3S	OJK2	K3J2	25		
K3	OK3S	OJK3	K3J3	10	PK3	1
	OK3S	OJK4	K3J4	25		
	OK3S	OJK5	K3J5	15		
	OK4S	OJK1	K4J1	25		

	OK4S	OJK2	K4J2	25		
K4	OK4S	OJK3	K4J3	10	PK4	19
	OK4S	OJK4	K4J4	25		
	OK4S	OJK5	K4J5	15		
	OK5S	OJK1	K5J1	25		
	OK5S	OJK2	K5J2	25		
K5	OK5S	OJK3	K5J3	10	PK5	1
	OK5S	OJK4	K5J4	25		
	OK5S	OJK5	K5J5	15		
	OK6S	OJK1	K6J1	25		
	OK6S	OJK2	K6J2	25		
K6	OK6S	OJK3	K6J3	10	PK6	5
	OK6S	OJK4	K6J4	25		
	OK6S	OJK5	K6J5	15		
	OL1S	OJL1	L1J1	30		
L1	OL1S	OJL2	L1J2	60	PL1	14
	OL1S	OJL3	L1J3	10		
	OL2S	OJL1	L2J1	30		
L2	OL2S	OJL2	L2J2	60	PL2	10
	OL2S	OJL3	L2J3	10		
	OL3S	OJL1	L3J1	30		
L3	OL3S	OJL2	L3J2	60	PL3	10
	OL3S	OJL3	L3J3	10		
	OL4S	OJL1	L4J1	30		
L4	OL4S	OJL2	L4J2	60	PL4	1
	OL4S	OJL3	L4J3	10		
	OL5S	OJL1	L5J1	30		
L5	OL5S	OJL2	L5J2	60	PL5	1
	OL5S	OJL3	L5J3	10		
	OL6S	OJL1	L6J1	30		
L6	OL6S	OJL2	L6J2	60	PL6	1
	OL6S	OJL3	L6J3	10		

	OL7S	OJL1	L7J1	30		
L7	OL7S	OJL2	L7J2	60	PL7	1
	OL7S	OJL3	L7J3	10		
	OL8S	OJL1	L8J1	30		
L8	OL8S	OJL2	L8J2	60	PL8	1
	OL8S	OJL3	L8J3	10		
	OL9S	OJL1	L9J1	30		
L9	OL9S	OJL2	L9J2	60	PL9	1
	OL9S	OJL3	L9J3	10		
					VL	100%

Tabela 4: Visão geral do segundo ciclo de amplificações da região VH

Mold e	iniciador 5'	iniciador 3'	Produto	Compartilhado em PK/PL (%)	Agrupamento	Compartilhado em VL (%)
	OH1S	OJH1	H1J1	10		
	OH1S	OJH2	H1J2	10		
H1	OH1S	OJH3	H1J3	60	PH1	25
	OH1S	OJH4	H1J4	20		
	OH2S	OJH1	H2J1	10		
	OH2S	OJH2	H2J2	10		
H2	OH2S	OJH3	H2J3	60	PH2	2
	OH2S	OJH4	H2J4	20		
	OH3S	OJH1	H3J1	10		
	OH3S	OJH2	H3J2	10		
H3	OH3S	OJH3	H3J3	60	PH3	25
	OH3S	OJH4	H3J4	20		
	OH4S	OJH1	H4J1	10		
	OH4S	OJH2	H4J2	10		
H4	OH4S	OJH3	H4J3	60	PH4	25
	OH4S	OJH4	H4J4	20		
	OH5S	OJH1	H5J1	10		
	OH5S	OJH2	H5J2	10		

Mold e	iniciador 5'	iniciador 3'	Produto	Compartilhado em PK/PL (%)	Agrupamento	Compartilhado em VL (%)
H5	OH5S	OJH3	H5J3	60	PH5	2
	OH5S	OJH4	H5J4	20		
	OH6S	OJH1	H6J1	10		
	OH6S	OJH2	H6J2	10		
H6	OH6S	OJH3	H6J3	60	PH6	20
	OH6S	OJH4	H6J4	20		
	OH7S	OJH1	H7J1	10		
	OH7S	OJH2	H7J2	10		
H7	OH7S	OJH3	H7J3	60	PH7	1
	OH7S	OJH4	H7J4	20		
					VH	100%

Tabela 5: Atividade de ligação cruzada de anticorpos de fago de cadeia simples precipitado em PEG/NACl e esterilizado por filtração em HA de diferentes subtipos, da maneira medida por ELISA. +=ligação (fundo > 4 x); +/- pouca ligação (fundo 2-4 x); -= ligação não detectável; H1= HA de influenza A subtipo H1; H3= HA de influenza A subtipo H3; H5= HA de influenza A subtipo H5; H7= HA de influenza A subtipo H7; B= HA de vírus influenza B; Rabies= glicoproteínas de vírus Rabies

	ELISA de Phage midi					
	H1	H3	H5	H7	B	Rabies
sc09-003	+	+	+	+	+	-
sc09-004	+	+	+	+	+	-
sc09-005	+	+	+	+	+	-
sc09-006	+	+	+	+	+	-
sc09-007	+	+/-	+	+	+/-	-
sc09-008	+	+/-	+	+	+/-	-
sc09-009	+	+/-	+	+	+/-	-
sc09-010	+	+	+	+	+/-	-

sc09-011	+	+	+	+	+	-
sc09-012	+	+	+	+	-	-
sc09-029	+	+/-	+	+	-	-
sc09-030	+	+	+	+	+	-
sc09-031	+	+/-	+	+	-	-
sc09-112	+	+	+	+	+	-
sc09-113	+	+	+	+	+	-
sc09-114	+	+	+	+	+	-

Tabela 6: Análise FACS de anticorpos de fago precipitados em PEG/NaCl e esterilizados por filtração. +=ligação (fundo > 4 x); +/-= pouca ligação (fundo 2-4 x); -= ligação não detectável; PER.C6= células PER.C6 não transfectadas (controle); mH1, mH3, mH7= HA ligada à membrana dos subtipos H1, H3 e H7, respectivamente.

	FACS de Phage midi (% fechado UL)			
	PerC6	mH1	mH3	mH7
sc09-003	-	+	+	+
sc09-004	-	+	+	+
sc09-005	-	+	+	+
sc09-006	-	+	+	+
sc09-007	-	+	+/-	+
sc09-008	-	+	+/-	+
sc09-009	-	+	+/-	+
sc09-010	-	+	+	+
sc09-011	-	+	+	+
sc09-012	-	+	+	+
sc09-029	-	+	-	+/-
sc09-030	-	+	+	+
sc09-031	-	+	-	+/-
sc09-112	-	+	+	+
sc09-113	-	+	+	+
sc09-114	-	+	+	+

Tabela 7: Dados das regiões CDR fdmoglobulinas específicas de HA. A SEQ ID NO é fornecida entre parênteses.

IgG#	VH	HC CDR1	HC CDR2	HC CDR3	VL	LC CDR1	LC CDR2	LC CDR3
CR9003	IGHV1-69*06	GGTSNNFG (133)	ISPIFGST (134)	ARHGNYYFYs GMDL (135)	IGLV3-21*02	NVGSNS (136)	DDR (137)	QVWDSSSDHRV (138)
CR9004	IGHV1-69*06	GGTSNNYA (139)	VSPIFGS T (140)	ARHGNYYYNS GMDV (141)	IGLV1-44*01	DSNIGRR S (142)	SND (143)	AAWDDSLKGAV (144)
CR9005	IGHV1-69*06	GGTSNNYA (139)	ISPIFGST (134)	ARHGNYYYYS GMDL (145)	IGLV2-14*01	SSDVGG YNY (146)	DVS (174)	CSYAGSAKGV (147)
CR9006	IGHV1-69*06	GGTSNNYA (139)	ISPIFGST (134)	ARHGNYYYYS GMDL (145)	IGLV3-21*02	NIGSKT (148)	GDS (149)	QVWDSSSDHPG AV (150)
CR9007	IGHV1-69*06	GGTSNNYA (139)	ISPIFGSA (151)	ARHGNYYYYS GMDV (152)	IGLV1-44*01	SSNIGSN T (153)	GDD (154)	ATWDDSLNGHV (155)
CR9008	IGHV1-69*06	GGTSNNYA (139)	ISPIFGST (134)	ARHGNYYYYS GMDV (152)	IGLV3-21*02	NIGSKT (148)	GDS (149)	QVWDSSSDHPG AV (150)
CR9009	IGHV1-69*06	GGTSNNYA (139)	ISPIFGST (134)	ARHGNYYYYS GMDV (152)	IGKV1-12*01	QHISW (156)	SAS (157)	QQANSFPLT (158)
CR9010	IGHV1-69*06	GGTSNNYA (139)	ISPIFGST (134)	ARHGNYYYYS GMDV (152)	IGLV3-21*02	NIGSKT (148)	VDS (159)	QVWDSNSDHPG AV (160)
CR9011	IGHV1-69*06	GGTSNNYA (139)	ISPIFGSA (151)	ARHGNYYYYS GTDV (161)	IGLV1-44*01	DSNIGRR S (142)	SND (143)	AAWDDSLKGAV (144)

IgG#	VH	HC CDR1	HC CDR2	HC CDR3	VL	LC CDR1	LC CDR2	LC CDR3
CR9012	IGHV1-69*06	GGTSNNYA (139)	ISPIFGSA (151)	ARHGTYYYYS GMDV (162)	IGLV1-40*02	SSNIGAG YD (163)	GNN (164)	QSYDQNLSEGV (165)
CR9029	IGHV1-69*06	GGTSNNYA (139)	ISPIFGST (134)	ARHGNYYYYYS GMDV (152)	IGKV3-20*01	QSVSSY (166)	GAS (167)	QQYGSSPFA (168)
CR9030	IGHV1-69*06	GGTSNNYA (139)	ISPIFGST (134)	ARHGNYYYYYS GMDV (152)	IGLV3-21*02	NIGSKS (169)	GDS (149)	QVWDSSSDHPG AV (150)
CR9031	IGHV1-69*06	GGTSNNYA (139)	ISPIFGST (134)	ARHGNYYYNS GMDV (141)	IGLV1-40*01	SSNIGAG YD (163)	DNN (169)	QSYDSGLSASPY V (170)
CR9112	IGHV1-69*06	GGTSNNYA (139)	ISPIFGST (134)	ARHGNYYYYYS GMDV (152)	IGLV1-40*01	SANIGAG YD (171)	GNN (164)	QSYDSSLGAL (172)
CR9113	IGHV1-69*06	GGTSNNYA (139)	ISPIFGST (134)	ARHGNYYYYYS GMDL (145)	IGLV1-44*01	DSNIGRR S (142)	SND (143)	AAWDASLSGPV (173)
CR9114	IGHV1-69*06	GGTSNNYA (139)	ISPIFGST (134)	ARHGNYYYYYS GMDV (152)	IGLV1-44*01	DSNIGRR S (142)	SND (143)	AAWDDSLKGAV (144)

Tabela 8: Tabelas com identidade cruzada de sequências de aminoácidos dos domínios variáveis de cadeia pesada e leve

A.

		Diferenças De Aminoácidos Na Cadeia Pesada															
		SC09-007	SC09-011	SC09-112	SC09-010	SC09-029	SC09-008	SC09-030	SC09-114	SC09-009	SC09-004	SC09-031	SC09-005	SC09-006	SC09-012	SC09-113	SC09-003
Identidade percentual	SC09-007		2	3	5	5	6	5	4	5	5	6	7	9	3	11	15
	SC09-011	98,4		5	5	5	6	7	6	7	7	8	9	9	3	13	15
	SC09-112	97,5	95,9		2	2	3	2	1	2	2	3	4	6	6	8	12
	SC09-010	95,9	95,9	98,4		0	3	4	3	4	4	5	6	4	6	10	10
	SC09-029	95,9	95,9	98,4	100,0		3	4	3	4	4	5	6	4	6	10	10
	SC09-008	95,0	95,0	97,5	97,5	97,5		3	2	3	5	6	5	5	7	9	11
	SC09-030	95,9	94,2	98,4	96,7	96,7	97,5		1	2	4	5	4	6	8	6	12
	SC09-114	96,7	95,0	99,2	97,5	97,5	98,4	99,2		1	3	4	3	5	7	7	11
	SC09-009	95,9	94,2	98,4	96,7	96,7	97,5	98,4	99,2		4	5	4	6	8	8	12
	SC09-004	95,9	94,2	98,4	96,7	96,7	95,9	96,7	97,5	96,7		3	6	8	8	10	14
	SC09-031	95,0	93,4	97,5	95,9	95,9	95,0	95,9	96,7	95,9	97,5		5	7	9	11	15
	SC09-005	94,2	92,6	96,7	95,0	95,0	95,9	96,7	97,5	96,7	95,0	95,9		2	8	6	10
	SC09-006	92,6	92,6	95,0	96,7	96,7	95,9	95,0	95,9	95,0	93,4	94,2	98,4		8	8	8
	SC09-012	97,5	97,5	95,0	95,0	95,0	94,2	93,4	94,2	93,4	93,4	92,6	93,4	93,4		12	14
	SC09-113	90,9	89,3	93,4	91,7	91,7	92,6	95,0	94,2	93,4	91,7	90,9	95,0	93,4	90,1		8
	SC09-003	87,6	87,6	90,1	91,7	91,7	90,9	90,1	90,9	90,1	88,4	87,6	91,7	93,4	88,4	93,4	

B.

		diferenças de aminoácidos na cadeia leve															
		SC09-011	SC09-114	SC09-004	SC09-113	SC09-007	SC09-012	SC09-112	SC09-031	SC09-005	SC09-006	SC09-008	SC09-030	SC09-010	SC09-003	SC09-009	SC09-029
Identidade percentual	SC09-011		0	2	7	14	29	26	34	44	47	47	45	52	47	62	64
	SC09-114	100,0		2	7	14	29	26	34	44	47	47	45	52	47	62	64
	SC09-004	98,2	98,2		5	16	27	24	32	42	49	49	47	54	49	62	64
	SC09-113	93,6	93,6	95,5		17	25	22	29	41	46	46	44	51	47	62	64
	SC09-007	87,3	87,3	85,5	84,6		26	25	32	42	41	41	41	47	43	61	61
	SC09-012	73,9	73,9	75,7	77,5	76,6		9	13	39	48	48	47	52	48	61	62
	SC09-112	76,6	76,6	78,4	80,2	77,5	91,9		13	37	45	45	44	51	45	60	60
	SC09-031	69,9	69,9	71,7	74,3	71,7	88,5	88,5		37	50	50	49	53	46	60	62
	SC09-005	60,4	60,4	62,2	63,1	62,2	64,9	66,7	67,3		55	55	54	56	46	64	63
	SC09-006	58,0	58,0	56,3	58,9	63,4	57,5	60,2	55,8	51,3		0	3	7	17	64	61
	SC09-008	58,0	58,0	56,3	58,9	63,4	57,5	60,2	55,8	51,3	100,0		3	7	17	64	61
	SC09-030	59,8	59,8	58,0	60,7	63,4	58,4	61,1	56,6	52,2	97,3	97,3		10	14	62	59
	SC09-010	53,6	53,6	51,8	54,5	58,0	54,0	54,9	53,1	50,4	93,6	93,6	90,9		22	67	67
	SC09-003	57,7	57,7	55,9	57,7	61,3	57,1	59,8	59,3	58,6	84,6	84,6	87,3	80,0		62	56
	SC09-009	45,1	45,1	45,1	45,1	46,0	46,5	47,4	47,4	43,4	42,9	42,9	44,6	40,2	44,1		34
	SC09-029	43,4	43,4	43,4	43,4	46,0	45,6	47,4	45,6	44,3	45,5	45,5	47,3	40,2	49,6	68,2	

Tabela 9: Reatividade de ligação cruzada de IgGs, da maneira medida por ELISA e FACS. H1= recombinante solúvel A/New Caledonia/20/1990 H1 HA; H3= recombinante solúvel A/Wisconsin/67/2005 H3 HA; H5= recombinante solúvel A/Vietnam/1203/04 H5 HA, H7= recombinante solúvel A/Netherlands/219/2003 H7 HA, H9= recombinante solúvel A/Hong Kong/1073/99 H9 HA, B= recombinante solúvel B/Ohio/01/05 influenza B HA, Rabies= glicoproteína de Rabies, PER.C6= células PER.C6 não transfectadas (controle); mH1= PER.C6 expressa em A/New Caledonia/20/1990 H1 HA; mH3= PER.C6 expressa em A/Wisconsin/67/2005 H3 HA; mH7= PER.C6 expressa em A/Netherlands/219/2003 H7 HA, ND= não realizado; += ligação (fundo > 10 x) +/-= pouca ligação (fundo 2-10 vezes); -= ligação não detectável.

	IgG Elisa							IgG Facs			
	H1	H3	H5	H7	H9	B	Rabies	PerC6	mH1	mH3	mH7
CR9005	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
CR9030	+	+	+	+	+	+/-	-	-	+	+	+
CR9112	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
CR9113	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
CR9114	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
CR4098	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-

Tabela 10. Atividade de neutralização cruzada de IgGs; as titulações (indicadas em µg/mL) são médias geométricas dos valores de IC50, determinado de acordo com o método de Spearman-Kärber de experimentos pelo menos em duplicata; > 100= não neutralizante na concentração testada (100 µg/mL)

	Subtipo	Cepa	CR9005	CR9112	CR9113	CR9114
Grupo I	H1	A/WSN/33	1.1	0.9	1.1	1.1
		A/New Caledonia/20/99	2.6	1.9	4.4	3.7
		A/Solomon Islands/3/2006	1.4	1.3	2.2	1.8
		A/Brisbane/59/2007	3.4	2	3.1	2.6
		A/California/7/2009	0.7	0.5	0.3	0.3
	H2	A/Env/MPU3156/05	8.8	6.3	8.8	8.8

	Subtipo	Cepa	CR9005	CR9112	CR9113	CR9114
	H5	A/Hong Kong/156/97	0.8	0.7	0.9	0.4
		A/EW/MPF461/07	10.5	10.5	8.8	10.5
	H6	A/EW/MPD411/07	29.7	10.5	17.7	10.5
	H8	A/EW/MPH571/08	8.8	8.8	8.8	8.8
	H9	A/Hong Kong/1073/99	6.3	3.7	3.7	4.4
		A/Ck/HK/SSP176/09	4.4	4.4	6.3	6.3
Grupo II	H3	A/Hong Kong/1/68	42	27.6	22.3	19
		A/Johannesburg/33/94	17.7	13.8	32.4	21.9
		A/Panama/2007/1999	28.2	47.5	47.5	39.9
		A/Hiroshima/52/2005	22.9	10.5	13.6	12.5
		A/Wisconsin/67/2005	35.4	29.7	35.4	32.4
		A/Brisbane/10/2007	11.2	5.6	9.4	5.6
	H4	A/WF/MPA 892/06	1.2	0.8	1.3	0.8
	H7	A/Mallard/Netherlands/12/2000	9.6	6.3	6.3	4.8
		A/New York/107/2003	> 100	> 100	> 100	> 100
	H10	A/Chick/Germany/N/49	29.6	26.5	19.8	15.7
	H14	A/Mallard/Astrakhan/263/1982	> 100	> 100	> 100	> 100

SEQUÊNCIAS

>SC09-003 VH DNA (SEQ ID NO: 1)

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGCTGAGGTCAAGAAGGCTG
 GGTCCTCGGTGAAAGTCTCCTGCAAGTCTTCTGGAGGCACCTCCA
 ACAACTTTGGTATCAGCTGGGTACGACAGGCCCTGGCCAAGGC
 CTTGAGTGGATGGGCGGGATCAGCCCAATCTTTGGTTCGACAGTC
 TACGCACAGAAATTTAGGGCAGAGTCACTATTTCCGCGGACATA
 TTTTCACACACTGCCTACATGGAGATGAACAGCCTGACATCTGAG
 GACACGGCCGTCTATTTCTGTGCGAGGCACGGAAATTATTATTTCT
 ACTCCGGTATGGACCTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACC

>SC09-003 VH PROTEIN (SEQ ID NO: 2)

EVQLVESGAIEVKKAGSSVKVSKSSGGTSNNFGISWVRQAPGQGLE
 WMGGISPIFGSTVYAQKFQGRVTISADIFSHTAYMEMNSLTSEDNAVY
 FCARHGNYYFYSGMDLWGQGTTVT

>SC09-003 VL DNA (SEQ ID NO: 3)

TCCTATGTGCTGACTCAGCCACCCTCGGTGTCAGTGGCCCCAGG
ACAGACGGCCACGATTTCTGTGGGGGAGACAACGTTGGAAGTA
ACAGTGTGCACTGGTACCAGCAGAAGCCAGGCCAGGCCCTGTG
CTGGTCGTCTATGATGATCGCGACCGACCCTCAGGGATCCCTGA
GCGATTCTCTGGCTCCAACTCTGGGAACACGGCCACCCTGACCAT
CAGCAGGGTCTGAAGCCGGGGATGAGGCCGACTATTACTGTCAGG
TGTGGGATAGTAGTAGTGATCATCGAGTCTTCGGAAGTGGGACCA
AGGTCACCGTCCTAG

>SC09-003 VL PROTEIN (SEQ ID NO: 4)

SYVLTQPPSVSVAPGQTATISCGGDNVGSNSVHWYQQKPGQAPVLV
VYDDRDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDS
SSDHRVFGTGTKVTVL

>SC09-004 VH DNA (SEQ ID NO: 5)

CAGGTCCAGCTGGTACAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGG
GTCCTCGGTGAAAGTCTCCTGCAAGTCTTCTGGCGGCACCTCCAA
TAACTATGCCATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGCC
TTGACTGGATGGGCGGGGTCAGCCCTATCTTTGGTTCGACAGCCT
ACGCACAGAAGTTCCAGGGCAGAGTCACTATTTCCGCGGACATAT
TTTCGAACACAGCCTACATGGAGCTGAACAGTCTGACATCTGAGG
ACACGGCCGTCTATTATTGTGCGAGACACGGGAATTATTATTACAA
CTCCGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACC

>SC09-004 VH PROTEIN (SEQ ID NO: 6)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKSSGGTSNNYAIWVRQAPGQGL
DWMGGVSPIFGSTAYAQKFQGRVTISADIFSNAYMELNSLTSEDTA
VYYCARHGNYYYNSGMDVWGQGTITV

>SC09-004 VL DNA (SEQ ID NO: 7)

CAGTCTGTGCTGACGCAGCCGCCCGCAGTGTCTGGGACCCCCGG
GCAGAGGGTCACCATCTCGTGTTCTGGAAGTGATTCCAACATCGG
GAGAAGAAGTGTAAGTGGTACCAGCAGTTCCCAGGAACGGCCC
CCAAACTCCTCATCTATAGTAACGATCAGCGGCCCTCAGTGGTCC
CTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCCGGCACCTCAGCCTCCCTGG
CCATCAGTGGGCTCCAGTCTGAAGATGAGGCCGAATATTACTGTG
CAGCATGGGATGACAGCCTGAAGGGGGCTGTGTTTCGGAGGAGGC
ACCCAGCTGACCGTCCTCG

>SC09-004 VL PROTEIN (SEQ ID NO: 8)

QSVLTQPPAVSGTPGQRVTISCSGSDSNIGRRSVNWWYQQFPGTAPK
LLIYSNDQRPSVVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEAEYYCAAWD
DSLKGAVFGGGTQLTVL

>SC09-005 VH DNA (SEQ ID NO: 9)

CAGGTGCAGCTGGTGCAATCTGGGGCTGAGGTCAAGAGGCCTGG
GTCCTCGGTGAAAGTCTCCTGCAAGTCTTCTGGAGGCACCTCCAA
TAACTATGCTATTAGTTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGCCT
TGACTGGATGGGCGGGATCAGCCCTATCTTTGGTTCGACAGTCTA
CGCACAGAAATTCCAGGGCAGAGTCACTATTTCCGCGGACATATT
TTCGAACACAGCCTACATGGAGCTGAACAGCCTGACATCTGAGGA
CACGGCCGTATATTTCTGTGCGAGGCACGGGAACTATTATTACTA
CTCCGGTATGGACCTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACC

>SC09-005 VH PROTEIN (SEQ ID NO: 10)

QVQLVQSGAEVKRPGSSVKVSKSSGGTSNNYAIWVRQAPGQGL
DWMGGISPIFGSTVYAQKFQGRVTISADIFSNTAYMELNSLTSED
TAVYFCARHGNYYYYSGMDLWGQGTTVT

>SC09-005 VL DNA (SEQ ID NO: 11)

CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGCCTCCGTGTCTGGGTCTCCTGGA
CAGTCGATCACCATCTCCTGCACTGGAACCAGCAGTGACGTCGGT
GGTTATAACTATGTCTCCTGGTACCAACAACACCCAGGCAAAGCC
CCCAAACCTCCTGATTTTTGATGTGTCAGTGATCGGCCCTCAGGGGTT
TCTGATCGCTTCTCTGGCTCCAAGTCTGCGGACACGGCCTCCCTG
ACCATCTCTGGACTCCAGGCTCAGGACGAGGCTGATTATTACTGC
TGCTCATATGCAGGTAGTGCCAAGGGCGTCTTCGGAACCTGGGAC
CAAGGTCACCGTCCTAG

>SC09-005 VL PROTEIN (SEQ ID NO: 12)

QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAP
KLLIFDVSDRPSGVSDRFSGSKSADTASLTISGLQAQDEADYYCCSY
AGSAKGVFGTGTKVTVL

>SC09-006 VH DNA (SEQ ID NO: 13)

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGCTGAGGTCAAGAGGCCTG
GGTCCTCGGTGAAAGTCTCCTGCAAGTCTTCTGGAGGCACCTCCA
ATAACTATGCTATTAGTTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGCC
TTGACTGGATGGGCGGGATCAGCCCTATCTTTGGTTCGACAGTCT
ACGCACAGAAATTCCAGGGCAGAGTCACTATTTCCGCGGACATAT
TTTCGAACACAGCCTACATGGAGCTGAACAGCCTGACATCTGAGG
ACACGGCCGTATATTTCTGTGCGAGGCACGGGAACCTATTATTACT
ACTCCGGTATGGACCTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACC

>SC09-006 VH PROTEIN (SEQ ID NO: 14)

EVQLVESGAIEVKRPGSSVKVSKSSGGTSNNYAISWVRQAPGQGL
DWMGGISPIFGSTVYAQKFQGRVTISADIFSNTAYMELNSLTSEDYAV
YFCARHGNYYYYSMDLWGQGTTVT

>SC09-006 VL DNA (SEQ ID NO: 15)

TCCTATGTGCTGACTCAGCCACCCTCGGTGTCAGTGGCCCCAGG
ACAGACGGCCAGGATTACCTGTGGGGGAAACAACATTGGAAGTAA
AACTGTGCATTGGTACCAGCAGAACTCAGGCCAGGCCCTGTGCT
GGTCGTCTATGGTGATAGCGACCGGCCCTCAGGGATCCCTGAGC
GATTCTCTGGCTCCAACCTCTGGGACCACGGCCACCCTGACCATCA
GCAGGGTCGAAGCCGGGGATGAGGCCGACTATTACTGTCAGGTG
TGGGATAGTAGTAGTGATCATCCCGGTGCTGTGTTCTGGAGGAGG
CACCCAGCTGACCGTCCTCG

>SC09-006 VL PROTEIN (SEQ ID NO: 16)

SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKTVHWYQQNSGQAPVLV
VYGDSDRPSGIPERFSGSNSGTTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDS
SSDHPGAVFGGGTQLTVL

>SC09-007 VH DNA (SEQ ID NO: 17)

CAGGTGCAGCTGGTGCAATCTGGAGCTGAGGTCAAGAAGCCTGG
GTCCTCGGTGAAGGTCTCCTGCAAGTCTTCTGGAGGCACCTCCAA
TAACTATGCTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGCC
TTGACTGGATGGGAGGGATCAGCCCTATCTTTGGTTCAGCAGCCT
ACGCACAGAAGTTCCAGGGCAGAGTCACTATTACCGCGGACATAT
TTTCGAACACAGTGTACATGGAGCTGAACAGCCTGACATCTGAGG
ACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGACACGGGAATTATTATTACT
ACTCCGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTC
TCGAGC

>SC09-007 VH PROTEIN (SEQ ID NO: 18)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKSSGGTSNNYAIWVRQAPGQGL
DWMGGISPIFGSAAYAQKFQGRVTITADIFSNTVYMELNSLTSED
TAVYYCARHGNYYYYSGMDVWGQGTTVTVSS

>SC09-007 VL DNA (SEQ ID NO: 19)

TCCTATGTGCTGACTCAGCCACCCTCAGCGTCTGGGACCCCCGG
GCAGAGGGTCACCATCTCTTGTCTGGAAGCAGCTCCAACATCGG
AAGTAATACTGTAACTGGTACCAGCAGGTCCCCGGAACGGCCCC
CAAACCTCCTCATCTATGGTGATGATCAGCGGCCCTCAGGGGTCCC
TGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCAGCCTCCCTGGC
CATCAGTGGGCTCCAGTCTGAGGATGAGGCTGATTATTACTGTGC
AACATGGGATGACAGCCTGAATGGTCATGTGTTCTGGAGGAGGCA
CCCAGCTGACCGTCCTCG

>SC09-007 VL PROTEIN (SEQ ID NO: 20)

SYVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSSNIGSNTVNWYQQVPGTAPKL
LIYGDDQRPSPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCATWD
DSLNGHVFGGGTQLTVL

>SC09-008 VH DNA (SEQ ID NO: 21)

GAGGTCCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTCAAGAAGCCTGG
GTCCTCGGTGAGAGTCTCCTGTAAGTCTTCTGGAGGCACCTCAA
TAACTATGCTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGCC
TTGACTGGATGGGCGGGATCAGCCCTATCTTTGGTTCGACAGCCT
ACGCACAGAAGTTCCAGGGCAGAGTCACTATTTCCGCGGACATAT
TTTCGAACACAGCCTACATGGAGCTGAACAGCCTGACATCTGAGG
ACACGGCCGTATATTTCTGTGCGAGGCACGGGAATTATTACTA
CTCCGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCT
CGAGC

>SC09-008 VH PROTEIN (SEQ ID NO: 22)

EVQLVQSGAEVKKPGSSVRVSCKSSGGTSNNYAIWVRQAPGQGL
DWMGGISPIFGSTAYAQKFQGRVTISADIFSNTAYMELNSLTSED
TAVYFCARHGNYYYYSGMDVWGQGTTVTVSS

>SC09-008 VL DNA (SEQ ID NO: 23)

TCCTATGTGCTGACTCAGCCACCCTCGGTGTCAGTGGCCCCAGG
ACAGACGGCCAGGATTACCTGTGGGGGAAACAACATTGGAAGTAA
AACTGTGCATTGGTACCAGCAGAACTCAGGCCAGGCCCTGTGCT
GGTCGTCTATGGTGATAGCGACCGGCCCTCAGGGATCCCTGAGC
GATTCTCTGGCTCCAACCTCTGGGACCACGGCCACCCTGACCATCA
GCAGGGTCGAAGCCGGGGATGAGGCCGACTATTACTGTCAGGTG
TGGGATAGTAGTAGTGATCATCCCGGTGCTGTGTTCTGGAGGAGG
CACCCAGCTGACCGTCCTCG

>SC09-008 VL PROTEIN (SEQ ID NO: 24)

SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKTVHWYQQNSGQAPVLV
VYGDSDRPSGIPERFSGSNSGTTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDS
SSDHPGAVFGGGTQLTVL

>SC09-009 VH DNA (SEQ ID NO: 25)

CAGGTGCAGCTGGTGCAATCTGGGGCTGAGGTCAAGAAGCCTGG
GTCCTCGGTGAAAGTCTCCTGCAAGTCTTCTGGAGGCACCTCCAA
TAACTATGCTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGCC
TTGACTGGATGGGCGGGATCAGCCCTATCTTTGGTTCGACAGCCT
ACGCACAGAAATTCCAGGGCAGAGTCACTATTTCCGCGGACATAT
TTTCGAACACAGCCTACATGGAGCTGAACAGCCTGGCATCTGAGG
ACACGGCCGTATATTTCTGTGCGAGGCACGGGAATTATTACTA
CTCCGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCT
CGAGC

>SC09-009 VH PROTEIN (SEQ ID NO: 26)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKSSGGTSNNYAISWVRQAPGQGL
DWMGGISPIFGSTAYAQKFQGRVTISADIFSNTAYMELNSLASEDTAV

YFCARHGNYYYYSGMDVWGQGTTVTVSS

>SC09-009 VL DNA (SEQ ID NO: 27)

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCGTGTCTGCATCTGTA
GGAGACAGAGTCACCATCACTTGTCTGGGCGAGTCAGCATATTAGC
AGTTGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAGCCAGGGAAAGGCCCTCA
GCTCCTGATCTATTCTGCATCCCGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATC
AAGGTTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCAT
CAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTACTATTGTCAACA
GGCTAACAGTTTCCCCCTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGA
TATCAAAC

>SC09-009 VL PROTEIN (SEQ ID NO: 28)

DIQMTQSPSSVSASVGDRVITCRASQHISSWLAWYQQKPGKGPQL
LIYSASRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQANSF
PLTFGPGTKVDIK

>SC09-010 VH DNA (SEQ ID NO: 29)

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCCGGGGCTGAGGTCAAGAAGCCTG
GGTCCTCGGTGAAAGTCTCCTGCAAGTCTTCTGGAGGCACCTCCA
ATAATTATGCTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGCC
TTGACTGGATGGGCGGGATCAGCCCTATCTTTGGTTCGACAGCCT
ACGCACAGAAGTTCCAGGGCAGAGTCACTATTTCCGCGGACATAT
TTTCCAACACAGCCTACATGGAGCTGAACAGCCTGACATCTGAGG
ACACGGCCGTATATTACTGTGCGAGGCACGGGAATTATTATTACT
ACTCCGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTC
TCGAGC

>SC09-010 VH PROTEIN (SEQ ID NO: 30)

EVQLVESGAIEVKKPGSSVKVSCKSSGGTSNNYAISWVRQAPGQGLD
WMGGISPIFGSTAYAQKFQGRVTISADIFSNTAYMELNSLTSEDNAVY
YCARHGNYYYYSGMDVWGQGTTVTVSS

>SC09-010 VL DNA (SEQ ID NO: 31)

TCCTATGTGCTGACTCAGCCACCCTCGGTGTCAGTGGCCCCAGG
ACAGACGGCCAGGATTACCTGTGGGGGAAACAACATYGGAAGTA
AACTGTGCATTGGTACCAGCAGAACTCAGGCCAGGCCCTGTG
CTGGTCGTCTTTGTTGATAGCGACCGTCCCTCAGGGATCCATGAG
CGATTCTGTGGCTCCAACCTCTGGGTCCACGGCCACCCTGACCATC
AGCAGCGTCGAAGCCGGGGATGAGGCCGACTATTACTGTCAGGT
GTGGGATAGTAATAGCGATCATCCCGGTGCTGTGTTCTGGAGGAG
GCACCCAGCTGACCGTCCTCG

>SC09-010 VL PROTEIN (SEQ ID NO: 32)

SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNIGSKTVHWYQQNSGQAPVLV
VFVDSDRPSGIHERFCGSNSGSTATLTISSVEAGDEADYYCQVWDS
NSDHPGAVFGGGTQLTVL

>SC09-011 VH DNA (SEQ ID NO: 33)

GAGGTCCAGCTGGTACAGTCTGGGGCTGAGGTCAAGAAGCCTGG
GTCCTCGGTGAAGGTCTCCTGCAAGTCTTCTGGAGGCACCTCCAA
TAACTATGCTATCAGCTGGGTGCGGCAGGCCCTGGACAAGGCC
TTGACTGGATGGGAGGGATCAGCCCTATCTTTGGTTCAGCAGCCT
ACGCACAGAAGTTCCAGGGCAGAGTCACTATTACCGCGGACATAT
TTTCGAACACAGTGTACATGGAGCTGAACAGCCTGACATCTGAGG
ACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGACACGGGAATTATTATTACT
ACTCCGGTACGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTC
TCGAGC

>SC09-011 VH PROTEIN (SEQ ID NO: 34)

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKSSGGTSNNYAIWVRQAPGQGL
DWMGGISPIFGSAAYAQKFQGRVTITADIFSNTVYMELNSLTSEDVAV
YYCARHGNYYYYSGTDVWGQGTTVTVSS

>SC09-011 VL DNA (SEQ ID NO: 35)

TCCTATGTGCTGACTCAGCCACCCGCAGTGTCTGGGACCCCCGG
GCAGAGGGTCACCATCTCGTGTTCTGGAAGTGATTCCAACATCGG
GAGAAGAAGTGTAAGTGGTACCAGCAGTTCCCAGGAACGGCCC
CCAACTCCTCATCTATAGTAACGATCAGCGGCCCTCAGTGGTCC
CTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCCGGCACCTCAGCCTCCCTGG
CCATCAGTGGGCTCCAGTCTGAAGATGAGGCCGAATATTACTGTG
CAGCATGGGATGACAGCCTGAAGGGGGCTGTGTTCGGAGGAGGC
ACCCAGCTGACCGTCCTCG

>SC09-011 VL PROTEIN (SEQ ID NO: 36)

SYVLTQPPAVSGTPGQRVTISCSGSDSNIGRRSVNWWYQQFPGTAPK
LLIYSNDQRPSVVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEAEYYCAAWD
DSLKGAVFGGGTQLTVL

>SC09-012 VH DNA (SEQ ID NO: 37)

GAGGTCCAGCTGGTACAGTCTGGGGCTGAGGTCAAGAAGCCTGG
GTCCTCGGTGAAGGTCTCCTGCAAGTCTTCTGGAGGCACCTCCAA
TAATTATGCTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGCCT
TGACTGGATGGGAGGGATCAGCCCTATTTTTGGTTCAGCAGTCTA
CGCACAGAAGTTCCAGGGCAGAGTCACTATTACCGCGGACATATT
TTCGAACACAGTGTACATGGAGCTGAACAGCCTGACATCTGAGGA
CACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGACACGGGACTTATTATTACTA
CTCCGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCT
CGAGC

>SC09-012 VH PROTEIN (SEQ ID NO: 38)

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKSSGGTSNNYAISWVRQAPGQGL
DWMGGISPIFGSAVYAQKFQGRVTITADIFSNTVYMELNSLTSED
TAVYYCARHGTYYYYYSGMDVWGQGTTVTVSS

>SC09-012 VL DNA (SEQ ID NO: 39)

CAGTCTGTCGTGACGCAGCCGCCCTCAGTGTCTGGGGCCCCAGG
GCAGAGGGTCACCATCTCCTGCACTGGGAGCAGCTCCAACATCG
GGGCAGGTTATGATGTACACTGGTACCAGCAGCTTCCAGGGACA
GCCCCCAAACCTCATCTATGGTAACAACAATCGGCCCTCAGGG
GTCCCTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCAGCCTCC
CTGGCCATCACTGGGCTCCAGGTTGAGGATGAGGCTGATTATTAC
TGCCAGTCCTATGACCAGAACCTGAGTGAGGGGGTCTTCGGCGG
AGGGACCAAGCTGACCGTCCTAG

>SC09-012 VL PROTEIN (SEQ ID NO: 40)

QSVVTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAP
KLLIYGNNNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQVEDEADYYCQSY
DQNLSEGVFGGGTKLTVL

>SC09-029 VH DNA (SEQ ID NO: 41)

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCCGGGGCTGAGGTCAAGAAGCCTG
GGTCCTCGGTGAAAGTCTCCTGCAAGTCTTCTGGAGGCACCTCCA
ATAACTATGCTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGC
CTTGACTGGATGGGCGGGATCAGCCCTATCTTTGGTTTCGACAGCC
TACGCACAGAAGTTCCAGGGCAGAGTCACTATTTCCGCGGACATA
TTTTCGAACACAGCCTACATGGAGCTGAACAGCCTGACATCTGAG
GACACGGCCGTATATTACTGTGCGAGGCACGGGAATTATTATTAC
TACTCCGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGT

CTCGAGC

>SC09-029 VH PROTEIN (SEQ ID NO: 42)

EVQLVESGAIEVKKPGSSVKVSCKSSGGTSNNYAISWVRQAPGQGLD
WMGGISPIFGSTAYAQKFQGRVTISADIFSNAYMELNSLTSEDYAVY
YCARHGNYYYYSGMDVWGQGTTVTVSS

>SC09-029 VL DNA (SEQ ID NO: 43)

GAAATTGTGATGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCT
GGGGAAAGAGGCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAG
CAGCTACTTAGCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAG
GCTCCTCATCTATGGTGCATCCACCAGGGCCACTGGCATCCCAGA
CAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCAT
CAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCA
GTATGGGAGCTCACCATTCGCTTTCGGCCCTGGGACCAAGGTGG
AGATCAAA

>SC09-029 VL PROTEIN (SEQ ID NO: 44)

EIVMTQSPGTLSPGERGTLSRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRL
LIYGASTRATGIPDRFTGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSS
PFAFGPGTKVEIK

>SC09-030 VH DNA (SEQ ID NO: 45)

CAGATGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTCAAGAAGCCTGG
GTCCTCGGTGAAAGTCTCCTGCAAGTCTTCTGGAGGCACCTCCAA
TAACTATGCTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGCC
TTGACTGGATGGGCGGGATCAGCCCTATCTTTGGTTCGACAGCCT
ACGCACAGAAGTTCCAGGGCAGAGTCACTATTTCCGCGGACATAT
TTTCGAACACAGCCTACATGGAGCTGAACAGCCTGACATCTGAGG
ACACGGCCGTATATTTCTGTGCGAGGCACGGGAATTATTACTA

CTCCGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCT
CGAGC

>SC09-030 VH PROTEIN (SEQ ID NO: 46)

QMQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKSSGGTSNNYAIWVRQAPGQGL
DWMGGISPIFGSTAYAQKFQGRVTISADIFSNTAYMELNSLTSEDYAV
YFCARHGNYYYYSGMDVWGQGTTVTVSS

>SC09-030 VL DNA (SEQ ID NO: 47)

TCCTATGTGCTGACTCAGCCACCCTCGGTGTCAGTGGCCCCAGG
ACAGACGGCCAGGATTACCTGTGGGGGAAACAACATTGGAAGTAA
AAGTGTGCACTGGTACCAGCAGAAGCCAGGCCAGGCCCTGTGC
TGGTCGTCTATGGTGATAGCGACCGGCCCTCAGGGATCCCTGAG
CGATTCTCTGGCTCCAACCTCTGGGACCACGGCCACCCTGACCATC
AGCAGGGTCGAAGCCGGGGATGAGGCCGACTATTACTGTCAGGT
GTGGGATAGTAGTAGTGATCATCCCGGTGCTGTGTTCCGAGGAG
GCACCCAGCTGACCGTCCTCG

>SC09-030 VL PROTEIN (SEQ ID NO: 48)

SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLV
VYGDSDRPSGIPERFSGSNSGTTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDS
SSDHPGAVFGGGTQLTVL

>SC09-031 VH DNA (SEQ ID NO: 49)

CAGGTCCAGCTGGTACAGTCTGGGGCTGAGGTCGAGAGGCCTGG
GTCCTCGGTGAAAGTCTCCTGCAAGTCTTCTGGCGGCACCTCCAA
TAACTATGCCATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGCC
TTGACTGGATGGGCGGGATCAGCCCTATCTTTGGTTCGACAGCCT
ACGCACAGAAGTTCCAGGGCAGAGTCACTATTTCCGCGGACATAT
TTTCGAACACAGCCTACATGGAGCTGAACAGTCTGACATCTGAGG

ACACGGCCGTCTATTATTGTGCGAGACACGGGAATTATTATTACAA
CTCCGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCT
CGAGC

>SC09-031 VH PROTEIN (SEQ ID NO: 50)

QVQLVQSGAEVERPGSSVKVSKSSGGTSNNYAIWVRQAPGQGL
DWMGGISPIFGSTAYAQKFQGRVTISADIFSNTAYMELNSLTSED
TAVYYCARHGNYYYNSGMDVWGQGTTVTVSS

>SC09-031 VL DNA (SEQ ID NO: 51)

CAGTCTGTGTTGACGCAGCCGCCCTCAGTGTCTGGGGCCCCAGG
GCAGAGGGTCACCATCTCCTGCACTGGGAGCAGCTCCAACATCG
GGGCAGGTTATGATGTACACTGGTACCAGCAGCTTCCAGAAACAG
CCCCCAAACCTCCTCATTTATGATAACAACAATCGTCCCTCAGGGGT
TTCTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACTTCAGCCTCCCT
GGCCATCACTGGGCTCCAGGCTGAGGATGAGGCTGATTATTACTG
CCAGTCCTATGACAGCGGCCTGAGTGCTTCGCCTTATGTCTTCGG
AGCTGGGACCAAGGTCACCGTCCTAG

>SC09-031 VL PROTEIN (SEQ ID NO: 52)

QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPETAP
KLLIYDNNNRPSGVSDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSY
DSGLSASPYVFGAGTKVTVL

>SC09-112 VH DNA (SEQ ID NO: 53)

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTCAAGAAGCCTGG
GTCCTCGGTGAAAGTCTCCTGCAAGTCTTCTGGAGGCACCTCCAA
TAACTATGCTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGCC
TTGACTGGATGGGCGGGATCAGCCCTATCTTTGGTTCGACAGCCT
ACGCACAGAAGTTCCAGGGCAGAGTCACTATTTCCGCGGACATAT

TTTCGAACACAGCCTACATGGAGCTGAACAGCCTGACATCTGAGG
ACACGGCCGTATATTACTGTGCGAGGCACGGGAATTATTACT
ACTCCGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTC
TCGAGC

>SC09-112 VH PROTEIN (SEQ ID NO: 54)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKSSGGTSNNYAISWVRQAPGQGL
DWMGGISPIFGSTAYAQKFQGRVTISADIFSNTAYMELNSLTSEDNAV
YYCARHGNYYYYSGMDVWGQGTTVTVSS

>SC09-112 VL DNA (SEQ ID NO: 55)

CAGTCTGTGTTGACGCAGCCGCCCTCAGTGTCTGGGGCCCCCAGG
GCAGAGGGTCACCATCTCCTGCACTGGGAGCAGCGCCAACATCG
GGGCAGGTTATGATGTCCACTGGTACCAGCAGTTTCCAGGAACAG
CCCCCAAACCTCATCTATGGTAACAACAATCGGCCCTCAGGGG
TCCCTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCAGCCTCCC
TGGCCATCACTGGGCTCCAGGCTGAGGATGAGGCTGATTATTACT
GCCAGTCCTATGACAGCAGCCTGAGTGGTGCGTTATTTCGGCGGA
GGGACCAAGCTGACCGTCCTAG

>SC09-112 VL PROTEIN (SEQ ID NO: 56)

QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSANIGAGYDVHWYQQFPGTAP
KLLIYGNNNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSY
DSSLSGALFGGGTKLTVL

>SC09-113 VH DNA (SEQ ID NO: 57)

CAGATGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTCAAGAAGGCTGG
GTCCTCGGTGAAAGTCTCCTGCAAGTCTTCTGGAGGCACCTCCAA
TAACTATGCTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGCC
TTGAGTGGATGGGCGGGATCAGTCCAATCTTTGGTTCGACAGTCT

ACGCACAGAAATTCCAGGGCAGAGTCACTATTTCCGCGGACATAT
TTTCACACACTGCCTACATGGAGCTGAACAGCCTGACATCTGAGG
ACACGGCCGCATATTTCTGTGCGAGGCACGGAACTATTATTACT
ACTCCGGTATGGACCTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTC
TCGAGC

>SC09-113 VH PROTEIN (SEQ ID NO: 58)

QMQLVQSGAEVKKAGSSVKVSKSSGGTSNNYAIWVRQAPGQGL
EWMGGISPIFGSTVYAQKFQGRVTISADIFSHTAYMELNSLTSEDAA
YFCARHGNYYYYSGMDLWGQGTTVTVSS

>SC09-113 VL DNA (SEQ ID NO: 59)

CAGTCTGTGCTGACTCAGCCACCCGCAGTGTCTGGGACCCCCGG
GCAGAGGGTCACCATCTCGTGTTCTGGAAGTGATTCCAACATCGG
GAGAAGAAGTGTAAGTGGTACCAGCAGTTCCCAGGAACGGCCC
CCAAACTCCTCATCTATAGTAACGATCAGCGGCCCTCAGTGGTCC
CTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCCGGCACCTCAGCCTCCCTGG
CCATCAGTGGGCTCCAGGCTGAGGATGAGGCTGATTATTACTGTG
CAGCATGGGATGCCAGCCTGAGTGGTCCTGTGTTTCGGAGGAGGC
ACCCAGCTGACCGTCCTCG

>SC09-113 VL PROTEIN (SEQ ID NO: 60)

QSVLTQPPAVSGTPGQRVTISCSGSDSNIGRRSVNWWYQQFPGTAPK
LLIYSNDQRPSVVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQAEDEADYYCAAWD
ASLSGPVFGGGTQLTVL

>SC09-114 VH DNA (SEQ ID NO: 61)

CAGGTGCAGCTGGTGCAATCTGGGGCTGAGGTCAAGAAGCCTGG
GTCCTCGGTGAAAGTCTCCTGCAAGTCTTCTGGAGGCACCTCCAA
TAACTATGCTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGCC

TTGACTGGATGGGCGGGATCAGCCCTATCTTTGGTTCGACAGCCT
 ACGCACAGAAATTCCAGGGCAGAGTCACTATTTCCGCGGACATAT
 TTTCGAACACAGCCTACATGGAGCTGAACAGCCTGACATCTGAGG
 ACACGGCCGTATATTTCTGTGCGAGGCACGGGAATTATTACTA
 CTCCGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCT
 CGAGC

>SC09-114 VH PROTEIN (SEQ ID NO: 62)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKSSGGTSNNYAIWVRQAPGQGL
 DWMGGISPIFGSTAYAQKFQGRVTISADIFSNTAYMELNSLTSEDYAV
 YFCARHGNYYYYSGMDVWGQGTTVTVSS

>SC09-114 VL DNA (SEQ ID NO: 63)

TCCTATGTGCTGACTCAGCCACCCGCAGTGTCTGGGACCCCCGG
 GCAGAGGGTCAACATCTCGTGTTCTGGAAGTGATTCCAACATCGG
 GAGAAGAAGTGTAAGTGGTACCAGCAGTTCCCAGGAACGGCCC
 CCAAACTCCTCATCTATAGTAACGATCAGCGGCCCTCAGTGGTCC
 CTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCCGGCACCTCAGCCTCCCTGG
 CCATCAGTGGGCTCCAGTCTGAAGATGAGGCCGAATATTACTGTG
 CAGCATGGGATGACAGCCTGAAGGGGGCTGTGTTCGGAGGAGGC
 ACCCAGCTGACCGTCCTCG

>SC09-114 VL PROTEIN (SEQ ID NO: 64)

SYVLTQPPAVSGTPGQRVTISCSGSDSNIGRRSVNWWYQQFPGTAPK
 LLIYSNDQRPSVVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEAEYYCAAWD
 DSLKGAVFGGGTQLTVL

Vector plg-C911-HCgamma1 (SEQ ID NO:175)

tgcacggatc gggagatctc ccgatcccct atggtgcact ctgagtacaa tctgctctga 60
 tgccgcatag ttaagccagt atctgctccc tgcttgtgtg ttggaggtcg ctgagtagtg 120

cgcgagcaaa atttaagcta caacaaggca aggcttgacc gacaattgca tgaagaatct
 180
 gcttaggggt aggcgtttg cgctgcttcg ctaggtgggc aatattggcc attagccata 240
 ttattcattg gttatatagc ataaatcaat attggctatt ggccattgca tacgttgat 300
 ccatatcata atatgtacat ttatttggc tcatgtccaa cattaccgcc atgttgacat 360
 tgattattga ctagttatta atagtaatca attacgggggt cattagtcca tagcccatat 420
 atggagttcc gcgttacata acttacggta aatggcccg ctaggtgacc gccaacgac
 480
 ccccgcccat tgacgtcaat aatgacgtat gtcccatag taacgccaat agggactttc 540
 cattgacgtc aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg 600
 tatcatatgc caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gttaaaggcc cgctggcat 660
 tatgccagtc acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc 720
 atcgctatta ccatggtgat gcggttttg cagtacatca atgggcgtgg atagcggttt 780
 gactcacggg gatttccaag tctccacccc attgacgtca atgggagttt gtttggcac 840
 caaaatcaac gggactttcc aaaatgtcgt aacaactccg cccattgac gcaaattggc
 900
 ggtaggcgtg tacggtggga ggtctatata agcagagctc gtttagtgaa ccgtcagatc 960
 gcctggagac gccatccacg ctgtttgac ctccatagaa gacaccggga ccgatccagc
 1020
 ctccgcggcc gggaacggtg cattggaagc tggcctggat atcctgactc tcttaggtag
 1080
 ccttcagaa gttggtcgtg aggcactggg caggtaagta tcaaggttac aagacaggtt
 1140
 taaggagatc aatagaaact gggcttgctg agacagagaa gactcttgcg ttctgatag
 1200
 gcacctattg gtcttactga catccacttt gcctttctct ccacaggtgt ccactcccag 1260
 ttcaattaca gctcgccacc atgggatgga gctgtatcat cctctcttg gtactgctgc 1320
 tggcccagcc ggccagtac ctgaccggt gcaccacttt tgatgatgtt caagctccta 1380
 attacactca acatacttca tctatgaggg gggtttacta tcctgatgaa attttagat 1440
 cggacactct ttatttaact caggatttat ttctccatt ttattctaatt gttacagggt 1500

ttcatactat taatcatacg ttggcaacc ctgtcatacc tttaaggat ggtatttatt 1560
 ttgctgccac agagaaatca aatgttgtcc gtgggtgggt tttggttct accatgaaca 1620
 acaagtcaca gtcggtgatt attattaaca atttactaa tgttgtata cgagcatgta 1680
 acttgaatt gtgtgacaac ccttctttg ctgttctaa acccatgggt acacagacac 1740
 atactatgat attcgataat gcatttaatt gcactttcga gtacatatct gatgcctttt 1800
 cgcttgatgt ttcagaaaag tcaggtaatt taaacactt acgagagttt gtgttataaa 1860
 ataaagatgg gtttctctat gttataagg gctatcaacc tatagatgta gttcgtgatc 1920
 taccttctgg tttaacact ttgaaaccta ttttaagtt gcctcttggg attaacatta 1980
 caaattttag agccattctt acagcctttt cacctgctca agacatttgg ggcacgtcag 2040
 ctgcagccta tttgttggc tatttaaagc caactacatt tatgctcaag tatgatgaaa 2100
 atggtacaat cacagatgct gttgattgtt ctcaaatcc acttgctgaa ctcaaatgct 2160
 ctgttaagag ctttgagatt gacaaaggaa ttaccagac ctctaatttc aggggtgttc 2220
 cctcaggaga tgttgtgaga ttcctaata ttacaaactt gtgtcctttt ggagaggttt 2280
 ttaatgctac taaattccct tctgtctatg catgggagag aaaaaaatt tctaattgtg 2340
 ttgctgatta ctctgtgctc tacaactcaa cattttttc aacctttaag tgctatggcg 2400
 tttctgccac taagtgaat gatctttgct tctcaatgt ctatgcagat tctttgtag 2460
 tcaagggaga tgatgtaaga caaatagcgc caggacaaac tgggtgtatt gctgattata 2520
 attataaatt gccagatgat ttcatgggtt gtgtccttgc ttggaatact aggaacattg 2580
 atgctacttc aactggtaat tataattata aatataggta tcttagacat ggcaagctta 2640
 ggccctttga gagagacata tctaattgtc ctttctccc tgatggcaaa ccttgcaccc 2700
 cacctgctct taattgttat tggccattaa atgattatgg ttttacacc actactggca 2760
 ttggctacca acctacaga gttgtagtac tttctttga acttttaaatt gcaccggcca 2820
 cggtttgtgg accaaaatta tccactgacc ttattaagaa ccagtgtgtc aattttaatt 2880
 ttaatggact cactgggtact ggtgtgttaa ctcttcttc aaagagattt caaccatttc 2940
 aacaatttgg ccgtgatgtt tctgatttca ctgattccgt tcgagatcct aaaacatctg 3000
 aaatattaga catttcacct tgctctttg ggggtgtaag tgtaattaca cctggaacaa 3060
 atgcttcac tgaagttgct gttctatctc aagatgttaa ctgcactgat gtttctacag 3120
 caattcatgc agatcaactc acaccagctt ggcgcatata ttctactgga aacaatgtat 3180
 tccagactca ggcaggctgt cttataggag ctgagcatgt cgacacttct tatgagtgcg 3240

acattcctat tggagctggc atttgctga gttaccatac agtttctta ttacgtagta 3300
 ctagccaaaa atctatttg gcttatacta tgtctttagg tgctgatagt tcaattgctt 3360
 actctaataa caccattgct atacctacta acttttcaat tagcattact acagaagtaa 3420
 tgccgtttc tatggctaaa acctccgtag attgtaatat gtacatctgc ggagattcta 3480
 ctgaatgtgc taatttgctt ctccaatatg gtagctttg cacacaacta aatcgtgcac 3540
 tctcaggtat tgctgctgaa caggatcgca acacacgtga agtggtcgct caagtcaaac
 3600
 aatgtacaa aacccaact ttgaaatatt ttggtggtt taattttca caaatattac 3660
 ctgaccctct aaagccaact aagaggtctt ttattgagga ctgctcttt aataagggtga 3720
 cactcgctga tgctggcttc atgaagcaat atggcgaatg cctaggtgat attaattgcta 3780
 gagatctcat ttgtgcgcag aagttaatg gacttacagt gttgccacct ctgctactg 3840
 atgatgat tgctgcctac actgctgctc tagttagtg tactgccact gctggatgga 3900
 catttggtgc tggcgctgct ctcaaatac ctttgctat gcaaattggca tatagggtca 3960
 atggcattgg agttaccaa aatgttctct atgagaacca aaaacaaatc gccaaccaat
 4020
 ttaacaaggc gattagtcaa attcaagaat cacttacaac aacatcaact gcattgggca
 4080
 agctgcaaga cgttgtaac cagaatgctc aagcattaaa cacactgtt aaacaactta 4140
 gctctaattt tgggtgaatt tcaagtgtgc taaatgatat ctttcgca ctgataaag 4200
 tcgaggcgga ggtacaaatt gacaggtaa ttacaggcag acttcaaagc ctcaaacct
 4260
 atgtaacaca acaactaatc agggctgctg aaatcagggc ttctgctaat ctgctgcta 4320
 ctaaatgtc tgagtgtgtt ctggacaat caaaaagagt tgactttgt ggaaagggt 4380
 accaccttat gtcctcca caagcagccc cgcattggtgt tgccttcta catgtcacgt 4440
 atgtgccatc ccaggagagg aactcacca cagcgccagc aattgtcat gaaggcaaag
 4500
 catactccc tcgtgaagggt gttttgtgt ttaatggcac ttcttggtt attacacaga 4560
 ggaacttctt ttctccaaa ataattacta cagacaatac attgtctca ggaaattgtg 4620
 atgtcgttat tggcatcatt aacaacacag ttatgatcc tctgcaacct gagcttgact 4680
 cattcaaaga agagctggac aagtactca aaaatcatac atcaccagat gttgattttg 4740

gcgacatttc aggcattaac gcttctgtcg tcaacattca aaaagaaatt gaccgcctca 4800
atgaggctgc taaaaattta aatgaatcac tcattgacct tcaagaactg ggaaaatatg 4860
agcaatatat taaatggcct ctgcacgaac aaaaactcat ctgagaagag gatctgaatg
4920
ctgtgggcca ggacacgcag gaggtcatcg tgggtccaca ctcttgccc ttaaggtgg
4980
tggtgatctc agccatcctg gccctggtgg tgctcacat catctccctt atcatcctca 5040
tcatgctttg gcagaagaag ccacgttagg cggccgctcg agtgctagca ccaagggccc
5100
cagcgtgttc cccctggccc ccagcagcaa gagcaccagc ggcggcacag ccgccctggg
5160
ctgcctggtg aaggactact tccccgagcc cgtgaccgtg agctggaaca gcggcgcctt
5220
gaccagcggc gtgcacacct tccccgccgt gctgcagagc agcggcctgt acagcctgag
5280
cagcgtggtg accgtgcccc gcagcagcct gggcacccag acctacatct gcaacgtgaa
5340
ccacaagccc agcaacacca aggtggacaa acgcgtggag cccaagagct gcgacaagac
5400
ccacacctgc cccccctgcc ctgccccga gctgctgggc ggaccctccg tttcctgtt 5460
ccccccaag cccaaggaca cctcatgat cagccggacc cccgaggtga cctgcgtggt
5520
ggtggacgtg agccacgagg accccgaggt gaagttcaac tggtagctgg acggcgtgga
5580
ggtgcacaac gccaaagacca agccccggga ggagcagtac aacagcacct accgggtggt
5640
gagcgtgctc accgtgctgc accaggactg gctgaacggc aaggagtaca agtgcaaggt
5700
gagcaacaag gccctgcctg ccccatcga gaagaccatc agcaaggcca agggccagcc
5760

ccgggagccc caggtgtaca ccctgcccc cagccgggag gagatgacca agaaccaggt
5820
gtccctcacc tgtctggtga agggcttcta cccagcgcac atcgccgtgg agtgggagag
5880
caacggccag cccgagaaca actacaagac cccccccct gtgctggaca gcgacggcag
5940
cttcttctg tacagcaagc tcaccgtgga caagagccgg tggcagcagg gcaacgtgtt
6000
cagctgcagc gtgatgcacg aggccctgca caaccactac acccagaaga gcctgagcct
6060
gagccccggc aagtgataat ctagagggcc cgtttaaacc cgctgatcag cctcgactgt
6120
gccttctagt tgccagccat ctgttgttg cccctcccc gtgccttct tgaccctgga 6180
aggtgccact cccactgtcc ttcctaata aaatgaggaa attgcatcgc attgtctgag 6240
taggtgtcat tctattctgg ggggtgggt ggggcaggac agcaaggggg aggattggga
6300
agacaatagc aggcattgtg gggatgcggt gggctctatg gcttctgagg cggaaagaac
6360
cagctggggc tctaggggt atccccacgc gccctgtagc ggcgcattaa gcgcggcggg
6420
tgtggtggt acgcgcagcg tgaccgtac acttgccagc gccctagcgc ccgctcctt 6480
cgcttcttc ccttccttc tcgccacgtt cgccggctt ccccgtaag ctctaaatcg 6540
ggggctccct ttagggtcc gatttagtgc ttacggcac ctgacccca aaaaactga 6600
ttagggtgat ggttcacgta gtgggccatc gccctgatag acggttttc gcccttgac 6660
gttgaggtcc acgttctta atagtggact ctgttccaa actggaacaa cactcaacc 6720
tatctcgtc tattctttg attataagg gatttgccg attcggcct attggtaaa 6780
aaatgagctg atttaacaaa aatttaacgc gaattaattc tgtggaatgt gtgtcagtta 6840
gggtgtggaa agtccccagg ctccccagca ggcagaagta tgcaaagcat gcatctcaat
6900
tagtcagcaa ccaggtgtgg aaagtccca ggctccccag caggcagaag tatgcaaagc

6960

atgcatctca attagtcagc aaccatagtc ccgcccctaa ctccgcccac cccgccccta 7020

actccgcccga gttccgcccga ttctccgccc catggctgac taatttttt tatttatgca 7080

gaggccgagg ccgcctctgc ctctgagcta ttccagaagt agtgaggagg ctttttgga 7140

ggcctagggt tttgcaaaaa gctcccggga gcttgatat ccatttcgg atctgatcaa 7200

gagacaggat gaggatcggt tcgcatgatt gaacaagatg gattgcacgc aggttctccg
7260gccgcttggg tggagaggct attcggctat gactgggcac aacagacaat cggctgctct
7320

gatgccgccc tgttccgggt gtcagcgcag gggcgcccgg ttcttttgt caagaccgac 7380

ctgtccgggt cctgaatga actgcaggac gaggcagcgc ggctatctg gctggccacg
7440acgggcggtt cttgcgagc tgtgctcgac gttgtcactg aagcgggaag ggactggctg
7500

ctattgggcg aagtgccggg gcaggatctc ctgtcatctc accttgctcc tgccgagaaa 7560

gtatccatca tggctgatgc aatgcggcgg ctgcatacgc ttgatccggc tacctgcccga 7620

ttcgaccacc aagcgaaaca tcgcatcgag cgagcacgta ctcggatgga agccgggtctt
7680gtcgatcagg atgatctgga cgaagagcat caggggctcg cgccagccga actgttcgcc
7740aggctcaagg cgcgcatgcc cgacggcgag gatctcgtcg tgacctatgg cgatgcctgc
7800

ttgccgaata tcatggtgga aaatggccgc tttctggat tcatcgactg tggccggctg 7860

gggtgtggcgg accgctatca ggacatagcg ttggctaccc gtgatattgc tgaagagctt 7920

ggcggcgaat gggctgaccg cttctcgtg ctttacggta tcgccgctcc cgattcgag 7980

cgcacgcct tctatgcct tctgacgag ttctctgag cgggactctg gggttcgaaa 8040

tgaccgacca agcgacgcc aacctgcat cagagattt cgattccacc gccgccttct
8100

atgaaagggt gggcttcgga atcgtttcc gggacgccgg ctggatgatc ctccagcgcg

8160

gggatctcat gctggagttc ttcgcccacc ccaacttggt tattgcagct tataatggtt 8220
acaaataaag caatagcatc acaaatttca caaataaagc attttttca ctgcattcta 8280
gttggtggtt gtccaaactc atcaatgtat ctatcatgt ctgtataccg tcgacctcta 8340
gctagagctt ggcgtaatca tggcatagc tgtttcctgt gtgaaattgt tatccgctca 8400
caattccaca caacatacga gccggaagca taaagtgtaa agcctgggggt gcctaagag
8460
tgagctaact cacattaatt gcgttgcgct cactgcccgc ttccagtcg ggaaacctgt 8520
cgtgccagct gcattaatga atcgccaac gcgcggggag aggcggttg cgtattggc
8580
gctctccgc ttctcgctc actgactgc tgcgctcggc cgttcggctg cggcgagcgg 8640
tatcagctca ctcaaaggcg gtaatacggc tatccacaga atcaggggat aacgcaggaa
8700
agaacatgtg agcaaaaggc cagcaaaagg ccaggaaccg taaaaaggcc gcgttgctgg
8760
cgttttcca taggctccgc cccctgacg agcatcaca aaatcgacgc tcaagtcaga
8820
ggtaggcgaaa cccgacagga ctataaagat accaggcgtt tccccctgga agctccctcg
8880
tgcgctctcc tgtccgacc ctgccgcta ccggatacct gtccgcctt ctccctcgg 8940
gaagcgtggc gctttctcat agctcacgct gtaggtatct cagttcgggt taggtcgttc 9000
gctccaagct gggctgtgtg cacgaacccc ccgttcagcc cgaccgctgc gccttatccg
9060
gtaactatcg tcttgagtcc aaccggtaa gacacgactt atcgccactg gcagcagcca
9120
ctggtaacag gattagcaga gcgaggtatg taggcggtgc tacagagttc ttgaagtgg
9180
ggcctaacta cggctacact agaagaacag tatttggtat ctgcgctctg ctgaagccag
9240
ttaccttcgg aaaaagagtt ggtagctctt gatccggcaa acaaaccacc gctggtagcg
9300

gttttttgt ttgcaagcag cagattacgc gcagaaaaaa aggatctcaa gaagatcctt 9360
 tgatcttttc tacgggggtct gacgctcagt ggaacgaaaa ctcacgttaa gggattttgg 9420
 tcatgagatt atcaaaaagg atcttcacct agatcctttt aaattaaaaa tgaagtttta 9480
 aatcaatcta aagtatatat gagtaaactt ggtctgacag ttaccaatgc ttaatcagtg 9540
 aggcacctat ctcagcgatc tgtctatttc gttcatccat agttgcctga ctccccgtcg 9600
 tgtagataac tacgatacgg gaggggttac catctggccc cagtgtctga atgataccgc
 9660
 gagaccacg ctcaccggct ccagatttat cagcaataaa ccagccagcc ggaagggccg
 9720
 agcgcagaag tggctctgca actttatccg cctccatcca gtctattaat tgttgccggg 9780
 aagctagagt aagtagttcg ccagttaata gttgcgcaa cgttggtgcc attgctacag 9840
 gcatcgtggt gtcacgctcg tcgtttggtg tggcttcatt cagctccggt tcccaacgat 9900
 caaggcgagt tacatgatcc cccatgttgt gcaaaaaagc ggtagctcc ttcggtcctc 9960
 cgatcgttgt cagaagtaag ttggccgcag tgttatcact catggttatg gcagcactgc 10020
 ataattctct tactgtcatg ccatccgtaa gatgcttttc tgtgactggt gagtactcaa 10080
 ccaagtcatt ctgagaatag tgtatgcggc gaccgagttg ctcttgcccg gcgtaatac
 10140
 gggataatac cgcgccacat agcagaactt taaaagtgtc catcattgga aaacgttctt
 10200
 cggggcgaaa actctcaagg atcttaccgc tgttgagatc cagttcgatg taaccactc
 10260
 gtgcacccaa ctgatcttca gcatctttta cttcaccag cgtttctggg tgagcaaaaa 10320
 caggaaggca aatgccgca aaaaagggaa taagggcgac acggaaatgt tgaatactca
 10380
 tactcttctt tttcaatat tattgaagca tttatcaggg ttattgtctc atgagcggat 10440
 acatatttga atgtatttag aaaaataaac aaataggggt tccgcgcaca tttccccgaa
 10500
 aagtgccacc tgacg 10515

Vector plg-C909-Ckappa (SEQ ID NO:176)

tcgacggatc gggagatctc ccgatcccct atggtgcact ctgagtacaa tctgctctga 60
 tgccgcatag ttaagccagt atctgctccc tgcttggtg ttggaggctg ctgagtagtg 120
 cgcgagcaaa atttaagcta caacaaggca aggcttgacc gacaattgtt aattaacatg
 180
 aagaatctgc ttagggtag gcgtttgctg ctgcttcgct aggtgggtcaa tattggccat 240
 tagccatatt attcattggt tatatagcat aaatcaatat tggctattgg ccattgcata 300
 cgttgatcc atacataat atgtacattt atattggctc atgtccaaca ttaccgcat 360
 gttgacattg attattgact agttattaat agtaatcaat tacgggggtca ttagttcata 420
 gcccatatat ggagttccgc gttacataac ttacggtaaa tggcccgctt ggctgaccgc 480
 ccaacgaccc ccgcccattg acgtcaataa tgacgtatgt tcccatagta acgccaatag
 540
 ggactttcca ttgacgtcaa tgggtggagt atttacggta aactgccac ttggcagtac 600
 atcaagtga tcatatgcca agtacgcccc ctattgacgt caatgacggt aaatggcccg 660
 cctggcatta tgcccagtac atgaccttat gggactttcc tacttggcag tacatctacg 720
 tattagtcac cgctattacc atggtgatgc ggtttggca gtacatcaat gggcgtggat 780
 agcggttga ctacgggga ttccaagtc tccaccccat tgacgtcaat gggagtttgt 840
 ttggcacca aaatcaacgg gactttcaa aatgtcgtaa caactccgcc ccattgacgc 900
 aaatgggcgg taggcgtgta cgggtggagg tctatataag cagagctcgt ttagtgaacc
 960
 gtcagatcgc ctggagacgc catccacgct gtttgacct ccatagaaga caccgggacc
 1020
 gatccagcct ccgcgcccg gaacggtgca ttggaatcga tgactctctt aggtagcctt 1080
 gcagaagttg gtcgtgaggc actgggcagg taagtatcaa ggttacaaga caggtttaag
 1140
 gagatcaata gaaactgggc ttgtcgagac agagaagact ctgctgttc tgataggcac
 1200
 ctattggtct tactgacatc cactttgcct ttctctccac aggtgtccac tcccagttca 1260
 attacagctc gccaccatgc ggctgcccgc ccagctgctg ggccttctca tgctgtgggt 1320
 gcccgctcg agatctatcg atgcatgcca tggtagcaag ctggccacca tgagcagcag
 1380

ctcttggtg ctgctgagcc tggaggccgt gacagccgcc cagagcacca tcgaggagca
1440

ggccaagacc ttctggaca agttcaacca cgaggccgag gacctgttct accagagcag
1500

cctggccagc tggaactaca acaccaacat caccgaggag aacgtgcaga acatgaacaa
1560

cgccggcgac aagtggagcg ccttctgaa ggagcagagc aactggccc agatgtaccc
1620

cctgcaggag atccagaacc tgaccgtgaa gctgcagctg caggccctgc agcagaacgg
1680

cagcagcgtg ctgagcgagg acaagagcaa gcggctgaac accatcctga acaccatgtc
1740

caccatctac agcaccggca aagtgtgcaa ccccgacaac cccaggagt gcctgctgct
1800

ggagcccggc ctgaacgaga tcatggccaa cagcctggac tacaacgagc ggctgtgggc
1860

ctgggagagc tggcggagcg aagtgggcaa gcagctgcgg cccctgtacg aggagtacgt
1920

ggtgctgaag aacgagatgg ccaggggcaa ccactacgag gactacggcg actactggag
1980

aggcgactac gaagtgaacg gctgggacgg ctacgactac agcagaggcc agctgatcga
2040

ggacgtggag cacaccttcg aggagatcaa gcctctgtac gagcacctgc acgcctacgt
2100

gcggggccaag ctgatgaacg cctaccccag ctacatcagc cccatcggct gcctgcccgc
2160

ccacctgctg ggcgacatgt ggggccggtt ctggaccaac ctgtacagcc tgaccgtgcc
2220

cttcggccag aagcccaaca tcgacgtgac cgacgccatg gtggaccagg cctgggacgc
2280

ccagcggatc ttcaaggagg ccgagaagtt cttcgtgagc gtgggcctgc ccaacatgac
2340

ccagggcctt tgggagaaca gcatgctgac cgaccccggc aatgtgcaga aggccgtgtg
2400

ccaccccacc gcctgggacc tgggcaaggg cgacttcgg atcctgatgt gcaccaaagt
2460

gaccatggac gacttctga ccgcccacca cgagatgggc cacatccagt acgacatggc
2520

ctacgccgcc cagcccttc tgctgcggaa cggcgccaac gagggcttc acgaggccgt
2580

gggcgagatc atgagcctga gcgccgccac cccaagcac ctgaagagca tcggcctgct
2640

gagccccgac ttccaggagg acaacgagac cgagatcaac ttctgctga agcaggccct
2700

gaccatcgtg ggcaccctgc ccttcaccta catgctggag aagtggcggg ggatggtgtt
2760

taagggcgag atccccaagg accagtggat gaagaagtgg tgggagatga agcgggagat
2820

cgtagggcgtg gtggagcccg tgccccacga cgagacctac tgcgaccccg ccagcctgtt
2880

ccacgtgagc aacgactact ccttcacccg gtactacacc cggaccctgt accagttcca
2940

gttccaggag gccctgtgcc aggccgcaa gcacgagggc cccctgcaca agtgcgacat
3000

cagcaacagc accgaggccg gacagaaact gttcaacatg ctgcggctgg gcaagagcga
3060

gccctggacc ctggccctgg agaattgtgt gggcgccaag aacatgaatg tgcgccccct
3120

gctgaactac ttcgagcccc tgttcacctg gctgaaggac cagaacaaga acagcttcgt
3180

gggctggagc accgactgga gcccctacgc cgaccagagc atcaaagtgc ggatcagcct
3240
gaagagcgcc ctgggcgaca aggcctacga gtggaacgac aacgagatgt acctgttccg
3300
gagcagcgtg gcctatgcca tgcggcagta cttcctgaaa gtgaagaacc agatgatcct
3360
gttcggcgag gaggacgtga gagtggccaa cctgaagccc cggatcagct tcaacttctt
3420
cgtgaccgcc cccaagaacg tgagcgacat catcccccg accgaagtgg agaaggccat
3480
ccggatgagc cggagccgga tcaacgacgc cttccggctg aacgacaact ccctggagtt
3540
cctgggcatc cagcccaccc tgggccctcc caaccagccc cccgtgagca tctggctgat
3600
cgtgtttggc gtggtgatgg gcgtgatcgt ggtgggaatc gtgatcctga tctcaccgg 3660
catccgggac cggaagaaga agaacaaggc ccggagcggc gagaaccctt acgccagcat
3720
cgatatcagc aagggcgaga acaaccccgg cttccagaac accgacgacg tgcagaccag
3780
cttctgataa tctagaacga gctcgaattc gaagcttctg cagacgcgtc gacgtcatat 3840
ggatccgata tcgccgtggc ggccgcaccc agcgtgttca tcttcccccc ctccgacgag
3900
cagctgaaga gcggcaccgc cagcgtggtg tgcctgctga acaacttcta cccccgggag
3960
gccaaaggtgc agtggaaagg ggacaacgcc ctgcagagcg gcaacagcca ggagagcgtg
4020
accgagcagg acagcaagga ctccacctac agcctgagca gcaccctcac cctgagcaag
4080
gccgactacg agaagcacao ggtgtacgcc tgcgaggtga cccaccaggg cctgagcagc
4140

cccgtgacca agagcttcaa ccggggcgag tgtaataga ctaagtta aaccgctgat
4200
cagcctcgac tgtgccttct agttgccagc catctgttgt ttgccctcc cccgtgcctt 4260
ccttgaccct ggaaggtgcc actcccactg tccttccta ataaaatgag gaaattgcat 4320
cgcattgtct gagtaggtgt cattctattc tgggggggtgg ggtggggcag gacagcaagg
4380
gggaggattg ggaagacaat agcaggcatg ctggggatgc ggtgggctct atggcttctg
4440
aggcggaaag aaccagctgg ggctctaggg ggtatcccca cgcgccctgt agcggcgcag
4500
taagcgcggc ggggtgtgtg gttacgcgca gcgtgaccgc tacacttgcc agcgccctag
4560
cgcccgtcc ttctgcttc ttcccttct ttctcgccac gttcgccggc ttccccgtc 4620
aagctctaaa tcgggggctc ccttaggggt tccgatttag tgctttacgg cacctcgacc 4680
ccaaaaaact tgattagggg gatgggtcac gtagtgggcc atcgccctga tagacggttt 4740
ttcgcccttt gacgttgag tccacgttct ttaatagtgg actctgttc caaactggaa 4800
caacactcaa ccctatctcg gtctattctt ttgattata agggatttg gccatttcgg 4860
cctattgggt aaaaaatgag ctgatttaac aaaaatttaa cgcaattaa ttctgtggaa 4920
tgtgtgtcag ttaggggtgtg gaaagtcccc aggcctccca gcaggcagaa gtatgcaaag
4980
catgcatctc aattagtcag caaccagggtg tggaaagtcc ccaggctccc cagcaggcag
5040
aagtatgcaa agcatgcatc tcaattagtc agcaaccata gtcccgcccc taactccgcc
5100
catcccgccc ctaactccgc ccagttccgc ccattctccg ccccatggct gactaatttt 5160
tttttttat gcagaggccg aggccgcctc tgctctgag ctattccaga agtagtgagg 5220
aggcttttt ggaggcctag gctttgcaa aaagctcccg ggagcttgta tatcatttt 5280
cggatctgat cagcacgtga tgaaaaagcc tgaactcacc gcgacgtctg tcgagaagtt
5340
tctgatcgaa aagttcgaca gcgtctccga cctgatgcag ctctcggagg gcgaagaatc

5400

tcgtgctttc agcttcgatg taggagggcg tggatatgtc ctgcgggtaa atagctgcgc 5460
cgatggtttc tacaagatc gttatgttta tcggcacttt gcatcggccg cgctcccgat 5520
tccggaagtg cttgacattg gggaattcag cgagagcctg acctattgca tctcccgccg 5580
tgcacagggg gtcacgttgc aagacctgcc tgaaaccgaa ctgcccgtg ttctgcagcc
5640

ggtcgcggag gccatggatg cgatcgctgc ggccgatctt agccagacga gcgggttcgg
5700

cccattcgga ccacaaggaa tcggtcaata cactacatgg cgtgatttca tatgcgcgat
5760

tgctgatccc catgtgtatc actggcaaac tgtgatggac gacaccgtca gtgcgtccgt 5820
cgcgaggct ctcgatgagc tgatgctttg ggccgaggac tgccccgaag tccggcacct
5880

cgtgcacgcg gatttcggct ccaacaatgt cctgacggac aatggccgca taacagcggg
5940

cattgactgg agcgaggcga tgttcgggga ttccaatac gaggtcgcca acatcttctt 6000
ctggaggccg tggttggctt gtatggagca gcagacgcgc tacttcgagc ggaggcatcc
6060

ggagcttgca ggatcgccgc ggctccgggc gtatatgtc cgcatgggtc ttgaccaact 6120
ctatcagagc ttggttgacg gcaatttcga tgatgcagct tgggcgcagg gtcgatgcga 6180
cgcaatcgtc cgatccggag ccgggactgt cgggcgtaca caaatcgccc gcagaagcgc
6240

ggccgtctgg accgatggct gtgtagaagt actcgccgat agtggaacc gacgccccag
6300

cactcgtccg agggcaaagg aatagcacgt gctacgagat ttcgattcca ccgccgcctt
6360

ctatgaaagg ttgggcttcg gaatcgttt ccgggacgcc ggctggatga tcctccagcg 6420
cggggatctc atgctggagt tcttcgcca cccaacttg ttattgcag cttataatgg 6480
ttacaaataa agcaatagca tcacaaattt cacaaataaa gcatttttt cactgcattc 6540
tagttgtggt ttgtccaaac tcataatgt atcttatcat gtctgtatac cgtcgacctc 6600

tagctagagc ttggcgtaat catggtcata gctgtttcct gtgtgaaatt gttatccgct 6660
cacaattcca cacaacatac gagccggaag cataaagtgt aaagcctggg gtgcctaattg
6720
agttagctaa ctcacattaa ttgcgttgcg ctactgccc gctttccagt cgggaaacct 6780
gtcgtgccag ctgcattaat gaatcggcca acgcgcgggg agaggcggtt tgcgtattgg
6840
gcgctcttcc gcttcctcgc tctactgactc gctgcgctcg gtcgttcggc tgcggcgagc 6900
ggatcagct cactcaaagg cggtaatacg gttatccaca gaatcagggg ataacgcagg
6960
aaagaacatg tgagcaaaaag gccagcaaaa ggccaggaac cgtaaaaagg cgcggttgct
7020
ggcgttttc cataggctcc gccccctga cgagcatcac aaaaatcgac gctcaagtca
7080
gaggtggcga aacccgacag gactataaag ataccaggcg ttccccctg gaagctccct
7140
cgtgcgctct cctgttccga ccctgccgct taccggatac ctgtccgcct ttctccctc 7200
gggaagcgtg gcgctttctc atagctcacg ctgtaggtat ctgagttcgg ttaggtcgt 7260
tcgctccaag ctgggctgtg tgcacgaacc ccccggtcag cccgaccgct gcgccttacc
7320
cggttaactat cgtcttgagt ccaacccggt aagacacgac ttatcgccac tggcagcagc
7380
cactggtaac aggattagca gagcgaggta ttagggcgtt gctacagagt tctgaagtg
7440
gtggcctaac tacggctaca ctagaagaac agtatttggg atctgcgctc tgctgaagcc 7500
agttaccttc ggaaaaagag ttggtagctc ttgatccggc aaacaaacca ccgctggtag
7560
cggtttttt gtttgaagc agcagattac gcgcagaaaa aaaggatctc aagaagatcc
7620
tttgatcttt tctacggggg ctgacgctca gtggaacgaa aactcacgtt aagggatttt 7680
ggatcatgaga ttatcaaaaa ggatcttcac ctgacccctt ttaaattaaa aatgaagttt 7740

taaatcaatc taaagtatat atgagtaaac ttggtctgac agttaccaat gcttaatcag 7800
 tgaggcacct atctcagcga tctgtctatt tcgttcatcc atagttgcct gactccccgt 7860
 cgtgtagata actacgatac gggaggggctt accatctggc cccagtgtg caatgatacc
 7920
 gcgagacca cgctcaccgg ctccagattt atcagcaata aaccagccag ccggaagggc
 7980
 cgagcgcaga agtggctctg caactttatc cgctccatc cagtctatta attgttgccg 8040
 ggaagctaga gtaagtagtt cgccagttaa tagtttgcgc aacgttggtg ccattgctac 8100
 aggcatcgtg gtgtcacgct cgtcgtttgg tatggcttca ttcagctccg gttcccaacg 8160
 atcaaggcga gttacatgat ccccatgtt gtgcaaaaaa gcggttagct ccttcggtcc 8220
 tccgatcgtt gtcagaagta agttggccgc agtgttatca ctcatggta tggcagcact 8280
 gcataattct ctactgtca tgccatccgt aagatgctt tctgtgactg gtgagtactc 8340
 aaccaagtca ttctgagaat agtgtatgcg gcgaccgagt tgctcttgcc cggcgtcaat 8400
 acgggataat accgcgccac atagcagaac tttaaagtgt ctcatcattg gaaaacgttc
 8460
 ttcggggcga aaactctcaa ggatcttacc gctgttgaga tccagttcga tgtaaccac 8520
 tcgtgcaccc aactgatctt cagcatcttt tactttcacc agcgtttctg ggtgagcaaa 8580
 aacaggaagg caaatgccg caaaaaaggg aataagggcg acacggaaat gttgaatact
 8640
 catactcttc cttttcaat attattgaag catttatcag gggtattgtc tcatgagcgg 8700
 atacatattt gaatgtattt agaaaaataa acaaataggg gttccgcgca cattccccg 8760
 aaaagtgcc cctgacg 8777

Vector plg-C910-Clambda (SEQ ID NO:177)

tcgacggatc gggagatctc ccgatcccct atggtgcact ctcatgataa tctgctctga 60
 tgccgcatag ttaagccagt atctgtccc tgctgtgtg ttggaggtcg ctgagtagtg 120
 cgcgagcaaa atttaagcta caacaaggca aggcttgacc gacaattgtt aattaacatg
 180
 aagaatctgc ttaggggttag gcgttttgcg ctgcttcgct aggtgggtcaa tattggccat 240
 tagccatatt attcattggt tatatagcat aaatcaatat tggctattgg ccattgcata 300

cgttgtatcc atatcataat atgtacattt atattggctc atgtccaaca ttaccgcat 360
gttgacattg attattgact agttattaat agtaatcaat tacgggggtca ttagttcata 420
gcccataatat ggagttccgc gttacataac ttacggtaaa tggcccgctt ggctgaccgc 480
ccaacgaccc ccgcccattg acgtcaataa tgacgtatgt tcccatagta acgccaatag
540
ggactttcca ttgacgtcaa tgggtggagt atttacggta aactgcccac ttggcagtac 600
atcaagtgtg tcatatgcca agtacgcccc ctattgacgt caatgacggt aaatggcccc 660
cctggcatta tgcccagtac atgaccttat gggactttcc tacttggcag tacatctacg 720
tattagtcat cgctattacc atgggtgatgc ggttttgga gtacatcaat gggcgtggat 780
agcggtttga ctacggggga ttccaagtc tccaccccat tgacgtcaat gggagtttgt 840
tttggcacca aaatcaacgg gactttcaa aatgtcgtaa caactccgcc ccattgacgc 900
aaatgggcgg taggcgtgta cgggtggagg tctatataag cagagctcgt ttagtgaacc
960
gtcagatcgc ctggagacgc catccacgct gtttgacct ccatagaaga caccgggacc
1020
gatccagcct ccgcggccgg gaacgggtgca ttggaatcga tgactctctt aggtagcctt 1080
gcagaagttg gtcgtgaggc actgggcagg taagtatcaa ggttacaaga caggtttaag
1140
gagatcaata gaaactgggc ttgtcgagac agagaagact ctgctgttc tgataggcac
1200
ctattggtct tactgacatc cactttgcct ttctctccac aggtgtccac tcccagttca 1260
attacagctc gccaccatgc ggttctccgc tcagctgctg ggccttctgg tgctgtggat 1320
tcccggcgtc tcgagatcta tcgatgatg ccatggtacc aagcttgcca ccatgagcag
1380
cagctcttgg ctgctgctga gcctgggtggc cgtgacagcc gccagagca ccatcgagga
1440
gcaggccaag accttctgg acaagttcaa ccacgaggcc gaggacctgt tctaccagag
1500
cagcctggcc agctggaact acaacaccaa catcaccgag gagaacgtgc agaacatgaa
1560

caacgccggc gacaagtgga ggccttcct gaaggagcag agcacactgg cccagatgta
1620

ccccctgcag gagatccaga acctgaccgt gaagctgcag ctgcaggccc tgcagcagaa
1680

cggcagcagc gtgctgagcg aggacaagag caagcggctg aacaccatcc tgaacaccat
1740

gtccaccatc tacagcaccg gcaaagtgtg caaccccgac aacccccagg agtgctgtgt
1800

gctggagccc ggcctgaacg agatcatggc caacagcctg gactacaacg agcggctgtg
1860

ggcctgggag agctggcgga gcgaagtggg caagcagctg cggcccctgt acgaggagta
1920

cgtggtgtgt aagaacgaga tggccagggc caaccactac gaggactacg gcgactactg
1980

gagaggcgac tacgaagtga acggcgtgga cggctacgac tacagcagag gccagctgat
2040

cgaggacgtg gagcacacct tcgaggagat caagcctctg tacgagcacc tgcacgccta
2100

cgtagcgggc aagctgatga acgcctaccc cagctacatc agcccatcg gctgcctgcc
2160

cgcccacctg ctgggcgaca tgtggggccg gttctggacc aacctgtaca gcctgaccgt
2220

gcccttcggc cagaagccca acatcgacgt gaccgacgcc atggtggacc aggctggga
2280

cgcccagcgg atcttcaagg aggccgagaa gttcttcgtg agcgtgggcc tgcccaacat
2340

gaccagggc ttttgggaga acagcatgct gaccgacccc ggcaatgtgc agaaggccgt
2400

gtgccacccc accgcctggg acctgggcaa gggcgacttc cggatcctga tgtgcaccaa
2460

agtgaccatg gacgacttcc tgaccgcccac ccacgagatg ggccacatcc agtacgacat
2520
ggcctacgcc gccagccct tcctgctgcg gaacggcgcc aacgagggct ttcacgaggc
2580
cgtgggagc atcatgagcc tgagcgccgc caccaccaag cacctgaaga gcatcggcct
2640
gctgagcccc gacttcagg aggacaacga gaccgagatc aacttcctgc tgaagcaggc
2700
cctgaccatc gtgggcaccc tgcccttcac ctacatgctg gagaagtggc ggtggatggt
2760
gtttaagggc gagatcccca aggaccagt gatgaagaag tggtaggaga tgaagcggga
2820
gatcgtgggc gtggtggagc ccgtgccccg cgacgagacc tactgagacc ccgacagcct
2880
gttcacgtg agcaacgact actcctcat ccggtactac acccgagacc tgtaccagtt 2940
ccagttccag gaggccctgt gccaggccgc caagcacgag ggccccctgc acaagtgcga
3000
catcagcaac agcaccgagg ccggacagaa actgttcaac atgctgcggc tgggcaagag
3060
cgagccctgg accctggccc tggagaatgt ggtgggcgcc aagaacatga atgtgcgcc
3120
cctgctgaac tacttcgagc ccctgttcac ctggctgaag gaccagaaca agaacagctt
3180
cgtgggctgg agcaccgact ggagccccta cgccgaccag agcatcaaag tgcggatcag
3240
cctgaagagc gccctgggag acaaggccta cgagtgggac gacaacgaga tgtacctgtt
3300
ccggagcagc gtggcctatg ccatgcggca gtacttcctg aaagtgaaga accagatgat
3360
cctgttcggc gaggaggacg tgagagtggc caacctgaag ccccgatca gcttcaactt

3420

cttcgtgacc gcccccaaga acgtgagcga catcatcccc cggaccgaag tggagaaggc

3480

catccggatg agccggagcc ggatcaacga cgccttccgg ctgaacgaca actccctgga

3540

gttcctgggc atccagccca ccctgggccc tccaaccag cccccgtga gcatctggct

3600

gatcgtgttt ggcgtggtga tgggcgtgat cgtggtggga atcgtgatcc tgatcttcac 3660

cggcatccgg gaccggaaga agaagaacaa ggcccggagc ggcgagaacc
cctacgccag 3720catcgatc agcaagggcg agaacaacc cggcttcag aacaccgacg acgtgcagac
3780cagcttctga taatctagaa cgagctcgaa ttcgaagctt ctgcagacgc gtcgacgtca
3840tatggatccg atatcgccgt ggcggccgca ggccagccca aggccgctcc cagcgtgacc
3900ctgttcccc cctcctccga ggagctgcag gccaacaagg ccaccctggg gtgcctcatc
3960agcgacttct accctggcgc cgtgaccgtg gcctggaagg ccgacagcag ccccgtaag
4020gccggcgtgg agaccaccac cccagcaag cagagcaaca acaagtacgc cgccagcagc
4080tacctgagcc tcacccccga gcagtggaag agccaccgga gctacagctg ccaggtgacc
4140cacgagggca gcaccgtgga gaagaccgtg gccccaccg agtgcagcta atagacttaa
4200

gtttaaaccg ctgatcagcc tcgactgtgc ctctagttg ccagccatct gttgtttgcc 4260

cctccccgt gccttccttg accctggaag gtgccactcc cactgtcctt tcctaataaa 4320

atgaggaaat tgcacgcat tgtctgagta ggtgtcattc tattctgggg ggtggggtgg 4380

ggcaggacag caagggggag gattgggaag acaatagcag gcatgctggg gatgcggtgg

4440

gctctatggc ttctgaggcg gaaagaacca gctggggctc taggggggtat cccacgcgc

4500

cctgtagcgg cgcattaagc gcggcgggtg tgggtggttac gcgcagcgtg accgctacac

4560

ttgccagcgc ctagcgccc gtcctttcg ctttctccc ttctttctc gccacgttcg 4620

ccggctttcc ccgtcaagct ctaaactcggg ggctccctt aggggtccga ttagtgctt 4680

tacggcacct cgaccccaa aaacttgatt aggggtgatg ttcacgtagt gggccatcgc

4740

cctgatagac ggttttcgc ctttgacgt tggagtccac gttcttaat agtggactct 4800

tgttccaaac tggaacaaca ctcaacccta tctcgggtcta ttctttgat ttataaggga 4860

tttggccat ttcggcctat tggtaaaaa atgagctgat ttaacaaaaa tttaacgcga 4920

attaattctg tggaatgtgt gtcagttagg gtgtggaaag tcccaggct cccagcagg 4980

cagaagtatg caaagcatgc atctcaatta gtcagcaacc aggtgtggaa agtcccagg

5040

ctccccagca ggcagaagta tgcaaagcat gcatctcaat tagtcagcaa ccatagtccc

5100

gccctaact ccgcccatt ccgcccctaac tccgcccagt tccgcccatt ctccgcccc

5160

tggctgacta attttttta ttatgcaga ggccgaggcc gcctctgcct ctgagctatt 5220

ccagaagtag tgaggaggct ttttggagg cctaggctt tgcaaaaagc tccggggagc

5280

ttgtatatcc attttcggat ctgatcagca cgtgatgaaa aagcctgaac tcaccgcgac 5340

gtctgtcgag aagtttctga tcgaaaagtt cgacagcgtc tccgacctga tgcagctctc 5400

ggagggcgaa gaatctcgtg cttcagctt cgatgtagga gggcgtggat atgtcctgcg

5460

ggtaaatagc tgcgccgatg gttctacaa agatcggtat gttatcggc actttgcatc 5520

ggccgcgctc ccgattccgg aagtgttga cattggggaa ttcagcgaga gcctgaccta

5580

ttgcatctcc cgccgtgcac aggggtgcac gttgcaagac ctgcctgaaa ccgaactgcc

5640

cgctgttctg cagccggtcg cggaggccat ggatgcatc gctgcggccg atcttagcca

5700

gacgagcggg ttcggcccat tcggaccgca aggaatcggc caatacacta catggcgtga

5760

tttcatatgc gcgattgctg atccccatgt gtatcactgg caaactgtga tggacgacac 5820

cgtcagtgcg tccgtcgcgc aggctctcga tgagctgatg ctttgggccc aggactgccc

5880

cgaagtcggg cacctcgtgc acgcggattt cggctccaac aatgtcctga cggacaatgg

5940

ccgcataaca gcggtcattg actggagcga ggcgatgttc ggggattccc aatacgaggc

6000

cgccaacatc ttcttctgga ggccgtgggt ggcttgatg gagcagcaga cgcgctactt 6060

cgagcggagg catccggagc ttgcaggatc gccgcggctc cgggcgtata tgctccgcat

6120

tggcttgac caactctatc agagcttggc tgacggcaat ttcgatgatg cagcttgggc 6180

gcagggtcga tgcgacgcaa tcgtccgatc cggagccggg actgtcgggc gtacacaaat

6240

cgcccgacga agcgcggccg tctggaccga tggctgtgta gaagtactcg ccgatagtgg

6300

aaaccgacgc cccagcactc gtccgagggc aaaggaatag cacgtgctac gagatttcca

6360

ttccaccgcc gccttctatg aaagggtggg cttcggaatc gtttccggg acgccggctg 6420

gatgatcctc cagcgcgggg atctcatgct ggagttctc gccacccca acttgttat 6480

tgcagcttat aatgggtaca aataaagcaa tagcatcaca aatttcacaa ataaagcatt 6540

ttttcactg cattctagtt gtggttgtc caaactcatc aatgtatctt atcatgtctg 6600

tataccgtcg acctctagct agagcttggc gtaatcatgg tcatagctgt ttctgtgtg 6660

aaattgttat ccgctcacia ttccacacia catacgagcc ggaagcataa agtgtaaagc

6720

ctggggtgcc taatgagtga gctaactcac attaattgcg ttgcgctcac tgcccgttt 6780

ccagtcggga aacctgtcgt gccagctgca ttaatgaatc ggccaacgcg cggggagagg
 6840
 cggtttgcgt attgggcgct ctccgcttc ctgctcact gactcgctgc gtcgggtcgt 6900
 tcggctgcgg cgagcggtat cagctcactc aaaggcggtat atacggttat ccacagaatc
 6960
 aggggataac gcaggaaaga acatgtgagc aaaaggccag caaaaggcca
 ggaaccgtaa 7020
 aaaggccgcg ttgctggcgt tttccatag gctccgcccc cctgacgagc atcacaaaaa
 7080
 tcgacgtca agtcagaggt ggcgaaaccc gacaggacta taaagatacc aggcgtttcc
 7140
 ccctggaagc tccctcgtgc gctctcctgt tccgaccctg ccgcttaccg gatacctgtc 7200
 cgcctttctc ctttcgggaa gcgtggcgct ttctcatagc tcacgctgta ggtatctcag 7260
 ttcggtgtag gtcgttcgct ccaagctggg ctgtgtgcac gaaccccccg ttcagccccga 7320
 ccgctgcgcc ttatccggtat actatcgtct tgagtccaac ccggttaagac acgacttattc 7380
 gccactggca gcagccactg gtaacaggat tagcagagcg aggtatgtag gcggtgctac
 7440
 agagttcttg aagtgggtggc ctaactacgg ctacactaga agaacagtat ttggtatctg 7500
 cgctctgctg aagccagtta ctttcggaaa aagagttggt agctcttgat ccggcaaaca
 7560
 aaccaccgct ggtagcgggt ttttgttg caagcagcag attacgcgca gaaaaaaagg
 7620
 atctcaagaa gatccttga tctttctac ggggtctgac gctcagtga acgaaaactc 7680
 acgttaaggg attttggtca tgagattatc aaaaaggatc ttcacctaga tccttttaa 7740
 ttaaaaatga agttttaa caatctaaag tatatatgag taaacttggg ctgacagtta 7800
 ccaatgctta atcagtgagg cacctatctc agcgatctgt ctatttcgtt catccatagt 7860
 tgctgactc cccgtcgtgt agataactac gatacgggag ggcttaccat ctggccccag 7920
 tgctgcaatg ataccgcgag acccagctc accggctcca gatttatcag caataaacca
 7980
 gccagccgga agggccgagc gcagaagtgg tcctgcaact ttatccgcct ccatccagtc

8040

tattaattgt tgccggaag ctagagtaag tagttcgcca gttaatagtt tgcgcaacgt 8100
 tgttgccatt gctacaggca tcgtggtgtc acgctcgctg ttggtatgg cttcattcag 8160
 ctccggttcc caacgatcaa ggcgagttac atgatcccc atgttggtgca aaaaagcggg
 8220
 tagctccttc ggtcctccga tcgtgtgcag aagtaagttg gccgcagtgt taccactcat 8280
 gggtatggca gactgcata attctcttac tgtcatgccca tccgtaagat gcttttctgt 8340
 gactggtgag tactcaacca agtcattctg agaatagtgt atgcggcgac cgagttgctc 8400
 ttgcccggcg tcaatacggg ataataccgc gccacatagc agaactttaa aagtgtcat 8460
 cattgaaaaa cgttcttcgg ggcgaaaact ctcaaggatc ttaccgctgt tgagatccag 8520
 ttcatgttaa cccactcgtg caccgaactg atcttcagca tcttttactt tcaccagcgt 8580
 ttctgggtga gcaaaaacag gaaggcaaaa tgccgcaaaa aaggaataa gggcgacacg
 8640
 gaaatgttga atactcatalc tcttcctttt tcaatattat tgaagcattt atcaggggta 8700
 ttgtctcatg agcggataca tatttgaatg tatttagaaa aataaataaa taggggttcc 8760
 ggcacacatt ccccgaaaag tgccacctga cg 8792

REFERÊNCIAS

Air MA (1981), Sequence relationships among the hemagglutinin genes of 12 subtypes of influenza A virus. Proc Natl Acad Sci USA 78(12):7639-7643.

De Kruif J et al. (1995), Rapid selection of cell subpopulation-specific human monoclonal antibodies from a synthetic phage antibody library. Proc Natl Acad Sci USA 92:3938.

Ferguson et al., (2003), Nature 422:428-443.

Fouchier AM et al. (2005), Characterization of a novel influenza A virus hemagglutinin subtype (H16) obtained from black-headed gulls. J Virol 79(5):2814-2822.

The World Health Organization Global Influenza Program Surveillance Network (2005), Evolution of H5N1 Avian Influenza Viruses in Asia. Emerg Infect Dis 11:1515-1521.

REIVINDICAÇÕES

1. Anticorpo isolado capaz de se ligar especificamente a um epítopo na região principal da proteína hemaglutinina (HA) de vírus influenza A subtipos do grupo filogenético 1, e vírus influenza A subtipos do grupo filogenético 2, e capaz de neutralizar pelo menos pelo menos um ou mais subtipos do vírus influenza A grupo 1, selecionado do grupo que consiste em vírus influenza A que compreende HA do subtipo H1, H2, H5, H6, H8, H9 e H11, e pelo menos um ou mais subtipos do vírus influenza A grupo 2, selecionado do grupo que consiste em vírus influenza A que compreende HA do subtipo H3, H4, H7 e H10, caracterizado pelo fato de que o anticorpo também é capaz de se ligar especificamente à proteína hemaglutinina (HA) dos subtipos de vírus influenza B,

em que o anticorpo é selecionado do grupo que consiste em:

um anticorpo que compreende uma região CDR1 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 139, uma região CDR2 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 134, e uma região CDR3 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 145, e uma região CDR1 de cadeia leve de SEQ ID NO: 146, uma região CDR2 de cadeia leve de SEQ ID NO: 174, e uma região CDR3 de cadeia leve de SEQ ID NO: 147,

uma região CDR1 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 139, uma região CDR2 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 134, e uma região CDR3 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 145, e uma região CDR1 de cadeia leve de SEQ ID NO: 148, uma região CDR2 de cadeia leve de SEQ ID NO: 149, e uma região CDR3 de cadeia leve de SEQ ID NO: 150,

uma região CDR1 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 139, uma região CDR2 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 134, e uma região CDR3 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 145, e uma região

CDR1 de cadeia leve de SEQ ID NO: 142, uma região CDR2 de cadeia leve de SEQ ID NO: 143, e uma região CDR3 de cadeia leve de SEQ ID NO: 173,

um anticorpo que compreende uma região CDR1 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 139, uma região CDR2 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 134, e uma região CDR3 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 152, e uma região CDR1 de cadeia leve de SEQ ID NO: 148, uma região CDR2 de cadeia leve de SEQ ID NO: 149, e uma região CDR3 de cadeia leve de SEQ ID NO: 150,

uma região CDR1 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 139, uma região CDR2 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 134, e uma região CDR3 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 152, e uma região CDR1 de cadeia leve de SEQ ID NO: 156, uma região CDR2 de cadeia leve de SEQ ID NO: 157, e uma região CDR3 de cadeia leve de SEQ ID NO: 158,

uma região CDR1 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 139, uma região CDR2 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 134, e uma região CDR3 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 152, e uma região CDR1 de cadeia leve de SEQ ID NO: 171, uma região CDR2 de cadeia leve de SEQ ID NO: 164, e uma região CDR3 de cadeia leve de SEQ ID NO: 172, e

uma região CDR1 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 139, uma região CDR2 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 134, e uma região CDR3 de cadeia pesada de SEQ ID NO: 152, e uma região CDR1 de cadeia leve de SEQ ID NO: 142, uma região CDR2 de cadeia leve de SEQ ID NO: 143, e uma região CDR3 de cadeia leve de SEQ ID NO: 144.

2. Anticorpo, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o anticorpo não apresenta nenhuma atividade de inibição de hemaglutinação.

3. Anticorpo, de acordo com a reivindicação 1 ou 2, caracterizado pelo fato de que é para uso como um medicamento.

4. Anticorpo, de acordo com a reivindicação 3, caracterizado pelo fato de que é para o tratamento diagnóstico, terapêutico e/ou profilático da infecção por influenza.

5. Composição farmacêutica, caracterizada pelo fato de que compreende um anticorpo, como definido na reivindicação 1 ou 2, , e um excipiente farmaceuticamente aceitável.

.

FIG. 1.

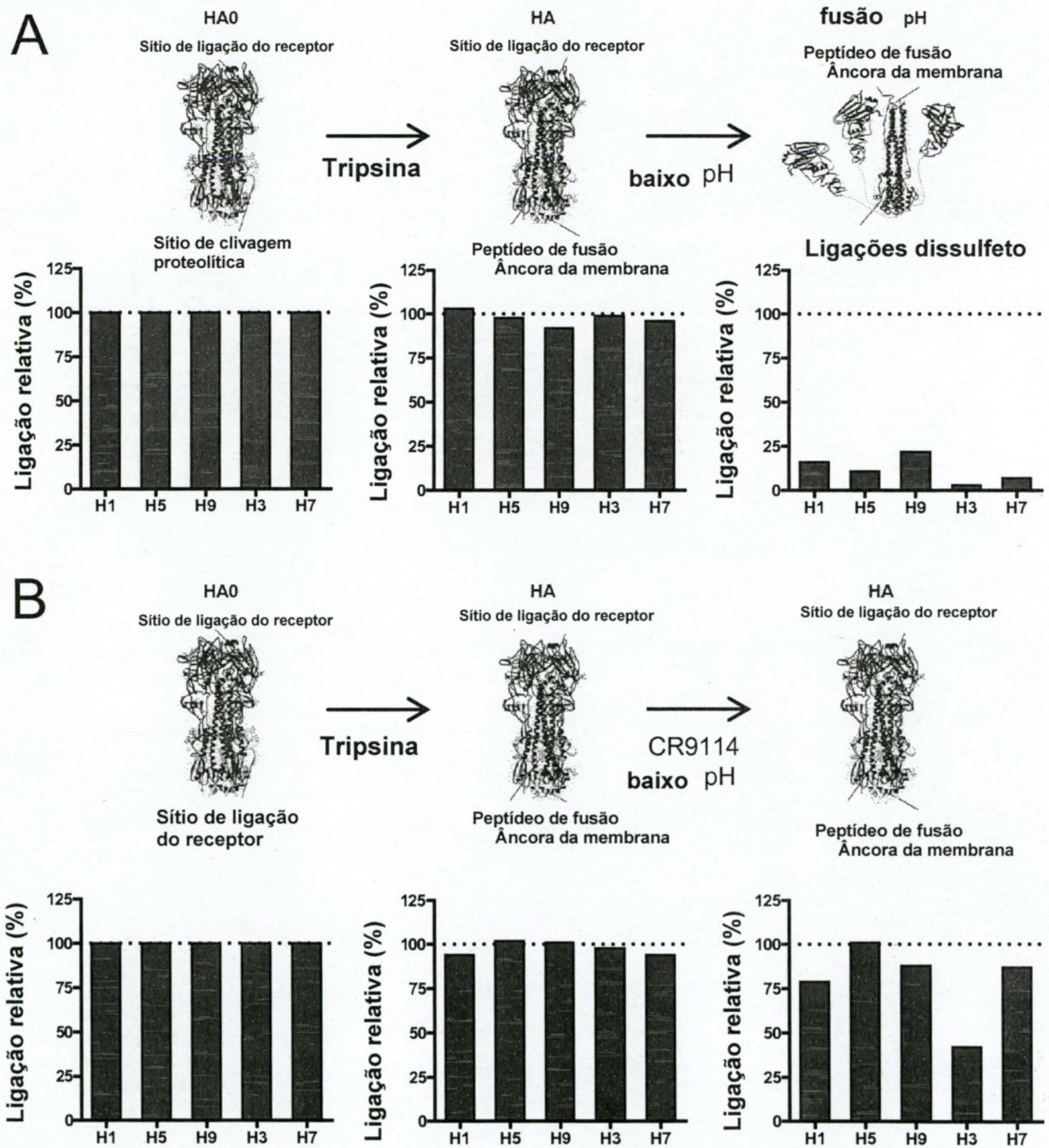


FIG. 2

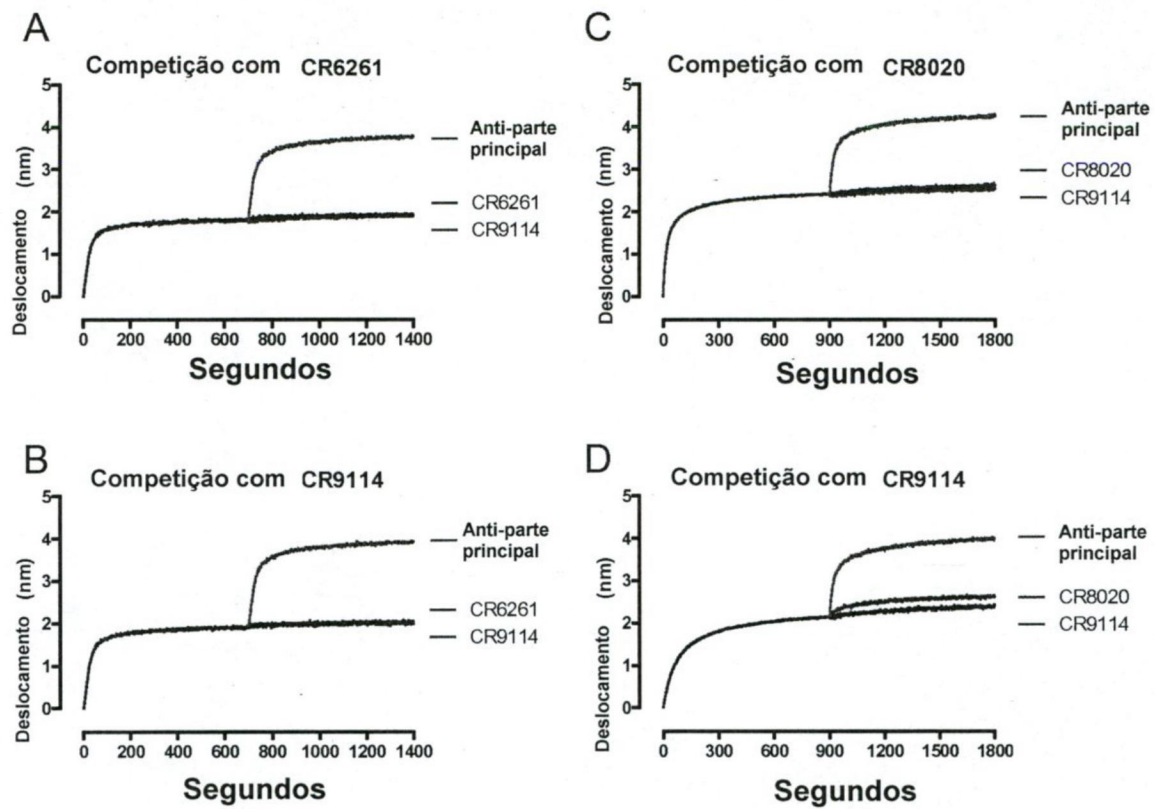


FIG. 3

