



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

(11) BR 112018009717-9 B1



(22) Data do Depósito: 11/11/2016

(45) Data de Concessão: 14/12/2021

(54) Título: POLINUCLEOTÍDEO, VETOR DE VÍRUS ADENO-ASSOCIADO, PARTÍCULA DE UM VÍRUS ADENO-ASSOCIADO, MÉTODOS PARA PRODUZIR UMA PARTÍCULA DE VÍRUS ADENO-ASSOCIADO E PARA TRANSDUZIR UMA CÉLULA HOSPEDEIRA, E, USO DE UMA PARTÍCULA DE VÍRUS ADENO-ASSOCIADO

(51) Int.Cl.: C07K 14/755; A61K 48/00; C12N 15/86.

(30) Prioridade Unionista: 13/11/2015 US 62/255317.

(73) Titular(es): TAKEDA PHARMACEUTICAL COMPANY LIMITED.

(72) Inventor(es): FALKO-GÜNTER FALKNER; FRANZISKA HORLING; JOHANNES LENGELER; HANSPETER ROTTENSTEINER; FRIEDRICH SCHEIFLINGER.

(86) Pedido PCT: PCT US2016061684 de 11/11/2016

(87) Publicação PCT: WO 2017/083762 de 18/05/2017

(85) Data do Início da Fase Nacional: 14/05/2018

(57) Resumo: A presente divulgação proporciona, entre outros aspectos, polinucleotídeos alterados por códons que codificam variantes do Fator VIII para expressão em células de mamífero. Em algumas modalidades, a divulgação também proporciona vetores e métodos de terapia gênica de mamíferos para tratar a hemofilia A.

POLINUCLEOTÍDEO, VETOR DE VÍRUS ADENO-ASSOCIADO, PARTÍCULA DE UM VÍRUS ADENO-ASSOCIADO, MÉTODOS PARA PRODUZIR UMA PARTÍCULA DE VÍRUS ADENO-ASSOCIADO E PARA TRANSDUZIR UMA CÉLULA HOSPEDEIRA, E, USO DE UMA PARTÍCULA DE VÍRUS ADENO-ASSOCIADO

REFERÊNCIA CRUZADA A PEDIDOS RELACIONADOS

[001] Este pedido reivindica prioridade para o Pedido de Patente Provisório dos Estados Unidos nº 62/255.317, depositado em 13 de novembro de 2015, cujo conteúdo é incorporado neste documento por referência em sua totalidade para todos as finalidades.

LISTAGEM DE SEQUÊNCIAS

[002] O presente pedido contém uma Listagem de Sequência, que foi submetida eletronicamente em formato ASCII e está incorporada neste documento a título de referência em sua totalidade. A cópia ASCII, criada em 9 de novembro de 2016, é denominada 008073_5107_WO_Sequence_Listing.txt e tem tamanho de 353.479 bytes.

FUNDAMENTOS DA DIVULGAÇÃO

[003] A coagulação do sangue procede através de uma via biológica complexa e dinâmica de reações bioquímicas interdependentes, referidas como a cascata de coagulação. O fator de coagulação VIII (FVIII) é um componente chave na cascata. O Fator VIII é recrutado para locais de sangramento e forma um complexo Xase com o Fator IX ativado (FIXa) e o Fator X (FX). O complexo Xase ativa o FX, que por sua vez ativa a protrombina para a trombina, que então ativa outros componentes na cascata de coagulação para gerar um coágulo estável (revisto em Saenko *et al. Trends Cardiovasc. Med.*, 9:185-192 (1999); Lenting *et al., Blood*, 92:3983-3996 (1998)).

[004] A hemofilia A é um distúrbio de sangramento congênito ligado

ao cromossomo X caracterizado por uma deficiência na atividade do fator VIII. Diminuição da atividade do Fator VIII inibe um feedback positivo na cascata de coagulação. Isso causa coagulação incompleta, que se manifesta como episódios de sangramento com duração aumentada, hematomas extensos, sangramento oral e nasal espontâneo, rigidez articular e dor crônica e, possivelmente, sangramento interno e anemia em casos graves (*Zhang et al., Clinic. Rev. Allerg. Immunol.*37: 114-124 (2009)).

[005] Convencionalmente, a hemofilia A é tratada pela terapia de reposição do Fator VIII, que consiste na administração da proteína do Fator VIII (por exemplo, Fator VIII derivado do plasma ou recombinante) a um indivíduo com hemofilia A. O Fator VIII é administrado profilaticamente para prevenir ou reduzir a frequência de episódios de sangramento, em resposta a um episódio de sangramento agudo, e/ou perioperatório para controlar o sangramento durante a cirurgia. No entanto, existem várias características indesejáveis da terapia de reposição do Fator VIII.

[006] Primeiro, a terapia de reposição do Fator VIII é usada para tratar ou tratar a hemofilia A, mas não cura a deficiência subjacente do Fator VIII. Por causa disso, indivíduos com hemofilia A necessitam de terapia de reposição com Fator VIII durante toda a vida. O tratamento contínuo é dispendioso e exige que o indivíduo mantenha uma adesão estrita, já que perder apenas algumas doses profiláticas pode ter sérias consequências para os indivíduos com hemofilia A.

[007] Em segundo lugar, como o Fator VIII tem uma meia-vida relativamente curta in vivo, a terapia de reposição com fator VIII profilático convencional requer administração a cada segundo ou terceiro dia. Isso sobrecarrega o indivíduo para manter a conformidade durante toda a vida. Embora os medicamentos de Fator VIII de ação prolongada de terceira geração possam reduzir a frequência de administração, a terapia de reposição profilática de FVIII com essas drogas ainda requer administração mensal,

semanal ou mais frequente na perpetuidade. Por exemplo, o tratamento profilático com ELOCTATE™ [Fator Anti-hemofílico (Recombinante), Fc Proteína de Fusão] requer a administração a cada três a cinco dias (ELOCTATE™ Informações sobre Prescrição, Biogen Idec Inc., (2015)). Além disso, os efeitos a longo prazo de produtos biológicos quimicamente modificados (por exemplo, polipeptídeos peguilados) ainda não são totalmente compreendidos.

[008] Terceiro, entre 15% e 30% de todos os indivíduos que recebem terapia de reposição com Fator VIII formam anticorpos inibidores anti-Fator VIII, tornando a terapia ineficaz. A terapia de bypass do Fator VIII (por exemplo, administração de concentrados de complexos de protrombina derivados do plasma ou recombinantemente produzidos) pode ser usada para tratar a hemofilia em indivíduos que formam anticorpos inibidores. No entanto, a terapia de bypass do Fator VIII é menos eficaz do que a terapêutica de substituição com Fator VIII (Mannucci PM, J Thromb Haemost., 1 (7): 1349-55 (2003)) e pode estar associado a um aumento do risco de complicações cardiovasculares (Luu e Ewenstein, Haemophilia, 10 Suppl. 2: 10-16 (2004)).

[009] A terapia genética somática é muito promissora para o tratamento da hemofilia A porque remediaria a atividade funcional subjacente do fator VIII de subexpressão (por exemplo, devido a mutações sem sentido ou sem sentido), em vez de fornecer uma dose única de atividade do fator VIII ao indivíduo. Devido a essa diferença no mecanismo de ação, em comparação com a terapia de reposição do fator VIII, a administração única de um vetor de terapia gênica do Fator VIII pode fornecer um indivíduo com o Fator VIII por vários anos, reduzindo o custo do tratamento e eliminando a necessidade de continuação da adesão do paciente.

[0010] A terapia gênica do Fator de Coagulação IX (FIX) tem sido usada com eficácia no tratamento de indivíduos com hemofilia B, uma

condição relacionada à coagulação sanguínea caracterizada pela diminuição da atividade do Fator IX (Manno CS, et al., Nat Med., 12 (3): 342-47 (2006)). No entanto, a terapia gênica do Fator VIII apresenta vários desafios únicos. Por exemplo, o polipeptídeo de Fator VIII de tipo selvagem completo (2351 aminoácidos; número de acesso UniProt P00451) é cinco vezes maior do que o polipeptídeo de Fator IX de tipo selvagem de comprimento total (461 aminoácidos; número de acesso UniProt P00740). Como tal, a sequência de codificação do Fator VIII de tipo selvagem é de 7053 pares de bases, que é demasiado grande para ser embalada em vetores convencionais de terapia gênica com AAV. Além disso, a expressão recombinante relatada de variantes do Fator VIII com eliminação do domínio B (BDD-FVIII) tem sido fraca. Como tal, vários grupos tentaram alterar o uso de códons dos construtos de BDD-FVIII, com sucesso limitado.

BREVE RESUMO DA DIVULGAÇÃO

[0011] Por conseguinte, existe uma necessidade de variantes do Fator VIII cujas sequências de codificação são mais eficientemente empacotadas e distribuídos através de vetores de terapia gênica. Existe também a necessidade de ácidos nucleicos sintéticos, alterados por códon, que expressem o Fator VIII mais eficientemente. Tais variantes do Fator VIII e ácidos nucleicos alterados pelos códons permitem um tratamento melhorado das deficiências do Fator VIII (por exemplo, hemofilia A). As deficiências acima e outros problemas associados com o tratamento de deficiências do Fator VIII (por exemplo, hemofilia A) são reduzidos ou eliminados pelas variantes descritas do Fator VIII alteradas por códon.

[0012] De acordo com algumas modalidades, a presente divulgação fornece ácidos nucleicos que codificam variantes do Fator VIII que têm identidade de sequências elevada com as sequências alteradas com códons divulgados da cadeia pesada do Fator VIII (por exemplo, CS01-HC-NA, CS04-HC-NA ou CS23-HC-NA) e cadeia leve (CS01-LC-NA, CS04-LC-NA

ou CS23-LC-NA). Em algumas modalidades, estes ácidos nucleicos incluem ainda uma sequência que codifica uma sequência ligante que substitui o domínio B nativo do Fator VIII (por exemplo, sequências ligantes compreendendo um sítio de clivagem da furina), entre as sequências que codificam as cadeias pesada e leve do Fator VIII.

[0013] Num aspecto, a divulgação fornece um polinucleotídeo incluindo uma sequência nucleotídica que codifica um polipeptídeo de Fator VIII. O polipeptídeo de Fator VIII inclui uma cadeia leve, uma cadeia pesada e um ligante polipeptídico que une o terminal C da cadeia pesada ao terminal N da cadeia leve. A cadeia pesada do polipeptídeo de Fator VIII é codificada por uma primeira sequência nucleotídica possuindo pelo menos 95% de identidade com CS04-HC-NA (SEQ ID NO: 3). A cadeia leve do polipeptídeo do Fator FVIII é codificada por uma segunda sequência nucleotídica possuindo pelo menos 95% de identidade com CS04-LC-NA (SEQ ID NO: 4). O ligante polipeptídico compreende um sítio de clivagem de furina.

[0014] Numa modalidade dos polinucleotídeos descritos acima, o ligante polipeptídico é codificado por uma terceira sequência nucleotídica possuindo pelo menos 95% de identidade com BDLO04 (SEQ ID NO: 6).

[0015] Num aspecto, a divulgação fornece um polinucleotídeo incluindo uma sequência nucleotídica que codifica um polipeptídeo de Fator VIII. O polipeptídeo de Fator VIII inclui uma cadeia leve, uma cadeia pesada e um ligante polipeptídico que une o terminal C da cadeia pesada ao terminal N da cadeia leve. A cadeia pesada do polipeptídeo de Fator VIII é codificada por uma primeira sequência nucleotídica possuindo pelo menos 95% de identidade com CS01-HC-NA (SEQ ID NO: 24). A cadeia leve do polipeptídeo do Fator FVIII é codificada por uma segunda sequência nucleotídica possuindo pelo menos 95% de identidade com CS01-LC-NA (SEQ ID NO: 25). O ligante polipeptídico compreende um sítio de clivagem de furina.

[0016] Numa modalidade dos polinucleotídeos descritos acima, o ligante polipeptídico é codificado por uma terceira sequência nucleotídica possuindo pelo menos 95% de identidade com BDLO01 (SEQ ID NO: 5).

[0017] Num aspecto, a divulgação fornece um polinucleotídeo incluindo uma sequência nucleotídica que codifica um polipeptídeo de Fator VIII. O polipeptídeo de Fator VIII inclui uma cadeia leve, uma cadeia pesada e um ligante polipeptídico que une o terminal C da cadeia pesada ao terminal N da cadeia leve. A cadeia pesada do polipeptídeo de Fator VIII é codificada por uma primeira sequência nucleotídica possuindo pelo menos 95% de identidade com CS23-HC-NA (SEQ ID NO: 22). A cadeia leve do polipeptídeo do Fator FVIII é codificada por uma segunda sequência nucleotídica possuindo pelo menos 95% de identidade com CS23-LC-NA (SEQ ID NO: 23). O ligante polipeptídico compreende um sítio de clivagem de furina.

[0018] Numa modalidade dos polinucleotídeos descritos acima, o ligante polipeptídico é codificado por uma terceira sequência nucleotídica possuindo pelo menos 95% de identidade com BDLO23 (SEQ ID NO: 7).

[0019] Numa modalidade dos polinucleotídeos descritos acima, a primeira sequência nucleotídica codificando a cadeia pesada do polipeptídeo de Fator VIII tem pelo menos 96% de identidade com a respectiva sequência da cadeia pesada (por exemplo, CS04-HC-NA (SEQ ID NO: 3), CS01-HC-NA (SEQ ID NO: 24), ou CS23-HC-NA (SEQ ID NO: 22)), e a segunda sequência nucleotídica que codifica a cadeia leve do polipeptídeo Fator FVIII tem pelo menos 96% de identidade com a respectiva sequência da cadeia leve (por exemplo, CS04-LC-NA (SEQ ID NO 4), CS01-LC-NA (SEQ ID NO 25) ou CS23-LC-NA (SEQ ID NO 23)).

[0020] Numa modalidade dos polinucleotídeos descritos acima, a primeira sequência nucleotídica codificando a cadeia pesada do polipeptídeo de Fator VIII tem pelo menos 97% de identidade com a respectiva sequência

da cadeia pesada (por exemplo, CS04-HC-NA (SEQ ID NO: 3), CS01-HC-NA (SEQ ID NO: 24), ou CS23-HC-NA (SEQ ID NO: 22)), e a segunda sequência nucleotídica que codifica a cadeia leve do polipeptídeo Fator FVIII tem pelo menos 97% de identidade com a respectiva sequência da cadeia leve (por exemplo, CS04-LC-NA (SEQ ID NO 4), CS01-LC-NA (SEQ ID NO 25) ou CS23-LC-NA (SEQ ID NO 23)).

[0021] Numa modalidade dos polinucleotídeos descritos acima, a primeira sequência nucleotídica codificando a cadeia pesada do polipeptídeo de Fator VIII tem pelo menos 98% de identidade com a respectiva sequência da cadeia pesada (por exemplo, CS04-HC-NA (SEQ ID NO: 3), CS01-HC-NA (SEQ ID NO: 24), ou CS23-HC-NA (SEQ ID NO: 22)), e a segunda sequência nucleotídica que codifica a cadeia leve do polipeptídeo Fator FVIII tem pelo menos 98% de identidade com a respectiva sequência da cadeia leve (por exemplo, CS04-LC-NA (SEQ ID NO 4), CS01-LC-NA (SEQ ID NO 25) ou CS23-LC-NA (SEQ ID NO 23)).

[0022] Numa modalidade dos polinucleotídeos descritos acima, a primeira sequência nucleotídica codificando a cadeia pesada do polipeptídeo de Fator VIII tem pelo menos 99% de identidade com a respectiva sequência da cadeia pesada (por exemplo, CS04-HC-NA (SEQ ID NO: 3), CS01-HC-NA (SEQ ID NO: 24), ou CS23-HC-NA (SEQ ID NO: 22)), e a segunda sequência nucleotídica que codifica a cadeia leve do polipeptídeo Fator FVIII tem pelo menos 99% de identidade com a respectiva sequência da cadeia leve (por exemplo, CS04-LC-NA (SEQ ID NO 4), CS01-LC-NA (SEQ ID NO 25) ou CS23-LC-NA (SEQ ID NO 23)).

[0023] Numa modalidade dos polinucleotídeos descritos acima, a primeira sequência nucleotídica codificando a cadeia pesada do polipeptídeo de Fator VIII tem pelo menos 99,5% de identidade com a respectiva sequência da cadeia pesada (por exemplo, CS04-HC-NA (SEQ ID NO: 3), CS01-HC-NA (SEQ ID NO: 24), ou CS23-HC-NA (SEQ ID NO: 22)), e a

segunda sequência nucleotídica que codifica a cadeia leve do polipeptídeo Fator FVIII tem pelo menos 99,5% de identidade com a respectiva sequência da cadeia leve (por exemplo, CS04-LC-NA (SEQ ID NO 4), CS01-LC-NA (SEQ ID NO 25) ou CS23-LC-NA (SEQ ID NO 23)).

[0024] Numa modalidade dos polinucleotídeos descritos acima, a primeira sequência nucleotídica codificando a cadeia pesada do polipeptídeo de Fator VIII tem pelo menos 99,9% de identidade com a respectiva sequência da cadeia pesada (por exemplo, CS04-HC-NA (SEQ ID NO: 3), CS01-HC-NA (SEQ ID NO: 24), ou CS23-HC-NA (SEQ ID NO: 22)), e a segunda sequência nucleotídica que codifica a cadeia leve do polipeptídeo Fator FVIII tem pelo menos 99,9% de identidade com a respectiva sequência da cadeia leve (por exemplo, CS04-LC-NA (SEQ ID NO 4), CS01-LC-NA (SEQ ID NO 25) ou CS23-LC-NA (SEQ ID NO 23)).

[0025] Numa modalidade dos polinucleotídeos descritos acima, a primeira sequência nucleotídica codificando a cadeia pesada do polipeptídeo de Fator VIII é CS04-HC-NA (SEQ ID NO 3) e a segunda sequência nucleotídica codificando a cadeia leve do polipeptídeo Fator FVIII é CS04-LC-NA (SEQ ID NO: 4).

[0026] Numa modalidade dos polinucleotídeos acima descritos, a primeira sequência nucleotídica que codifica a cadeia pesada do polipeptídeo de Fator VIII é CS01-HC-NA (SEQ ID NO: 24) e a segunda sequência nucleotídica que codifica a cadeia leve do polipeptídeo Fator FVIII é CS01-LC-NA (SEQ ID NO: 25).

[0027] Numa modalidade dos polinucleotídeos descritos acima, a primeira sequência nucleotídica codificando a cadeia pesada do polipeptídeo de Fator VIII é CS23-HC-NA (SEQ ID NO: 22) e a segunda sequência nucleotídica codificando a cadeia leve do polipeptídeo Fator FVIII é CS23-LC-NA (SEQ ID NO: 23).

[0028] Num aspecto, a divulgação fornece um polinucleotídeo

compreendendo uma sequência nucleotídica possuindo pelo menos 95% de identidade com CS04-FL-NA, em que o polinucleotídeo codifica um polipeptídeo de Fator VIII.

[0029] Num aspecto, a divulgação fornece um polinucleotídeo compreendendo uma sequência nucleotídica possuindo pelo menos 95% de identidade com CS01-FL-NA, em que o polinucleotídeo codifica um polipeptídeo de Fator VIII.

[0030] Num aspecto, a divulgação fornece um polinucleotídeo compreendendo uma sequência nucleotídica possuindo pelo menos 95% de identidade com CS23-FL-NA, em que o polinucleotídeo codifica um polipeptídeo de Fator VIII.

[0031] Numa modalidade dos polinucleotídeos descritos acima, a sequência nucleotídica tem pelo menos 96% de identidade com a respectiva sequência polinucleotídica de tamanho total (por exemplo, CS04-FL-NA (SEQ ID NO: 1), CS01-FL-NA (SEQ ID NO: 13), ou CS23-FL-NA (SEQ ID NO: 20)).

[0032] Numa modalidade dos polinucleotídeos descritos acima, a sequência nucleotídica tem pelo menos 97% de identidade com a respectiva sequência polinucleotídica de tamanho total (por exemplo, CS04-FL-NA (SEQ ID NO: 1), CS01-FL-NA (SEQ ID NO: 13), ou CS23-FL-NA (SEQ ID NO: 20)).

[0033] Numa modalidade dos polinucleotídeos descritos acima, a sequência nucleotídica tem pelo menos 98% de identidade com a respectiva sequência polinucleotídica de tamanho total (por exemplo, CS04-FL-NA (SEQ ID NO: 1), CS01-FL-NA (SEQ ID NO: 13), ou CS23-FL-NA (SEQ ID NO: 20)).

[0034] Numa modalidade dos polinucleotídeos descritos acima, a sequência nucleotídica tem pelo menos 99% de identidade com a respectiva sequência polinucleotídica de tamanho total (por exemplo, CS04-FL-NA

(SEQ ID NO: 1), CS01-FL-NA (SEQ ID NO: 13), ou CS23-FL-NA (SEQ ID NO: 20)).

[0035] Numa modalidade dos polinucleotídeos descritos acima, a sequência nucleotídica tem pelo menos 99,5% de identidade com a respectiva sequência polinucleotídica de tamanho total (por exemplo, CS04-FL-NA (SEQ ID NO: 1), CS01-FL-NA (SEQ ID NO: 13), ou CS23-FL-NA (SEQ ID NO: 20)).

[0036] Numa modalidade dos polinucleotídeos descritos acima, a sequência nucleotídica tem pelo menos 99,9% de identidade com a respectiva sequência polinucleotídica de tamanho total (por exemplo, CS04-FL-NA (SEQ ID NO: 1), CS01-FL-NA (SEQ ID NO: 13), ou CS23-FL-NA (SEQ ID NO: 20)).

[0037] Numa modalidade dos polinucleotídeos acima descritos, a sequência nucleotídica é CS04-FL-NA (SEQ ID NO: 1).

[0038] Numa modalidade dos polinucleotídeos acima descritos, a sequência nucleotídica é CS01-FL-NA (SEQ ID NO: 13).

[0039] Numa modalidade dos polinucleotídeos acima descritos, a sequência nucleotídica é CS23-FL-NA (SEQ ID NO: 20).

[0040] Numa modalidade dos polinucleotídeos acima descritos, o polinucleotídeo codifica um polipeptídeo de Fator VIII compreendendo uma sequência de aminoácidos possuindo pelo menos 95% de identidade com CS04-FL-AA (SEQ ID NO: 2).

[0041] Numa modalidade dos polinucleotídeos acima descritos, o polinucleotídeo codifica um polipeptídeo de Fator VIII compreendendo uma sequência de aminoácidos possuindo pelo menos 96% de identidade com CS04-FL-AA (SEQ ID NO: 2).

[0042] Numa modalidade dos polinucleotídeos acima descritos, o polinucleotídeo codifica um polipeptídeo de Fator VIII compreendendo uma sequência de aminoácidos possuindo pelo menos 97% de identidade com

CS04-FL-AA (SEQ ID NO: 2).

[0043] Numa modalidade dos polinucleotídeos acima descritos, o polinucleotídeo codifica um polipeptídeo de Fator VIII compreendendo uma sequência de aminoácidos possuindo pelo menos 98% de identidade com CS04-FL-AA (SEQ ID NO: 2).

[0044] Numa modalidade dos polinucleotídeos acima descritos, o polinucleotídeo codifica um polipeptídeo de Fator VIII compreendendo uma sequência de aminoácidos possuindo pelo menos 99% de identidade com CS04-FL-AA (SEQ ID NO: 2).

[0045] Numa modalidade dos polinucleotídeos acima descritos, o polinucleotídeo codifica um polipeptídeo de Fator VIII compreendendo uma sequência de aminoácidos possuindo pelo menos 99,5% de identidade com CS04-FL-AA (SEQ ID NO: 2).

[0046] Numa modalidade dos polinucleotídeos acima descritos, o polinucleotídeo codifica um polipeptídeo de Fator VIII compreendendo uma sequência de aminoácidos possuindo pelo menos 99,9% de identidade com CS04-FL-AA (SEQ ID NO: 2).

[0047] Numa modalidade dos polinucleotídeos acima descritos, o polinucleotídeo codifica um polipeptídeo de Fator VIII compreendendo a sequência de aminoácidos de CS04-FL-AA (SEQ ID NO: 2).

[0048] Num aspecto, a divulgação fornece um polinucleotídeo compreendendo uma sequência nucleotídica possuindo pelo menos 95% de identidade a CS04-SC1-NA (SEQ ID NO: 9), em que o polinucleotídeo codifica um polipeptídeo de Fator VIII de cadeia simples.

[0049] Num aspecto, a divulgação fornece um polinucleotídeo compreendendo uma sequência nucleotídica possuindo pelo menos 95% de identidade com CS04-SC2-NA (SEQ ID NO: 11), em que o polinucleotídeo codifica um polipeptídeo de Fator VIII de cadeia simples.

[0050] Num aspecto, a divulgação fornece um polinucleotídeo

compreendendo uma sequência nucleotídica possuindo pelo menos 95% de identidade a CS01-SC1-NA (SEQ ID NO: 26), em que o polinucleotídeo codifica um polipeptídeo de Fator VIII de cadeia simples.

[0051] Num aspecto, a divulgação fornece um polinucleotídeo compreendendo uma sequência nucleotídica possuindo pelo menos 95% de identidade com CS01-SC2-NA (SEQ ID NO: 27), em que o polinucleotídeo codifica um polipeptídeo de Fator VIII de cadeia simples.

[0052] Num aspecto, a divulgação fornece um polinucleotídeo compreendendo uma sequência nucleotídica possuindo pelo menos 95% de identidade a CS23-SC1-NA (SEQ ID NO: 28), em que o polinucleotídeo codifica um polipeptídeo de Fator VIII de cadeia simples.

[0053] Num aspecto, a divulgação fornece um polinucleotídeo compreendendo uma sequência nucleotídica possuindo pelo menos 95% de identidade com CS23-SC2-NA (SEQ ID NO: 29), em que o polinucleotídeo codifica um polipeptídeo de Fator VIII de cadeia simples.

[0054] Numa modalidade dos polinucleotídeos descritos acima, a sequência nucleotídica tem pelo menos 96% de identidade com a respectiva sequência polinucleotídica de comprimento completo (por exemplo, CS04-SC1-NA (SEQ ID NO: 9), CS04-SC2-NA (SEQ ID NO: 11), CS01-SC1-NA (SEQ ID NO: 26), CS01-SC2-NA (SEQ ID NO: 27), CS23-SC1-NA (SEQ ID NO: 28) ou CS23-SC2-NA (SEQ ID NO: 29)).

[0055] Numa modalidade dos polinucleotídeos descritos acima, a sequência nucleotídica tem pelo menos 97% de identidade com a respectiva sequência polinucleotídica de comprimento completo (por exemplo, CS04-SC1-NA (SEQ ID NO: 9), CS04-SC2-NA (SEQ ID NO: 11), CS01-SC1-NA (SEQ ID NO: 26), CS01-SC2-NA (SEQ ID NO: 27), CS23-SC1-NA (SEQ ID NO: 28) ou CS23-SC2-NA (SEQ ID NO: 29)).

[0056] Numa modalidade dos polinucleotídeos descritos acima, a sequência nucleotídica tem pelo menos 98% de identidade com o respectivo

polinucleotídeo de comprimento completo (por exemplo, CS04-SC1-NA (SEQ ID NO: 9), CS04-SC2-NA (SEQ ID NO: 11), CS01-SC1-NA (SEQ ID NO: 26), CS01-SC2-NA (SEQ ID NO: 27), CS23-SC1-NA (SEQ ID NO: 28) ou CS23-SC2-NA (SEQ ID NO: 29)).

[0057] Numa modalidade dos polinucleotídeos descritos acima, a sequência nucleotídica tem pelo menos 99% de identidade com a respectiva sequência polinucleotídica de comprimento completo (por exemplo, CS04-SC1-NA (SEQ ID NO: 9), CS04-SC2-NA (SEQ ID NO: 11), CS01-SC1-NA (SEQ ID NO: 26), CS01-SC2-NA (SEQ ID NO: 27), CS23-SC1-NA (SEQ ID NO: 28) ou CS23-SC2-NA (SEQ ID NO: 29)).

[0058] Numa modalidade dos polinucleotídeos descritos acima, a sequência nucleotídica tem pelo menos 99,5% de identidade com a respectiva sequência polinucleotídica de comprimento completo (por exemplo, CS04-SC1-NA (SEQ ID NO: 9), CS04-SC2-NA (SEQ ID NO: 11), CS01-SC1-NA (SEQ ID NO: 26), CS01-SC2-NA (SEQ ID NO: 27), CS23-SC1-NA (SEQ ID NO: 28) ou CS23-SC2-NA (SEQ ID NO: 29)).

[0059] Numa modalidade dos polinucleotídeos descritos acima, a sequência nucleotídica tem pelo menos 99,9% de identidade com a respectiva sequência polinucleotídica de comprimento completo (por exemplo, CS04-SC1-NA (SEQ ID NO: 9), CS04-SC2-NA (SEQ ID NO: 11), CS01-SC1-NA (SEQ ID NO: 26), CS01-SC2-NA (SEQ ID NO: 27), CS23-SC1-NA (SEQ ID NO: 28) ou CS23-SC2-NA (SEQ ID NO: 29)).

[0060] Numa modalidade dos polinucleotídeos acima descritos, a sequência nucleotídica é CS04-SC1-NA (SEQ ID NO: 9).

[0061] Numa modalidade dos polinucleotídeos acima descritos, a sequência nucleotídica é CS04-SC2-NA (SEQ ID NO: 11).

[0062] Numa modalidade dos polinucleotídeos acima descritos, a sequência nucleotídica é CS01-SC1-NA (SEQ ID NO: 26).

[0063] Numa modalidade dos polinucleotídeos acima descritos, a

sequência nucleotídica é CS01-SC2-NA (SEQ ID NO: 27).

[0064] Numa modalidade dos polinucleotídeos acima descritos, a sequência nucleotídica é CS23-SC1-NA (SEQ ID NO: 28).

[0065] Numa modalidade dos polinucleotídeos acima descritos, a sequência nucleotídica é CS23-SC2-NA (SEQ ID NO: 29).

[0066] Numa modalidade dos polinucleotídeos descritos acima, a sequência nucleotídica tem pelo menos 95% de identidade com uma sequência selecionada do grupo que consiste em CS01-FL-NA, CS01-HC-NA, CS01-LC-NA, CS04-FL-NA, CS04-HC-NA, CS04-LC-NA, CS23-FL-NA, CS23-HC-NA, CS23-LC-NA, CS01m1-FL-NA, CS01m2-FL-NA, CS01m3-FL-NA, CS01m4-FL-NA, CS01m12-FL-NA, CS01m13-FL-NA, CS01m23-FL-NA, CS01m24-FL-NA, CS01m34-FL-NA, CS01m123-FL-NA, CS01m234-FL-NA, CS04m1-FL-NA, CS04m2-FL-NA, CS04m3-FL-NA, CS04m4-FL-NA, CS04m12-FL-NA, CS04m13-FL-NA, CS04m23-FL-NA, CS04m24-FL-NA, CS04m34-FL-NA, CS04m123-FL-NA, CS04m234-FL-NA, CS23m1-FL-NA, CS23m2-FL-NA, CS23m3-FL-NA, CS23m4-FL-NA, CS23m12-FL-NA, CS23m13-FL-NA, CS23m23-FL-NA, CS23m24-FL-NA, CS23m34-FL-NA, CS23m123-FL-NA, CS23m234-FL-NA, CS01-SC1-NA, CS04-SC1-NA, CS23-SC1-NA, CS01m1-SC1-NA, CS01m2-SC1-NA, CS01m3-SC1-NA, CS01m4-SC1-NA, CS01m12-SC1-NA, CS01m13-SC1-NA, CS01m23-SC1-NA, CS01m24-SC1-NA, CS01m34-SC1-NA, CS01m123-SC1-NA, CS01m234-SC1-NA, CS04m1-SC1-NA, CS04m2-SC1-NA, CS04m3-SC1-NA, CS04m4-SC1-NA, CS04m12-SC1-NA, CS04m13-SC1-NA, CS04m23-SC1-NA, CS04m24-SC1-NA, CS04m34-SC1-NA, CS04m123-SC1-NA, CS04m234-SC1-NA, CS23m1-SC1-NA, CS23m2-SC1-NA, CS23m3-SC1-NA, CS23m4-SC1-NA, CS23m12-SC1-NA, CS23m13-SC1-NA, CS23m23-SC1-NA, CS23m24-SC1-NA, CS23m34-SC1-NA, CS23m123-SC1-NA, CS23m234-SC1-NA, CS01-SC2-NA, CS04-SC2-NA, CS23-SC2-NA, CS01m1-SC2-NA, CS01m2-SC2-NA, CS01m3-

SC2-NA, CS01m4-SC2-NA, CS01m12-SC2-NA, CS01m13-SC2-NA, CS01m23-SC2-NA, CS01m24-SC2-NA, CS01m34-SC2-NA, CS01m123-SC2-NA, CS01m234-SC2-NA, CS04m1-SC2-NA, CS04m2-SC2-NA, CS04m3-SC2-NA, CS04m4-SC2-NA, CS04m12-SC2-NA, CS04m13-SC2-NA, CS04m23-SC2-NA, CS04m24-SC2-NA, CS04m34-SC2-NA, CS04m123-SC2-NA, CS04m234-SC2-NA, CS23m1-SC2-NA, CS23m2-SC2-NA, CS23m3-SC2-NA, CS23m4-SC2-NA, CS23m12-SC2-NA, CS23m13-SC2-NA, CS23m23-SC2-NA, CS23m24-SC2-NA, CS23m34-SC2-NA, CS23m123-SC2-NA e CS23m234-SC2-NA.

[0067] Numa modalidade dos polinucleotídeos descritos acima, a sequência nucleotídica tem pelo menos 96% de identidade com uma sequência selecionada do grupo que consiste em CS01-FL-NA, CS01-HC-NA, CS01-LC-NA, CS04-FL-NA, CS04-HC-NA, CS04-LC-NA, CS23-FL-NA, CS23-HC-NA, CS23-LC-NA, CS01m1-FL-NA, CS01m2-FL-NA, CS01m3-FL-NA, CS01m4-FL-NA, CS01m12-FL-NA, CS01m13-FL-NA, CS01m23-FL-NA, CS01m24-FL-NA, CS01m34-FL-NA, CS01m123-FL-NA, CS01m234-FL-NA, CS04m1-FL-NA, CS04m2-FL-NA, CS04m3-FL-NA, CS04m4-FL-NA, CS04m12-FL-NA, CS04m13-FL-NA, CS04m23-FL-NA, CS04m24-FL-NA, CS04m34-FL-NA, CS04m123-FL-NA, CS04m234-FL-NA, CS23m1-FL-NA, CS23m2-FL-NA, CS23m3-FL-NA, CS23m4-FL-NA, CS23m12-FL-NA, CS23m13-FL-NA, CS23m23-FL-NA, CS23m24-FL-NA, CS23m34-FL-NA, CS23m123-FL-NA, CS23m234-FL-NA, CS01-SC1-NA, CS04-SC1-NA, CS23-SC1-NA, CS01m1-SC1-NA, CS01m2-SC1-NA, CS01m3-SC1-NA, CS01m4-SC1-NA, CS01m12-SC1-NA, CS01m13-SC1-NA, CS01m23-SC1-NA, CS01m24-SC1-NA, CS01m34-SC1-NA, CS01m123-SC1-NA, CS01m234-SC1-NA, CS04m1-SC1-NA, CS04m2-SC1-NA, CS04m3-SC1-NA, CS04m4-SC1-NA, CS04m12-SC1-NA, CS04m13-SC1-NA, CS04m23-SC1-NA, CS04m24-SC1-NA, CS04m34-SC1-NA, CS04m123-SC1-NA, CS04m234-SC1-NA, CS23m1-SC1-NA,

CS23m2-SC1-NA, CS23m3-SC1-NA, CS23m4-SC1-NA, CS23m12-SC1-NA, CS23m13-SC1-NA, CS23m23-SC1-NA, CS23m24-SC1-NA, CS23m34-SC1-NA, CS23m123-SC1-NA, CS23m234-SC1-NA, CS01-SC2-NA, CS04-SC2-NA, CS23-SC2-NA, CS01m1-SC2-NA, CS01m2-SC2-NA, CS01m3-SC2-NA, CS01m4-SC2-NA, CS01m12-SC2-NA, CS01m13-SC2-NA, CS01m23-SC2-NA, CS01m24-SC2-NA, CS01m34-SC2-NA, CS01m123-SC2-NA, CS01m234-SC2-NA, CS04m1-SC2-NA, CS04m2-SC2-NA, CS04m3-SC2-NA, CS04m4-SC2-NA, CS04m12-SC2-NA, CS04m13-SC2-NA, CS04m23-SC2-NA, CS04m24-SC2-NA, CS04m34-SC2-NA, CS04m123-SC2-NA, CS04m234-SC2-NA, CS23m1-SC2-NA, CS23m2-SC2-NA, CS23m3-SC2-NA, CS23m4-SC2-NA, CS23m12-SC2-NA, CS23m13-SC2-NA, CS23m23-SC2-NA, CS23m24-SC2-NA, CS23m34-SC2-NA, CS23m123-SC2-NA e CS23m234-SC2-NA.

[0068] Numa modalidade dos polinucleotídeos descritos acima, a sequência nucleotídica tem pelo menos 97% de identidade com uma sequência selecionada do grupo que consiste em CS01-FL-NA, CS01-HC-NA, CS01-LC-NA, CS04-FL-NA, CS04-HC-NA, CS04-LC-NA, CS23-FL-NA, CS23-HC-NA, CS23-LC-NA, CS01m1-FL-NA, CS01m2-FL-NA, CS01m3-FL-NA, CS01m4-FL-NA, CS01m12-FL-NA, CS01m13-FL-NA, CS01m23-FL-NA, CS01m24-FL-NA, CS01m34-FL-NA, CS01m123-FL-NA, CS01m234-FL-NA, CS04m1-FL-NA, CS04m2-FL-NA, CS04m3-FL-NA, CS04m4-FL-NA, CS04m12-FL-NA, CS04m13-FL-NA, CS04m23-FL-NA, CS04m24-FL-NA, CS04m34-FL-NA, CS04m123-FL-NA, CS04m234-FL-NA, CS23m1-FL-NA, CS23m2-FL-NA, CS23m3-FL-NA, CS23m4-FL-NA, CS23m12-FL-NA, CS23m13-FL-NA, CS23m23-FL-NA, CS23m24-FL-NA, CS23m34-FL-NA, CS23m123-FL-NA, CS23m234-FL-NA, CS01-SC1-NA, CS04-SC1-NA, CS23-SC1-NA, CS01m1-SC1-NA, CS01m2-SC1-NA, CS01m3-SC1-NA, CS01m4-SC1-NA, CS01m12-SC1-NA, CS01m13-SC1-NA, CS01m23-SC1-NA, CS01m24-SC1-NA, CS01m34-SC1-NA,

CS01m123-SC1-NA, CS01m234-SC1-NA, CS04m1-SC1-NA, CS04m2-SC1-NA, CS04m3-SC1-NA, CS04m4-SC1-NA, CS04m12-SC1-NA, CS04m13-SC1-NA, CS04m23-SC1-NA, CS04m24-SC1-NA, CS04m34-SC1-NA, CS04m123-SC1-NA, CS04m234-SC1-NA, CS23m1-SC1-NA, CS23m2-SC1-NA, CS23m3-SC1-NA, CS23m4-SC1-NA, CS23m12-SC1-NA, CS23m13-SC1-NA, CS23m23-SC1-NA, CS23m24-SC1-NA, CS23m34-SC1-NA, CS23m123-SC1-NA, CS23m234-SC1-NA, CS01-SC2-NA, CS04-SC2-NA, CS23-SC2-NA, CS01m1-SC2-NA, CS01m2-SC2-NA, CS01m3-SC2-NA, CS01m4-SC2-NA, CS01m12-SC2-NA, CS01m13-SC2-NA, CS01m23-SC2-NA, CS01m24-SC2-NA, CS01m34-SC2-NA, CS01m123-SC2-NA, CS01m234-SC2-NA, CS04m1-SC2-NA, CS04m2-SC2-NA, CS04m3-SC2-NA, CS04m4-SC2-NA, CS04m12-SC2-NA, CS04m13-SC2-NA, CS04m23-SC2-NA, CS04m24-SC2-NA, CS04m34-SC2-NA, CS04m123-SC2-NA, CS04m234-SC2-NA, CS23m1-SC2-NA, CS23m2-SC2-NA, CS23m3-SC2-NA, CS23m4-SC2-NA, CS23m12-SC2-NA, CS23m13-SC2-NA, CS23m23-SC2-NA, CS23m24-SC2-NA, CS23m34-SC2-NA, CS23m123-SC2-NA e CS23m234-SC2-NA.

[0069] Numa modalidade dos polinucleotídeos descritos acima, a sequência nucleotídica tem pelo menos 98% de identidade com uma sequência selecionada do grupo que consiste em CS01-FL-NA, CS01-HC-NA, CS01-LC-NA, CS04-FL-NA, CS04-HC-NA, CS04-LC-NA, CS23-FL-NA, CS23-HC-NA, CS23-LC-NA, CS01m1-FL-NA, CS01m2-FL-NA, CS01m3-FL-NA, CS01m4-FL-NA, CS01m12-FL-NA, CS01m13-FL-NA, CS01m23-FL-NA, CS01m24-FL-NA, CS01m34-FL-NA, CS01m123-FL-NA, CS01m234-FL-NA, CS04m1-FL-NA, CS04m2-FL-NA, CS04m3-FL-NA, CS04m4-FL-NA, CS04m12-FL-NA, CS04m13-FL-NA, CS04m23-FL-NA, CS04m24-FL-NA, CS04m34-FL-NA, CS04m123-FL-NA, CS04m234-FL-NA, CS23m1-FL-NA, CS23m2-FL-NA, CS23m3-FL-NA, CS23m4-FL-NA, CS23m12-FL-NA, CS23m13-FL-NA, CS23m23-FL-NA, CS23m24-FL-NA,

CS23m34-FL-NA, CS23m123-FL-NA, CS23m234-FL-NA, CS01-SC1-NA, CS04-SC1-NA, CS23-SC1-NA, CS01m1-SC1-NA, CS01m2-SC1-NA, CS01m3-SC1-NA, CS01m4-SC1-NA, CS01m12-SC1-NA, CS01m13-SC1-NA, CS01m23-SC1-NA, CS01m24-SC1-NA, CS01m34-SC1-NA, CS01m123-SC1-NA, CS01m234-SC1-NA, CS04m1-SC1-NA, CS04m2-SC1-NA, CS04m3-SC1-NA, CS04m4-SC1-NA, CS04m12-SC1-NA, CS04m13-SC1-NA, CS04m23-SC1-NA, CS04m24-SC1-NA, CS04m34-SC1-NA, CS04m123-SC1-NA, CS04m234-SC1-NA, CS23m1-SC1-NA, CS23m2-SC1-NA, CS23m3-SC1-NA, CS23m4-SC1-NA, CS23m12-SC1-NA, CS23m13-SC1-NA, CS23m23-SC1-NA, CS23m24-SC1-NA, CS23m34-SC1-NA, CS23m123-SC1-NA, CS23m234-SC1-NA, CS01-SC2-NA, CS04-SC2-NA, CS23-SC2-NA, CS01m1-SC2-NA, CS01m2-SC2-NA, CS01m3-SC2-NA, CS01m4-SC2-NA, CS01m12-SC2-NA, CS01m13-SC2-NA, CS01m23-SC2-NA, CS01m24-SC2-NA, CS01m34-SC2-NA, CS01m123-SC2-NA, CS01m234-SC2-NA, CS04m1-SC2-NA, CS04m2-SC2-NA, CS04m3-SC2-NA, CS04m4-SC2-NA, CS04m12-SC2-NA, CS04m13-SC2-NA, CS04m23-SC2-NA, CS04m24-SC2-NA, CS04m34-SC2-NA, CS04m123-SC2-NA, CS04m234-SC2-NA, CS23m1-SC2-NA, CS23m2-SC2-NA, CS23m3-SC2-NA, CS23m4-SC2-NA, CS23m12-SC2-NA, CS23m13-SC2-NA, CS23m23-SC2-NA, CS23m24-SC2-NA, CS23m34-SC2-NA, CS23m123-SC2-NA e CS23m234-SC2-NA.

[0070] Numa modalidade dos polinucleotídeos descritos acima, a sequência nucleotídica tem pelo menos 99% de identidade com uma sequência selecionada do grupo que consiste em CS01-FL-NA, CS01-HC-NA, CS01-LC-NA, CS04-FL-NA, CS04-HC-NA, CS04-LC-NA, CS23-FL-NA, CS23-HC-NA, CS23-LC-NA, CS01m1-FL-NA, CS01m2-FL-NA, CS01m3-FL-NA, CS01m4-FL-NA, CS01m12-FL-NA, CS01m13-FL-NA, CS01m23-FL-NA, CS01m24-FL-NA, CS01m34-FL-NA, CS01m123-FL-NA, CS01m234-FL-NA, CS04m1-FL-NA, CS04m2-FL-NA, CS04m3-FL-NA,

CS04m4-FL-NA, CS04m12-FL-NA, CS04m13-FL-NA, CS04m23-FL-NA, CS04m24-FL-NA, CS04m34-FL-NA, CS04m123-FL-NA, CS04m234-FL-NA, CS23m1-FL-NA, CS23m2-FL-NA, CS23m3-FL-NA, CS23m4-FL-NA, CS23m12-FL-NA, CS23m13-FL-NA, CS23m23-FL-NA, CS23m24-FL-NA, CS23m34-FL-NA, CS23m123-FL-NA, CS23m234-FL-NA, CS01-SC1-NA, CS04-SC1-NA, CS23-SC1-NA, CS01m1-SC1-NA, CS01m2-SC1-NA, CS01m3-SC1-NA, CS01m4-SC1-NA, CS01m12-SC1-NA, CS01m13-SC1-NA, CS01m23-SC1-NA, CS01m24-SC1-NA, CS01m34-SC1-NA, CS01m123-SC1-NA, CS01m234-SC1-NA, CS04m1-SC1-NA, CS04m2-SC1-NA, CS04m3-SC1-NA, CS04m4-SC1-NA, CS04m12-SC1-NA, CS04m13-SC1-NA, CS04m23-SC1-NA, CS04m24-SC1-NA, CS04m34-SC1-NA, CS04m123-SC1-NA, CS04m234-SC1-NA, CS23m1-SC1-NA, CS23m2-SC1-NA, CS23m3-SC1-NA, CS23m4-SC1-NA, CS23m12-SC1-NA, CS23m13-SC1-NA, CS23m23-SC1-NA, CS23m24-SC1-NA, CS23m34-SC1-NA, CS23m123-SC1-NA, CS23m234-SC1-NA, CS01-SC2-NA, CS04-SC2-NA, CS23-SC2-NA, CS01m1-SC2-NA, CS01m2-SC2-NA, CS01m3-SC2-NA, CS01m4-SC2-NA, CS01m12-SC2-NA, CS01m13-SC2-NA, CS01m23-SC2-NA, CS01m24-SC2-NA, CS01m34-SC2-NA, CS01m123-SC2-NA, CS01m234-SC2-NA, CS04m1-SC2-NA, CS04m2-SC2-NA, CS04m3-SC2-NA, CS04m4-SC2-NA, CS04m12-SC2-NA, CS04m13-SC2-NA, CS04m23-SC2-NA, CS04m24-SC2-NA, CS04m34-SC2-NA, CS04m123-SC2-NA, CS04m234-SC2-NA, CS23m1-SC2-NA, CS23m2-SC2-NA, CS23m3-SC2-NA, CS23m4-SC2-NA, CS23m12-SC2-NA, CS23m13-SC2-NA, CS23m23-SC2-NA, CS23m24-SC2-NA, CS23m34-SC2-NA, CS23m123-SC2-NA e CS23m234-SC2-NA.

[0071] Numa modalidade dos polinucleotídeos descritos acima, a sequência nucleotídica tem pelo menos 99,5% de identidade com uma sequência selecionada do grupo que consiste em CS01-FL-NA, CS01-HC-NA, CS01-LC-NA, CS04-FL-NA, CS04-HC-NA, CS04-LC-NA, CS23-FL-

NA, CS23-HC-NA, CS23-LC-NA, CS01m1-FL-NA, CS01m2-FL-NA, CS01m3-FL-NA, CS01m4-FL-NA, CS01m12-FL-NA, CS01m13-FL-NA, CS01m23-FL-NA, CS01m24-FL-NA, CS01m34-FL-NA, CS01m123-FL-NA, CS01m234-FL-NA, CS04m1-FL-NA, CS04m2-FL-NA, CS04m3-FL-NA, CS04m4-FL-NA, CS04m12-FL-NA, CS04m13-FL-NA, CS04m23-FL-NA, CS04m24-FL-NA, CS04m34-FL-NA, CS04m123-FL-NA, CS04m234-FL-NA, CS23m1-FL-NA, CS23m2-FL-NA, CS23m3-FL-NA, CS23m4-FL-NA, CS23m12-FL-NA, CS23m13-FL-NA, CS23m23-FL-NA, CS23m24-FL-NA, CS23m34-FL-NA, CS23m123-FL-NA, CS23m234-FL-NA, CS01-SC1-NA, CS04-SC1-NA, CS23-SC1-NA, CS01m1-SC1-NA, CS01m2-SC1-NA, CS01m3-SC1-NA, CS01m4-SC1-NA, CS01m12-SC1-NA, CS01m13-SC1-NA, CS01m23-SC1-NA, CS01m24-SC1-NA, CS01m34-SC1-NA, CS01m123-SC1-NA, CS01m234-SC1-NA, CS04m1-SC1-NA, CS04m2-SC1-NA, CS04m3-SC1-NA, CS04m4-SC1-NA, CS04m12-SC1-NA, CS04m13-SC1-NA, CS04m23-SC1-NA, CS04m24-SC1-NA, CS04m34-SC1-NA, CS04m123-SC1-NA, CS04m234-SC1-NA, CS23m1-SC1-NA, CS23m2-SC1-NA, CS23m3-SC1-NA, CS23m4-SC1-NA, CS23m12-SC1-NA, CS23m13-SC1-NA, CS23m23-SC1-NA, CS23m24-SC1-NA, CS23m34-SC1-NA, CS23m123-SC1-NA, CS23m234-SC1-NA, CS01-SC2-NA, CS04-SC2-NA, CS23-SC2-NA, CS01m1-SC2-NA, CS01m2-SC2-NA, CS01m3-SC2-NA, CS01m4-SC2-NA, CS01m12-SC2-NA, CS01m13-SC2-NA, CS01m23-SC2-NA, CS01m24-SC2-NA, CS01m34-SC2-NA, CS01m123-SC2-NA, CS01m234-SC2-NA, CS04m1-SC2-NA, CS04m2-SC2-NA, CS04m3-SC2-NA, CS04m4-SC2-NA, CS04m12-SC2-NA, CS04m13-SC2-NA, CS04m23-SC2-NA, CS04m24-SC2-NA, CS04m34-SC2-NA, CS04m123-SC2-NA, CS04m234-SC2-NA, CS23m1-SC2-NA, CS23m2-SC2-NA, CS23m3-SC2-NA, CS23m4-SC2-NA, CS23m12-SC2-NA, CS23m13-SC2-NA, CS23m23-SC2-NA, CS23m24-SC2-NA, CS23m34-SC2-NA, CS23m123-SC2-NA e CS23m234-SC2-NA.

[0072] Numa modalidade dos polinucleotídeos descritos acima, a sequência nucleotídica tem pelo menos 99,5% de identidade com uma sequência selecionada do grupo que consiste em CS01-FL-NA, CS01-HC-NA, CS01-LC-NA, CS04-FL-NA, CS04-HC-NA, CS04-LC-NA, CS23-FL-NA, CS23-HC-NA, CS23-LC-NA, CS01m1-FL-NA, CS01m2-FL-NA, CS01m3-FL-NA, CS01m4-FL-NA, CS01m12-FL-NA, CS01m13-FL-NA, CS01m23-FL-NA, CS01m24-FL-NA, CS01m34-FL-NA, CS01m123-FL-NA, CS01m234-FL-NA, CS04m1-FL-NA, CS04m2-FL-NA, CS04m3-FL-NA, CS04m4-FL-NA, CS04m12-FL-NA, CS04m13-FL-NA, CS04m23-FL-NA, CS04m24-FL-NA, CS04m34-FL-NA, CS04m123-FL-NA, CS04m234-FL-NA, CS23m1-FL-NA, CS23m2-FL-NA, CS23m3-FL-NA, CS23m4-FL-NA, CS23m12-FL-NA, CS23m13-FL-NA, CS23m23-FL-NA, CS23m24-FL-NA, CS23m34-FL-NA, CS23m123-FL-NA, CS23m234-FL-NA, CS01-SC1-NA, CS04-SC1-NA, CS23-SC1-NA, CS01m1-SC1-NA, CS01m2-SC1-NA, CS01m3-SC1-NA, CS01m4-SC1-NA, CS01m12-SC1-NA, CS01m13-SC1-NA, CS01m23-SC1-NA, CS01m24-SC1-NA, CS01m34-SC1-NA, CS01m123-SC1-NA, CS01m234-SC1-NA, CS04m1-SC1-NA, CS04m2-SC1-NA, CS04m3-SC1-NA, CS04m4-SC1-NA, CS04m12-SC1-NA, CS04m13-SC1-NA, CS04m23-SC1-NA, CS04m24-SC1-NA, CS04m34-SC1-NA, CS04m123-SC1-NA, CS04m234-SC1-NA, CS23m1-SC1-NA, CS23m2-SC1-NA, CS23m3-SC1-NA, CS23m4-SC1-NA, CS23m12-SC1-NA, CS23m13-SC1-NA, CS23m23-SC1-NA, CS23m24-SC1-NA, CS23m34-SC1-NA, CS23m123-SC1-NA, CS23m234-SC1-NA, CS01-SC2-NA, CS04-SC2-NA, CS23-SC2-NA, CS01m1-SC2-NA, CS01m2-SC2-NA, CS01m3-SC2-NA, CS01m4-SC2-NA, CS01m12-SC2-NA, CS01m13-SC2-NA, CS01m23-SC2-NA, CS01m24-SC2-NA, CS01m34-SC2-NA, CS01m123-SC2-NA, CS01m234-SC2-NA, CS04m1-SC2-NA, CS04m2-SC2-NA, CS04m3-SC2-NA, CS04m4-SC2-NA, CS04m12-SC2-NA, CS04m13-SC2-NA, CS04m23-SC2-NA, CS04m24-SC2-NA, CS04m34-SC2-NA,

CS04m123-SC2-NA, CS04m234-SC2-NA, CS23m1-SC2-NA, CS23m2-SC2-NA, CS23m3-SC2-NA, CS23m4-SC2-NA, CS23m12-SC2-NA, CS23m13-SC2-NA, CS23m23-SC2-NA, CS23m24-SC2-NA, CS23m34-SC2-NA, CS23m123-SC2-NA e CS23m234-SC2-NA.

[0073] Numa modalidade dos polinucleotídeos descritos acima, a sequência nucleotídica é selecionada do grupo constituído por CS01-FL-NA, CS01-HC-NA, CS01-LC-NA, CS04-FL-NA, CS04-HC-NA, CS04-LC-NA, CS23-FL-NA, CS23-HC-NA, CS23-LC-NA, CS01m1-FL-NA, CS01m2-FL-NA, CS01m3-FL-NA, CS01m4-FL-NA, CS01m12-FL-NA, CS01m13-FL-NA, CS01m23-FL-NA, CS01m24-FL-NA, CS01m34-FL-NA, CS01m123-FL-NA, CS01m234-FL-NA, CS04m1-FL-NA, CS04m2-FL-NA, CS04m3-FL-NA, CS04m4-FL-NA, CS04m12-FL-NA, CS04m13-FL-NA, CS04m23-FL-NA, CS04m24-FL-NA, CS04m34-FL-NA, CS04m123-FL-NA, CS04m234-FL-NA, CS23m1-FL-NA, CS23m2-FL-NA, CS23m3-FL-NA, CS23m4-FL-NA, CS23m12-FL-NA, CS23m13-FL-NA, CS23m23-FL-NA, CS23m24-FL-NA, CS23m34-FL-NA, CS23m123-FL-NA, CS23m234-FL-NA, CS01-SC1-NA, CS04-SC1-NA, CS23-SC1-NA, CS01m1-SC1-NA, CS01m2-SC1-NA, CS01m3-SC1-NA, CS01m4-SC1-NA, CS01m12-SC1-NA, CS01m13-SC1-NA, CS01m23-SC1-NA, CS01m24-SC1-NA, CS01m34-SC1-NA, CS01m123-SC1-NA, CS01m234-SC1-NA, CS04m1-SC1-NA, CS04m2-SC1-NA, CS04m3-SC1-NA, CS04m4-SC1-NA, CS04m12-SC1-NA, CS04m13-SC1-NA, CS04m23-SC1-NA, CS04m24-SC1-NA, CS04m34-SC1-NA, CS04m123-SC1-NA, CS04m234-SC1-NA, CS23m1-SC1-NA, CS23m2-SC1-NA, CS23m3-SC1-NA, CS23m4-SC1-NA, CS23m12-SC1-NA, CS23m13-SC1-NA, CS23m23-SC1-NA, CS23m24-SC1-NA, CS23m34-SC1-NA, CS23m123-SC1-NA, CS23m234-SC1-NA, CS01-SC2-NA, CS04-SC2-NA, CS23-SC2-NA, CS01m1-SC2-NA, CS01m2-SC2-NA, CS01m3-SC2-NA, CS01m4-SC2-NA, CS01m12-SC2-NA, CS01m13-SC2-NA, CS01m23-SC2-NA, CS01m24-SC2-NA, CS01m34-SC2-NA, CS01m123-

SC2-NA, CS01m234-SC2-NA, CS04m1-SC2-NA, CS04m2-SC2-NA, CS04m3-SC2-NA, CS04m4-SC2-NA, CS04m12-SC2-NA, CS04m13-SC2-NA, CS04m23-SC2-NA, CS04m24-SC2-NA, CS04m34-SC2-NA, CS04m123-SC2-NA, CS04m234-SC2-NA, CS23m1-SC2-NA, CS23m2-SC2-NA, CS23m3-SC2-NA, CS23m4-SC2-NA, CS23m12-SC2-NA, CS23m13-SC2-NA, CS23m23-SC2-NA, CS23m24-SC2-NA, CS23m34-SC2-NA, CS23m123-SC2-NA e CS23m234-SC2-NA.

[0074] Numa modalidade dos polinucleotídeos acima descritos, o polipeptídeo de Fator VIII codificado compreende um polipeptídeo de glicosilação posicionado entre dois aminoácidos consecutivos.

[0075] Numa modalidade dos polinucleotídeos descritos acima, o ligante polipeptídico codificado inclui um peptídeo de glicosilação com uma sequência de aminoácidos com pelo menos 92% de identidade com um peptídeo de glicosilação selecionado grupo consistindo em NG1-AA, NG4-AA, NG5-AA, NG6-AA, NG7-AA, NG9-AA, NG10-AA, NG16-AA, NG17-AA, NG18-AA, NG19-AA, NG20-AA, NG21-AA e NGV-AA.

[0076] Numa modalidade dos polinucleotídeos descritos acima, o ligante polipeptídico codificado compreende um peptídeo de glicosilação com uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo consistindo em NG1-AA, NG4-AA, NG5-AA, NG6-AA, NG7-AA, NG9-AA, NG10-AA, NG16-AA, NG17-AA, NG18-AA, NG19-AA, NG20-AA, NG21-AA e NGV-AA.

[0077] Numa modalidade dos polinucleotídeos descritos acima, o peptídeo de glicosilação é codificado por um polinucleotídeo com uma sequência nucleotídica possuindo pelo menos 95% de identidade com uma sequência selecionada do grupo consistindo em NG1-NA, NG4-NA, NG5-NA, NG6-NA, NG7-NA, NG9-NA, NG10-NA, NG16-NA, NG17-NA, NG18-NA, NG19-NA, NG20-NA, NG21-NA e NGV-NA.

[0078] Numa modalidade dos polinucleotídeos descritos acima, o

peptídeo de glicosilação é codificado por um polinucleotídeo com uma sequência nucleotídica selecionada dentre NG1-NA, NG4-NA, NG5-NA, NG6-NA, NG7-NA, NG9-NA, NG10-NA, NG16-NA, NG17-NA, NG18-NA, NG19-NA, NG20-NA, NG21-NA e NGV-NA.

[0079] Numa modalidade dos polinucleotídeos descritos acima, o agente de ligação polipeptídica é codificado por uma terceira sequência nucleotídica tendo pelo menos 95% de identidade com uma sequência selecionada do grupo que consiste em BDLNG1-NA, BDLNG3-NA, BDLNG5-NA, BDLNG6-NA, BDLNG9-NA, BDLNG10-NA, BDLNG16-NA, BDLNG17-NA, BDLNG18-NA, BDLNG19-NA, BDLNG20-NA e BDLNG21-NA.

[0080] Numa modalidade dos polinucleotídeos descritos acima, o polipeptídeo de Fator VIII codificado inclui uma substituição de aminoácidos F328S (SPI, F309S SPE), relativamente a FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19).

[0081] Em uma modalidade dos polinucleotídeos descritos acima, o polipeptídeo codificado de Fator VIII inclui I105V, A127S, G151K, M166T e L171P (SPI; I86V, A108S, G132K, M147T e L152P, SPE, respectivamente) substituições de aminoácidos, em relação ao FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19).

[0082] Numa modalidade dos polinucleotídeos descritos acima, o polipeptídeo codificado Fator VIII inclui a) uma deleção de aminoácidos AIERPR755-759, relativos ao FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19) e b) uma inserção de aminoácidos TTYVNRSL (SEQ ID NO: 33) após N754, relativo a FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19). Em algumas modalidades (por exemplo, quando a molécula de FVIII codificada inclui uma porção da região N-terminal do domínio B de tipo selvagem), o polipeptídeo de Fator VIII codificado inclui também uma deleção dos aminoácidos SF760-761, relativamente a FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19).

[0083] Numa modalidade dos polinucleotídeos descritos acima, o polipeptídeo de Fator VIII codificado inclui a) uma substituição de

aminoácidos de F328S (SPI; F309S), relativamente a FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19), e b) C1918G e C1922G (SPI; C1899G e C1903 SPE, respectivamente) substituições de aminoácidos, em relação a FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19).

[0084] Numa modalidade dos polinucleotídeos descritos acima, o polipeptídeo de Fator VIII codificado inclui a) uma substituição de aminoácidos de F328S (SPI; F309S SPE), relativamente a FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19), e b) I105V, A127S, Substituições de aminoácidos G151K, M166T e L171P (SPI; I86V, A108S, G132K, M147T e L152P, SPE, respectivamente), relativamente a FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19).

[0085] Numa modalidade dos polinucleotídeos descritos acima, o polipeptídeo codificado Fator VIII inclui a) uma substituição de aminoácidos F328S, relativos ao FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19) e b) uma deleção de aminoácidos AIEPR755-759, relativa ao FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19) e c) uma inserção de aminoácidos TTYVNRSL (SEQ ID NO: 33) após N754, relativo a FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19). Em algumas modalidades (por exemplo, quando a molécula de FVIII codificada inclui uma porção da região N-terminal do domínio B de tipo selvagem), o polipeptídeo de Fator VIII codificado inclui também uma deleção dos aminoácidos SF760-761, relativamente a FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19).

[0086] Numa modalidade dos polinucleotídeos acima descritos, o polipeptídeo de Fator VIII codificado inclui a) substituições de aminoácidos I105V, A127S, G151K, M166T e L171P, relativamente a FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19), b) uma deleção de aminoácidos AIEPR755-759, em relação a FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19), e c) uma inserção de aminoácidos TTYVNRSL (SEQ ID NO: 33) após N754, em relação a FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19). Em algumas modalidades (por exemplo, quando a molécula de FVIII codificada inclui uma porção da região N-terminal do domínio B de tipo selvagem), o polipeptídeo de Fator VIII codificado inclui também uma

deleção dos aminoácidos SF760-761, relativamente a FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19).

[0087] Numa modalidade dos polinucleotídeos descritos acima, o polipeptídeo de Fator VIII codificado inclui a) uma substituição de aminoácidos F328S, relativamente a substituições de aminoácidos FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19), b) C1918G e C1922G, relativamente a FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19) e c) substituições de aminoácidos de I105V, A127S, G151K, M166T e L171P, relativamente a FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19).

[0088] Numa modalidade dos polinucleotídeos descritos acima, o polipeptídeo codificado Fator VIII inclui a) uma substituição de aminoácidos F328S, relativos ao FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19) e b) substituições de aminoácidos C1918G e C1922G, relativas a FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19), c) deleção de aminoácidos AIEPR755-759, relativa ao FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19) e d) uma inserção de aminoácidos TTYVNRSL (SEQ ID NO: 33) após N754, relativo a FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19). Em algumas modalidades (por exemplo, quando a molécula de FVIII codificada inclui uma porção da região N-terminal do domínio B de tipo selvagem), o polipeptídeo de Fator VIII codificado inclui também uma deleção dos aminoácidos SF760-761, relativamente a FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19).

[0089] Numa modalidade dos polinucleotídeos descritos acima, o polipeptídeo de Fator VIII codificado inclui a) substituições de aminoácidos I105V, A127S, G151K, M166T e L171P, relativas a FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19), b) uma substituição de aminoácido F328S, relativa a FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19), c) substituições de aminoácidos C1918G e C1922G, relativas a FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19), d) uma deleção de aminoácidos AIEPR755-759, relativa a FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19), e e) uma inserção de aminoácidos TTYVNRSL (SEQ ID NO: 33) após N754, em relação a FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19). Em algumas modalidades (por exemplo, quando a molécula de FVIII codificada inclui uma porção da região N-

terminal do domínio B de tipo selvagem), o polipeptídeo de Fator VIII codificado inclui também uma deleção dos aminoácidos SF760-761, relativamente a FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19).

[0090] Numa modalidade dos polinucleotídeos descritos acima, o polinucleotídeo também inclui um elemento promotor operativamente ligado ao polinucleotídeo codificando o polipeptídeo de Fator VIII.

[0091] Numa modalidade dos polinucleotídeos descritos acima, o polinucleotídeo também inclui um potencializador ligado operativamente ao polipeptídeo de Fator VIII codificador de polinucleotídeo.

[0092] Numa modalidade dos polinucleotídeos descritos acima, o polinucleotídeo também inclui um elemento de poliadenilação operacionalmente ligado ao polinucleotídeo que codifica o polipeptídeo de Fator VIII.

[0093] Numa modalidade dos polinucleotídeos descritos acima, o polinucleotídeo também inclui um íntron operativamente ligado à sequência nucleotídica que codifica o polipeptídeo de Fator VIII.

[0094] Numa modalidade dos polinucleotídeos acima descritos, o íntron é posicionado entre um elemento promotor e o local de iniciação da tradução (por exemplo, o primeiro ATG codificante) da sequência nucleotídica que codifica um polipeptídeo de Fator VIII.

[0095] Noutro aspecto, a divulgação fornece um vetor de terapia gênica de mamífero incluindo um polinucleotídeo como descrito acima.

[0096] Numa modalidade do vetor de terapia gênica de mamífero descrito acima, o vetor de terapia gênica de mamífero é um vetor de vírus adeno-associado (AAV).

[0097] Numa modalidade do vetor de terapia gênica de mamífero descrito acima, o vetor AAV é um vetor AAV-8.

[0098] Noutro aspecto, a divulgação fornece um método para tratar a hemofilia A, incluindo administrar, a um doente necessitado, um vetor de

terapia gênica de mamífero, como descrito acima.

[0099] Noutro aspecto, a divulgação fornece um vetor de terapia gênica de mamífero como descrito acima para o tratamento da hemofilia A.

[00100] Noutro aspecto, a divulgação fornece a utilização de um vetor de terapia gênica de mamífero como descrito acima para a fabricação de um medicamento para tratar a hemofilia A.

[00101] Em outro aspecto, a divulgação fornece um polipeptídeo de Fator VIII inclui uma cadeia leve, uma cadeia pesada e um ligante polipeptídico que une o terminal C da cadeia pesada ao terminal N da cadeia leve. A cadeia pesada do polipeptídeo de Fator VIII tem uma sequência pelo menos 95% idêntica à sequência CS01-HC-AAm23. A cadeia leve do polipeptídeo de Fator VIII tem uma sequência pelo menos 95% idêntica à sequência CS01-LC-AAm23. O ligante polipeptídico do polipeptídeo de Fator VIII inclui um sítio de clivagem da furina. O polipeptídeo de Fator VIII inclui i) substituições de aminoácidos I105V, A127S, G151K, M166T e L171P, ii) uma deleção dos aminoácidos AIEPR755-759, relativamente a FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19), e iii) uma inserção de aminoácidos TTYVNRSL (SEQ ID NO: 33) após N754, relativamente a FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19).

[00102] Em outro aspecto, a divulgação fornece um polipeptídeo de Fator VIII inclui uma cadeia leve, uma cadeia pesada e um ligante polipeptídico que une o terminal C da cadeia pesada ao terminal N da cadeia leve. A cadeia pesada do polipeptídeo de Fator VIII tem uma sequência pelo menos 95% idêntica à sequência CS01-HC-AAm123. A cadeia leve do polipeptídeo de Fator VIII tem uma sequência pelo menos 95% idêntica à sequência CS01-LC-AAm123. O ligante polipeptídico do polipeptídeo de Fator VIII inclui um sítio de clivagem da furina. O polipeptídeo de Fator VIII inclui i) substituições de aminoácidos I105V, A127S, G151K, M166T e L171P, ii) uma deleção dos aminoácidos AIEPR755-759, relativamente a FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19), e iii) uma inserção de aminoácidos

TTYVNRSL (SEQ ID NO: 33) após N754, relativamente a FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19) e iv) uma substituição de aminoácido F328S.

[00103] Em outro aspecto, a divulgação fornece um polipeptídeo de Fator VIII inclui uma cadeia leve, uma cadeia pesada e um ligante polipeptídico que une o terminal C da cadeia pesada ao terminal N da cadeia leve. A cadeia pesada do polipeptídeo de Fator VIII tem uma sequência pelo menos 95% idêntica à sequência CS01-HC-AAm234. A cadeia leve do polipeptídeo de Fator VIII tem uma sequência pelo menos 95% idêntica à sequência CS01-LC-AAm234. O ligante polipeptídico do polipeptídeo de Fator VIII inclui um sítio de clivagem da furina. O polipeptídeo de Fator VIII inclui i) substituições de aminoácidos I105V, A127S, G151K, M166T e L171P, ii) uma deleção dos aminoácidos AIEPR755-759, relativamente a FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19), e iii) uma inserção de aminoácidos TTYVNRSL (SEQ ID NO: 33) após N754, relativamente a FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19) e iv) uma substituição de aminoácido F328S/C1918G/C1922G.

[00104] Numa modalidade dos polipeptídeos Fator VIII descritos, a cadeia pesada do polipeptídeo de Fator VIII tem uma sequência pelo menos 96% idêntica à respectiva sequência da cadeia pesada (por exemplo, CS01-HC-AAm23, CS01-HC-AAm123 ou CS01-HC-AAm234), e a cadeia leve do polipeptídeo Fator FVIII tem uma sequência pelo menos 96% idêntica à respectiva sequência da cadeia leve (por exemplo, CS01-LC-AAm23, CS01-LC-AAm123 ou CS01-LC-AAm234).

[00105] Numa modalidade dos polipeptídeos Fator VIII descritos, a cadeia pesada do polipeptídeo de Fator VIII tem uma sequência pelo menos 97% idêntica à respectiva sequência da cadeia pesada (por exemplo, CS01-HC-AAm23, CS01-HC-AAm123 ou CS01-HC-AAm234), e a cadeia leve do polipeptídeo Fator FVIII tem uma sequência pelo menos 97% idêntica à respectiva sequência da cadeia leve (por exemplo, CS01-LC-AAm23, CS01-

LC-AAm123 ou CS01-LC-AAm234).

[00106] Numa modalidade dos polipeptídeos Fator VIII descritos, a cadeia pesada do polipeptídeo de Fator VIII tem uma sequência pelo menos 98% idêntica à respectiva sequência da cadeia pesada (por exemplo, CS01-HC-AAm23, CS01-HC-AAm123 ou CS01- HC-AAm234) e a cadeia leve do polipeptídeo de Fator FVIII têm uma sequência pelo menos 98% idêntica à respectiva sequência da cadeia leve (por exemplo, CS01-LC-AAm23, CS01-LC-AAm123 ou CS01-LC-AAm234).

[00107] Numa modalidade dos polipeptídeos Fator VIII descritos, a cadeia pesada do polipeptídeo de Fator VIII tem uma sequência pelo menos 99% idêntica à respectiva sequência da cadeia pesada (por exemplo, CS01-HC-AAm23, CS01-HC-AAm123 ou CS01- HC-AAm234), e a cadeia leve do polipeptídeo Fator FVIII tem uma sequência pelo menos 99% idêntica à respectiva sequência da cadeia leve (por exemplo, CS01-LC-AAm23, CS01-LC-AAm123 ou CS01-LC-AAm234).

[00108] Numa modalidade dos polipeptídeos Fator VIII descritos, a cadeia pesada do polipeptídeo de Fator VIII tem uma sequência pelo menos 99,5% idêntica à respectiva sequência da cadeia pesada (por exemplo, CS01-HC-AAm23, CS01-HC-AAm123 ou CS01- HC-AAm234), e a cadeia leve do polipeptídeo Fator FVIII tem uma sequência pelo menos 99,5% idêntica à respectiva sequência da cadeia leve (por exemplo, CS01-LC-AAm23, CS01-LC-AAm123 ou CS01-LC-AAm234).

[00109] Numa modalidade dos polipeptídeos Fator VIII descritos, a cadeia pesada do polipeptídeo de Fator VIII tem uma sequência idêntica à respectiva sequência da cadeia pesada (por exemplo, CS01-HC-AAm23, CS01-HC-AAm123 ou CS01- HC-AAm234) e a cadeia leve do polipeptídeo de Fator FVIII têm uma sequência idêntica à respectiva sequência da cadeia leve (por exemplo, CS01-LC-AAm23, CS01-LC-AAm123 ou CS01-LC-AAm234).

[00110] Numa modalidade dos polipeptídeos Fator VIII descritos acima, o agente de ligação polipeptídico tem pelo menos 95% de identidade com BDL-SQ-AA (SEQ ID NO: 30).

[00111] Numa modalidade dos polipeptídeos Fator VIII descritos acima, o ligante polipeptídico tem a sequência de aminoácidos de BDL-SQ-AA (SEQ ID NO: 30).

[00112] Numa modalidade dos polipeptídeos Fator VIII descritos acima, o ligante polipeptídico inclui um peptídeo de glicosilação com uma sequência de aminoácidos com pelo menos 92% de identidade com um peptídeo de glicosilação selecionado grupo consistindo em NG1-AA, NG4-AA, NG5-AA, NG6-AA, NG7-AA, NG9-AA, NG10-AA, NG16-AA, NG17-AA, NG18-AA, NG19-AA, NG20-AA, NG21-AA e NGV-AA.

[00113] Numa modalidade dos polipeptídeos Fator VIII descritos acima, o ligante polipeptídico compreende um peptídeo de glicosilação selecionado do grupo consistindo em NG1-AA, NG4-AA, NG5-AA, NG6-AA, NG7-AA, NG9-AA, NG10-AA, NG16-AA, NG17-AA, NG18-AA, NG19-AA, NG20-AA, NG21-AA e NGV-AA.

[00114] Numa modalidade dos polipeptídeos Fator VIII descritos acima, o ligante polipeptídico tem uma sequência de aminoácidos com pelo menos 95% de identidade com uma sequência selecionada do grupo consistindo em BDLNG1-AA, BDLNG3-AA, BDLNG5-AA, BDLNG6-AA, BDLNG9-AA, BDLNG10-AA, BDLNG16-AA, BDLNG17-AA, BDLNG18-AA, BDLNG19-AA, BDLNG20-AA e BDLNG21-AA.

[00115] Numa modalidade dos polipeptídeos Fator VIII descritos acima, o ligante polipeptídico tem uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo consistindo em BDLNG1-AA, BDLNG3-AA, BDLNG5-AA, BDLNG6-AA, BDLNG9-AA, BDLNG10-AA, BDLNG16-AA, BDLNG17-AA, BDLNG18-AA, BDLNG19-AA, BDLNG20-AA e BDLNG21-AA.

[00116] Noutro aspecto, a divulgação fornece um polipeptídeo de Fator

VIII possuindo uma sequência de aminoácidos com pelo menos 95% de identidade com CS40-FL-AAm23 (SEQ ID NO: 104). O polipeptídeo de Fator VIII inclui i) substituições de aminoácidos I105V, A127S, G151K, M166T e L171P, ii) uma deleção dos aminoácidos AIEPR755-759, relativamente a FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19), e iii) uma inserção de aminoácidos TTYVNRSL (SEQ ID NO: 33) após N754, relativamente a FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19).

[00117] Noutro aspecto, a divulgação fornece um polipeptídeo de Fator VIII possuindo uma sequência de aminoácidos com pelo menos 95% de identidade com CS40-FL-AAm123. O polipeptídeo de Fator VIII inclui i) substituições de aminoácidos I105V, A127S, G151K, M166T e L171P, ii) uma deleção dos aminoácidos AIEPR755-759, relativamente a FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19), e iii) uma inserção de aminoácidos TTYVNRSL (SEQ ID NO: 33) após N754, relativamente a FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19) e iv) uma substituição de aminoácido F328S.

[00118] Noutro aspecto, a divulgação fornece um polipeptídeo de Fator VIII possuindo uma sequência de aminoácidos com pelo menos 95% de identidade com CS40-FL-AAm234. O polipeptídeo de Fator VIII inclui i) substituições de aminoácidos I105V, A127S, G151K, M166T e L171P, ii) uma deleção dos aminoácidos AIEPR755-759, relativamente a FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19), e iii) uma inserção de aminoácidos TTYVNRSL (SEQ ID NO: 33) após N754, relativamente a FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19) e iv) uma substituição de aminoácido F328S/C1918G/C1922G.

[00119] Numa modalidade dos polipeptídeos Fator VIII descritos, o polipeptídeo de Fator VIII tem uma sequência pelo menos 96% idêntica à respectiva sequência completa (por exemplo, CS40-FL-AAm23 (SEQ ID NO: 104), CS40-FL-AAm123 ou CS40-FL-AAm234).

[00120] Numa modalidade dos polipeptídeos Fator VIII descritos, o polipeptídeo de Fator VIII tem uma sequência pelo menos 97% idêntica à

respectiva sequência inteira (por exemplo, CS40-FL-AAm23 (SEQ ID NO: 104), CS40-FL-AAm123 ou CS40-FL-AAm234).

[00121] Numa modalidade dos polipeptídeos Fator VIII descritos, o polipeptídeo de Fator VIII tem uma sequência pelo menos 98% idêntica à respectiva sequência inteira (por exemplo, CS40-FL-AAm23 (SEQ ID NO: 104), CS40-FL-AAm123 ou CS40-FL-AAm234).

[00122] Numa modalidade dos polipeptídeos Fator VIII descritos, o polipeptídeo de Fator VIII tem uma sequência pelo menos 99% idêntica à respectiva sequência completa (por exemplo, CS40-FL-AAm23 (SEQ ID NO: 104), CS40-FL-AAm123 ou CS40-FL-AAm234).

[00123] Numa modalidade dos polipeptídeos Fator VIII descritos, o polipeptídeo de Fator VIII tem uma sequência pelo menos 99,5% idêntica à respectiva sequência inteira (por exemplo, CS40-FL-AAm23 (SEQ ID NO: 104), CS40-FL-AAm123 ou CS40-FL-AAm234).

[00124] Numa modalidade dos polipeptídeos Fator VIII descritos, o polipeptídeo de Fator VIII tem uma sequência idêntica à respectiva sequência inteira (por exemplo, CS40-FL-AAm23 (SEQ ID NO: 104), CS40-FL-AAm123 ou CS40-FL-AAm234).

BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

[00125] A Figura 1 mostra ilustrações esquemáticas dos construtos da proteína do Fator VIII humano tipo selvagem e ReFacto.

[00126] As Figuras 2A e 2B mostram a sequência nucleotídica alterada por códon CS04 (SEQ ID NO: 1) que codifica uma variante do Fator VIII de acordo com algumas modalidades ("CS04-FL-NA" para a sequência codificante completa).

[00127] A Figura 3 mostra a sequência de aminoácidos da variante do Fator VIII (SEQ ID NO: 2) codificada pela sequência nucleotídica alterada pelo códon CS04 de acordo com algumas modalidades ("CS04-FL-AA" para a sequência de aminoácidos de comprimento total).

[00128] A Figura 4 mostra a porção da sequência nucleotídica alterada por códon CS04 (SEQ ID NO: 3) que codifica a cadeia pesada de uma variante do Fator VIII de acordo com algumas modalidades (“CS04-HC-NA”).

[00129] A Figura 5 mostra a porção da sequência nucleotídica alterada por códon CS04 (SEQ ID NO: 4) que codifica a cadeia leve de uma variante do Fator VIII de acordo com algumas modalidades (“CS04-LC-NA”).

[00130] A Figura 6 mostra sequências de codificação exemplificativas (SEQ ID NOS 5-7 e 36-48, respectivamente, por ordem de aparição) para ligantes substituídos no domínio B de acordo com algumas modalidades. BDLO01 (SEQ ID NO: 5), BDLO04 (SEQ ID NO: 6) e BDLO23 (SEQ ID NO: 7) são as porções respectivas das sequências nucleotídicas alteradas por códons CS01, CS04 e CS23 que codificam um domínio B ligante substituído, respectivamente.

[00131] As Figuras 7A, 7B e 7C mostram uma sequência de vetor AAV (SEQ ID NO: 8) contendo uma sequência nucleotídica alterada por códon CS04 de acordo com algumas modalidades (“CS04-AV-NA”).

[00132] As Figuras 8A e 8B mostram a sequência nucleotídica alterada por códon CS01m1 (SEQ ID NO: 49) que codifica uma variante do Fator VIII com uma substituição de aminoácidos F328S de acordo com algumas modalidades (“CS01m1-FL-NA”).

[00133] As Figuras 9A e 9B mostram a sequência nucleotídica CS04Δ(760-1667) (SPI; CS04Δ(741-1648), SPE) alterada por códon (SEQ ID NO: 9) codificando uma variante de cadeia simples de Fator VIII de acordo com algumas modalidades (“CS04-SC1-NA”).

[00134] A Figura 10 mostra a sequência de aminoácidos variante do Fator VIII (SEQ ID NO: 10) codificada pelo CS01Δ(760-1667) (SPI; CS01Δ(741-1648), SPE), CS04Δ(760-1667) (SPI; CS04Δ(741-1648), SPE) e CS23Δ(760-1667) (SPI; CS23Δ(741-1648), SPE) sequências de nucleotídeos

alteradas por códons de acordo com algumas modalidades ("CS01-SC1-AA", "CS04-SC1-AA" e "CS23-SC1-AA", respectivamente).

[00135] As Figuras 11A e 11B mostram a sequência nucleotídica CS04Δ(772-1667) (SPI; CS04Δ(753-1648), SPE) alterada por códon (SEQ ID NO: 11) codificando uma variante de cadeia simples de Fator VIII de acordo com algumas modalidades ("CS04-SC2-NA").

[00136] A Figura 12 mostra a sequência de aminoácidos da variante do Fator VIII (SEQ ID NO: 12) codificada pelo CS01Δ(772-1667) (SPI; CS01Δ(753-1648), SPE), CS04Δ(772-1667) (SPI; CS04Δ(753-1648), SPE) e CS23Δ(772-1667) (SPI; CS23Δ(753-1648), SPE) sequência de nucleotídeos alterada por códon de acordo com algumas modalidades ("CS01-SC2-AA", "CS04-SC2-AA" e "CS23-SC2-AA", respectivamente).

[00137] As Figuras 13A e 13B mostram sequências de aminoácidos e nucleotídeos para peptídeos de glicosilação exemplificativos que são inseridos no ligante substituído no domínio B de acordo com algumas modalidades. "NG1" ou NG1-AA "é o código da sequência de aminoácidos, mostrada na linha superior. "NG1-NA" é o código para a sequência de ácido nucleico, mostrado na linha inferior para cada conjunto. As Figuras 13A e 13B divulgam as sequências de aminoácidos como SEQ ID NOS 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73 e 75, e as sequências nucleotídicas como SEQ ID NOS 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72 e 74, respectivamente, em ordem de aparição.

[00138] A Figura 14 mostra os resultados da previsão in silico de N-glicosilação in vivo do domínio B do Fator VIII de tipo selvagem. A figura divulga as SEQ ID NOS 76 e 76-82, respectivamente, por ordem de aparição.

[00139] A Figura 15 mostra os resultados da previsão in silico de N-glicosilação in vivo do ligante peptídico V3. A figura divulga as SEQ ID NOS 83 e 83-89, respectivamente, por ordem de aparição.

[00140] As Figuras 16A e 16B mostram a sequência nucleotídica

alterada por códon CS01 (SEQ ID NO: 13) que codifica uma variante do Fator VIII de acordo com algumas modalidades (“CS01-FL-NA”).

[00141] As Figuras 17A e 17B mostram a sequência nucleotídica alterada por códon CS08 (SEQ ID NO: 14) que codifica uma variante do Fator VIII de acordo com algumas modalidades (“CS08-FL-NA”).

[00142] As Figuras 18A e 18B mostram a sequência nucleotídica alterada por códon CS10 (SEQ ID NO: 15) codificando a variante do Fator VIII de acordo com algumas modalidades (“CS10-FL-NA”).

[00143] As Figuras 19A e 19B mostram a sequência nucleotídica alterada por códon CS11 (SEQ ID NO: 16) que codifica uma variante do Fator VIII de acordo com algumas modalidades (“CS11-FL-NA”).

[00144] As Figuras 20A e 20B mostram a sequência de codificação ReFacto de tipo selvagem CS40 (SEQ ID NO: 17), de acordo com algumas modalidades (“CS40-FL-NA”).

[00145] As Figuras 21A e 21B mostram a sequência nucleotídica alterada por códon CH25 (SEQ ID NO: 18) codificando a variante do Fator VIII de acordo com algumas modalidades (“CH25-FL-NA”).

[00146] A Figura 22 mostra uma sequência de aminoácidos do Fator VIII humano de tipo selvagem (SEQ ID NO: 19), de acordo com algumas modalidades (“FVIII-FL-AA”).

[00147] A Figura 23 ilustra o esquema para clonagem dos construtos pCS40, pCS01, pCS04, pCS08, pCS10, pCS11 e pCh25, inserindo sequências de DNA sintéticas do tipo BDD-FVIII do tipo Refacto na estrutura principal do vetor pCh-BB01 através dos locais de restrição AscI e NotI.

[00148] A Figura 24 mostra a integridade das preparações do genoma do vetor AAV, conforme analisado por electroforese em gel de agarose. Pista 1, marcador de DNA; pista 2, vCS40; pista 3, vCS01; pista 4, vCS04. Os vetores de AAV possuem todos os genomas do mesmo tamanho, migrando a aproximadamente 5 kb (seta, lado direito). A escala do lado esquerdo indica o

tamanho dos fragmentos de DNA em quilobases (kb).

[00149] A Figura 25 mostra a análise de proteínas de preparações de vetores de AAV por PAGE e coloração com prata. Pista 1, marcador proteico (M); pista 2, vCS40, pista 3, vCS01; e pista 4, vCS04. Todos os construtos possuem os mesmos capsídeos AAV8 consistindo em VP1, VP2 e VP3 (setas do lado direito). A escala no lado esquerdo indica o tamanho do marcador de proteína em quilodaltons (kDa).

[00150] As Figuras 26A e 26B mostram a sequência nucleotídica CS23 alterada por códon (SEQ ID NO: 20) codificando uma variante do Fator VIII de acordo com algumas modalidades ("CS23-FL-NA").

[00151] A Figura 27 mostra a sequência de aminoácidos da variante do Fator VIII (SEQ ID NO: 21) codificada pela sequência de nucleotídeos alterada pelo códon CS23 de acordo com algumas modalidades ("CS23-FL-AA").

[00152] A Figura 28 mostra a porção da sequência nucleotídica alterada por códon CS23 (SEQ ID NO: 22) que codifica a cadeia pesada de uma variante do Fator VIII de acordo com algumas modalidades ("CS23-HC-NA").

[00153] A Figura 29 mostra a porção da sequência nucleotídica alterada por códon CS23 (SEQ ID NO: 23) que codifica a cadeia leve de uma variante do Fator VIII de acordo com algumas modalidades ("CS23-LC-NA").

[00154] As Figuras 30A e 30B mostram a sequência nucleotídica alterada por códon CS01m13 (SEQ ID NO: 90) que codifica uma variante do Fator VIII com substituições de aminoácidos m1 (F328S) e m3 de acordo com algumas modalidades ("CS01-FL-NA-m13").

[00155] As Figuras 31A e 31B mostram a sequência nucleotídica alterada por códon CS01m23 (SEQ ID NO: 91) que codifica uma variante do Fator VIII com os conjuntos de mutação m2 e m3 de acordo com algumas

modalidades (“CS01-FL-NA-m23”).

[00156] As Figuras 32A e 32B mostram a sequência nucleotídica alterada por códon CS01m3 (SEQ ID NO: 92) que codifica uma variante do Fator VIII com substituições de aminoácidos m3 de acordo com algumas modalidades (“CS01-FL-NA-m3”).

[00157] As Figuras 33A e 33B mostram a sequência nucleotídica alterada por códon CS01m2 (SEQ ID NO: 93) que codifica uma variante do Fator VIII com as substituições de aminoácidos do conjunto de mutações m2 (I105V/A127S/G151K/M166T/L171P (SPI)) de acordo com algumas modalidades (“CS01-FL-NA-m2”).

[00158] As Figuras 34A e 34B mostram a sequência nucleotídica alterada por códon CS04m2 (SEQ ID NO: 94) que codifica uma variante do Fator VIII com as substituições de aminoácidos das mutações m2 (I105V/A127S/G151K/M166T/L171P (SPI)) de acordo com algumas modalidades (“CS01-FL-NA-m2”).

[00159] As Figuras 35A e 35B mostram a sequência nucleotídica alterada por códon CS04m3 (SEQ ID NO: 95) que codifica uma variante do Fator VIII com substituições de aminoácidos m3 de acordo com algumas modalidades (“CS04-FL-NA-m3”).

[00160] As Figuras 36A e 36B mostram a sequência nucleotídica alterada por códon CS04m23 (SEQ ID NO: 96) que codifica uma variante do Fator VIII com o conjunto de mutações m2 (I105V/A127S/G151K/M166T/L171P (SPI)) e substituições de aminoácido m3 de acordo com algumas modalidades (“CS04-FL-NA-m23”).

[00161] As Figuras 37A e 37B mostram a sequência nucleotídica alterada por códon CS04m1 (SEQ ID NO: 97) que codifica uma variante do Fator VIII com uma substituição de aminoácidos m1 (F328S) de acordo com algumas modalidades (“CS04-FL-NA-m1”).

[00162] As Figuras 38A e 38B mostram a sequência nucleotídica

alterada por códon CS04m13 (SEQ ID NO: 98) que codifica uma variante do Fator VIII com substituições de aminoácidos m1 e m3 de acordo com algumas modalidades (“CS04-FL-NA-m13”)

[00163] As Figuras 39A e 39B mostram a sequência nucleotídica alterada por códon CS23m13 (SEQ ID NO: 99) que codifica uma variante do Fator VIII com substituições de aminoácidos m1 e m3 de acordo com algumas modalidades (“CS23m13-FL-NA”).

[00164] As Figuras 40A e 40B mostram a sequência nucleotídica alterada por códon CS23m3 (SEQ ID NO: 100) que codifica uma variante do Fator VIII com substituições de aminoácidos m3 de acordo com algumas modalidades (“CS23-FL-NA-m3”)

[00165] As Figuras 41A e 41B mostram a sequência nucleotídica alterada do códon CS23m2 (SEQ ID NO: 101) codificando uma variante do Fator VIII com o conjunto mutante m2 (substituições de aminoácidos I105V/A127S/G151K/M166T/L171P) de acordo com algumas modalidades (“CS23-FL-NA-m2”).

[00166] As Figuras 42A e 42B mostram a sequência nucleotídica alterada por códon CS23m1 (SEQ ID NO: 102) que codifica uma variante do Fator VIII com uma substituição de aminoácidos (F328S) de acordo com algumas modalidades (“CS23-FL-NA-m1”).

[00167] As Figuras 43A e 43B mostram a sequência nucleotídica alterada por códon CS23m23 (SEQ ID NO: 103) que codifica uma variante do Fator VIII com o conjunto de mutações m2 (I105V/A127S/G151K/M166T/L171P (SPI)) e substituições de aminoácido m3 de acordo com algumas modalidades (“CS23-FL-NA-m23”).

[00168] A Figura 44 descreve a clonagem dos construtos de pCS, feitas através da inserção de BDD-FVIII sintético do tipo Refacto, transportando diferentes mutações (ver tabela inserida) na estrutura principal do vetor pCh-BB01 através dos locais de restrição AscI e NotI.

[00169] A Figura 45 representa a análise de proteínas de preparações de vetores de AAV por PAGE e coloração com prata. Pista 1, marcador proteico (M); pista 2, vCS01, pista 3, vCS17; pista 4, vCS19; pista 5, vCS20; pista 6, vCS40; pista 7, vCS04; pista 8, vCS17; pista 9, construto vCS24. Todos os construtos possuem os mesmos capsídeos AAV8 consistindo em VP1, VP2 e VP3 (setas do lado direito). A escala no lado esquerdo indica o tamanho do marcador de proteína em quilodaltons (kDa).

[00170] A Figura 46 representa a integridade das preparações do genoma do vetor AAV, conforme analisado por electroforese em gel de agarose. Pista 1, marcador de DNA (M); pista 2, vCS04, pista 3, vCS17; pista 4, vCS20; pista 5, vCS24; pista 6, vCS16; pista 7, construto vCS40. A carga vetorial é de $1,5 \times 10^{10}$ vg por pista. Os vetores de AAV possuem os genomas do mesmo tamanho, migrando a aproximadamente 5 kb (seta, lado direito). A escala do lado esquerdo indica o tamanho dos fragmentos de DNA em quilobases (kb).

[00171] A Figura 47 mostra a porção da sequência nucleotídica alterada por códon CS01 (SEQ ID NO: 24) que codifica a cadeia pesada de uma variante do Fator VIII de acordo com algumas modalidades (“CS01-HC-NA”).

[00172] A Figura 48 mostra a porção da sequência nucleotídica alterada por códon CS01 (SEQ ID NO: 25) que codifica a cadeia leve de uma variante do Fator VIII de acordo com algumas modalidades (“CS01-LC-NA”).

[00173] As Figuras 49A e 49B mostram a sequência nucleotídica CS01 Δ (760-1667) (SPI; CS01 Δ (741-1648), SPE) alterada por códon (SEQ ID NO: 26) codificando uma variante de cadeia simples de Fator VIII de acordo com algumas modalidades (“CS01-SC1-NA”).

[00174] As Figuras 50A e 50B mostram a sequência nucleotídica CS01 Δ (772-1667) (SPI; CS01 Δ (753-1648), SPE) alterada por códon (SEQ ID

NO: 27) codificando uma variante de cadeia simples de Fator VIII de acordo com algumas modalidades ("CS01-SC2-NA").

[00175] As Figuras 51A e 51B mostram a sequência nucleotídica CS23Δ(760-1667) (SPI; CS23Δ(741-1648), SPE) alterada por códon (SEQ ID NO: 28) codificando uma variante de cadeia simples de Fator VIII de acordo com algumas modalidades ("CS23-SC1-NA").

[00176] As Figuras 52A e 52B mostram a sequência nucleotídica CS23Δ(772-1667) (SPI; CS23Δ(753-1648), SPE) alterada por códon (SEQ ID NO: 29) codificando uma variante de cadeia simples de Fator VIII de acordo com algumas modalidades ("CS23-SC2-NA").

[00177] A Figura 53 mostra a sequência de aminoácidos da variante do Fator VIII (SEQ ID NO: 104) codificada pela sequência de nucleotídeos alterada pelo códon CS01m23 de acordo com algumas modalidades ("CS01m23-FL-AA").

[00178] A Figura 54 mostra a sequência de aminoácidos da variante do Fator VIII (SEQ ID NO: 105) codificada pela sequência de nucleotídeos alterada pelo códon CS04m3 de acordo com algumas modalidades ("CS01m23-FL-AA").

[00179] A Figura 55 mostra a sequência de aminoácidos da variante do Fator VIII (SEQ ID NO: 106) codificada pela sequência de nucleotídeos alterada pelo códon CS01m12 de acordo com algumas modalidades ("CS01m12-FL-AA").

[00180] A Figura 56 mostra a sequência de aminoácidos da variante do Fator VIII (SEQ ID NO: 107) codificada pela sequência de nucleotídeos alterada pelo códon CS04m12 de acordo com algumas modalidades ("CS04m12-FL-AA").

[00181] As Figuras 57A e 57B mostram a sequência nucleotídica alterada por códon CS01m12 (SEQ ID NO: 108) que codifica uma variante do Fator VIII com substituições de m1 (F328S) e m2 de aminoácidos de acordo

com algumas modalidades (“CS01-FL-NA_m12”).

[00182] As Figuras 58A e 58B mostram a sequência nucleotídica alterada por códon CS04_m12 (SEQ ID NO: 109) que codifica uma variante do Fator VIII com substituições de _m1 (F328S) e _m2 de aminoácidos de acordo com algumas modalidades (“CS04-FL-NA_m12”).

DESCRIÇÃO DETALHADA DA DIVULGAÇÃO

I. Introdução

[00183] A terapia genética baseada em AAV é uma grande promessa para o tratamento de hemofílicos. Para a hemofilia B, os primeiros dados clínicos são encorajadores em que níveis FIX de cerca de 10% podem ser mantidos em pelo menos alguns pacientes por mais de um ano. Para a hemofilia A, no entanto, alcançar níveis de expressão terapêutica de 5-10% com os vetores de AAV permanece desafiador por várias razões. Primeiro, a sequência de codificação do Fator VIII é muito grande para os vetores convencionais baseados em AAV. Em segundo lugar, os construtos manipulados do Fator VIII deletados ou truncados no domínio B sofrem de fraca expressão in vivo, mesmo quando se otimiza o códon. Em terceiro lugar, estes construtos variantes do Fator VIII suprimidos ou truncados no domínio B têm meias-vidas curtas in vivo, exacerbando os efeitos da expressão fraca. Quarto, mesmo quando expresso, o FVIII não é eficientemente secretado pelas células, assim como outros fatores de coagulação, como o Fator IX.

[00184] Além disso, esses desafios não podem ser resolvidos pela simples administração de doses mais altas do construto de terapia gênica. De acordo com o conhecimento atual, a dose vetorial de um vetor de terapia gênica baseada em AAV deve ser aumentada acima de 2×10^{12} vg/kg de peso corporal. Isto porque, em doses tão elevadas, desencadeia-se uma resposta imunitária de células T, que destrói as células transduzidas e, como consequência, a expressão do transgene é reduzida ou mesmo eliminada. Portanto, estratégias para melhorar a expressão de FVIII são necessárias para

tornar a terapia gênica com FVIII uma opção terapêutica viável para pacientes com hemofilia A.

[00185] A presente divulgação refere-se à descoberta de sequências codificantes variantes do Fator VIII alteradas por códons que resolvem estes e outros problemas associados à terapia gênica do Fator VIII. Por exemplo, os polinucleotídeos divulgados neste documento fornecem uma expressão marcadamente melhorada em células de mamífero e exibem um melhor empacotamento de vírions devido a interações de empacotamento estabilizadas. Em algumas implementações, essas vantagens são realizadas usando sequências de codificação para as cadeias pesada e leve do Fator VIII com alta identidade de sequência para os construtos CS01, CS04 e CS23 alterados por códon (por exemplo, com alta identidade de sequência para uma das CS01-HC, Sequências de codificação da cadeia pesada CS04-HC e CS23-HC e elevada identidade de sequências com uma das sequências codificadoras da cadeia leve CS01-LC, CS04-LC e CS23-LC).

[00186] Em algumas implementações, as moléculas do Fator VIII codificadas pelos polinucleotídeos descritos neste documento foram encurtadas por truncagem, eliminação ou substituição do domínio B de tipo selvagem. Como tal, os polinucleotídeos são mais adequados para expressar o Fator VIII através de vetores de terapia gênica convencionais, que expressam ineficazmente polipeptídeos maiores, tais como o Fator VIII de tipo selvagem.

[00187] Vantajosamente, é aqui mostrado que as sequências de codificação da variante do Fator VIII alteradas pelo códon CS01, CS04 e CS23 fornecem expressão superior de um construto do Fator VIII deletado no domínio B in vivo. Por exemplo, é demonstrado no Exemplo 2 e Exemplo que a administração intravenosa de vetores de terapia gênica baseados em AAV possuindo a sequência CS01 (SEQ ID NO: 13), CS04 (SEQ ID NO: 1) e CS23 (SEQ ID NO: 20) de codificação fornece um aumento de 18 vezes, 74 vezes e 30 vezes na expressão do Fator VIII, em relação ao construto CS40

correspondente codificada com a sequência polinucleotídica do tipo selvagem (SEQ ID NO: 17), em camundongos knock-out do Fator VIII (**Tabela e Tabela**).

[00188] Além disso, também se mostrou neste documento que as sequências codificadoras da variante do Fator VIII CS01 e CS04 alteram o empacotamento do vírion e a produção de vírus. Por exemplo, é demonstrado em Exemplo 1 que os construtos de vetor AAV contendo os construtos CS01 e CS04 forneceram 5 a 7 vezes mais rendimento viral, em relação ao construto CS40 correspondente codificado com a sequência de polinucleotídeo de tipo selvagem, quando isolado da mesma quantidade de sedimento celular.

[00189] Vantajosamente, os Depositantes também descobriram que a atividade melhorada do Fator VIII gerada a partir das sequências alteradas do códon CS01, CS04 e CS23 podem ainda ser potencializadas introduzindo na sequência polipeptídica subjacente do Fator VIII. Por exemplo, como demonstrado em Exemplo , as mutações F328S, X5 e X1, sozinhas e em combinação umas com as outras, aumentaram ainda mais a atividade de FVIII quando expressas in vivo no códon CS01 ou CS04 de fundo alterado 2 a 7 vezes, em relação aos construtos alteradas por códon (**Tabela**). Mais surpreendentemente, estas sequências codificadas alteradas, codificando os mutantes do Fator VIII, forneceram um aumento de mais 246 vezes em comparação com a construto CS40 correspondente codificada com a sequência polinucleotídica de tipo selvagem (**Tabela**).

II. Definições

[00190] Como usado neste documento, os seguintes termos têm o significado atribuído a eles menos que especificado de outra forma.

[00191] Como usado neste documento, os termos "Fator VIII" e "FVIII" são usados de forma intercambiável, e referem-se a qualquer proteína com atividade de Fator VIII (por exemplo, FVIII ativo, frequentemente

referido como FVIIIa) ou precursor de proteína (por exemplo, pró-proteína ou pré-pró-proteína) de uma proteína com atividade de Fator VIII, particularmente atividade do cofator do Fator IXa. Numa modalidade exemplificativa, um polipeptídeo de Fator VIII refere-se a um polipeptídeo que tem sequências com elevada identidade de sequência (por exemplo, pelo menos 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou mais) para as cadeias pesadas e leves de um polipeptídeo de Fator VIII do tipo selvagem. Em algumas modalidades, o domínio B de um polipeptídeo de Fator VIII é deletado, truncado ou substituído por um polipeptídeo ligante para reduzir o tamanho do polinucleotídeo que codifica o polipeptídeo de Fator VIII. Numa modalidade exemplificativa, os aminoácidos 20-1457 da SEQ ID NO: 2 constituem um polipeptídeo de Fator VIII.

[00192] Exemplos não limitativos de polipeptídeos do Fator VIII de tipo selvagem incluem o pré-pro-Fator VIII humano (por exemplo, no nos de acesso do GenBank. AAA52485, CAA25619, AAA58466, AAA52484, AAA52420, AAV85964, BAF82636, BAG36452, CAI41660, CAI41666, CAI41672, CAI43241, CAO03404, EAW72645, AAH22513, AAH64380, AAH98389, AAI11968, AAI11970, ou AAB61261), pró-Fator VIII correspondente, e variantes naturais do mesmo; pré-pró-Fator VIII suíno (por exemplo, nos números de acesso UniProt. F1RZ36 ou K7GSZ5), correspondentes ao pró-Fator VIII e variantes naturais do mesmo; pré-pró-fator VIII de camundongo (p. ex., nº de acesso do GenBank. AAA37385, CAM15581, CAM26492, ou EDL29229), correspondente ao pró-Fator VIII, e variantes naturais do mesmo; pré-pró-Fator VIII de rato (por exemplo, acesso GenBank no. AAQ21580), correspondente ao pró-Fator VIII, e variantes naturais do mesmo; pré-pró-Fator VIII de rato; e outros homólogos do Fator VIII de mamífero (por exemplo, macaco, macaco, hamster, porquinho da índia, etc.).

[00193] Como utilizado neste documento, um polipeptídeo de Fator

VIII inclui variantes naturais e construtos artificiais com atividade de cofator do Fator IX. Como utilizado na presente divulgação, o Fator VIII abrange quaisquer variantes naturais, sequências alternativas, isoformas ou proteínas mutantes que retenham alguma atividade de cofator do Fator IX basal (por exemplo, pelo menos 5%, 10%, 25%, 50%, 75%, ou mais da atividade de tipo selvagem correspondente). Exemplos de variações de aminoácidos do Fator VIII (em relação a FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19)) encontrados na população humana incluem, sem limitação, S19R, R22T, Y24C, Y25C, L26P/R, E30V, W33G, Y35C/H, G41C, R48C/K, K67E/N, L69P, E72K, D75E/V/Y, P83R, G89D/V, G92A/V, A97P, E98K, V99D, D101G/H/V, V104D, K108T, M110V, A111T/V, H113R/Y, L117F/R, G121S, E129V, G130R, E132D, Y133C, D135G/Y, T137A/I, S138R, E141K, D145H, V147D, Y155H, V159A, N163K, G164D/V, P165S, C172W, S176P, S179P, V181E/M, K185T, D186G/N/Y, S189L, L191F, G193R, L195P, C198G, S202N/R, F214V, L217H, A219D/T, V220G, D222V, E223K, G224W, T252I, V253F, N254I, G255V, L261P, P262L, G263S, G266F, C267Y, W274C, H275L, G278R, G280D, E284K, V285G, E291G/K, T294I, F295L, V297A, N299I, R301C/H/L, A303E/P, I307S, S308L, F312S, T314A/I, A315V, G323E, L326P, L327P/V, C329F, I331V, M339T, E340K, V345A/L, C348R/S/Y, Y365C, R391C/H/P, S392L/P, A394S, W401G, I405F/S, E409G, W412G/R, K427I, L431F/S, R437P/W, I438F, G439D/S/V, Y442C, K444R, Y450D/N, T454I, F455C, G466E, P470L/R/T, G474E/R/V, E475K, G477V, D478N, T479R, F484C, A488G, R490G, Y492C/H, Y492H, I494T, P496R, G498R, R503H, G513S/V, I522Y, K529E, W532G, P540T, T541S, D544N, R546W, R550C/G/H, S553P, S554C/G, V556D, R560T, D561G/H/Y, I567T, P569R, S577F, V578A, D579A/H, N583S, Q584H/K/R, I585R/T, M586V, D588G/Y, L594Q, S596P, N601D/K, R602G, S603I/R, W604C, Y605H/S, N609I, R612C, N631K/S, M633I, S635N, N637D/I/S, Y639C, L644V, L650F, V653A/M, L659P, A663V, Q664P, F677L, M681I,

V682F, Y683C/N, T686R, F698L, M699T/V, M701I, G705V, G710W, N713I, R717L/W, G720D/S, M721I/L, A723T, L725Q, V727F, E739K, Y742C, R795G, P947R, V1012L, E1057K, H1066Y, D1260E, K1289Q, Q1336K, N1460K, L1481P, A1610S, I1698T, Y1699C/F, E1701K, Q1705H, R1708C/H, T1714S, R1715G, A1720V, E1723K, D1727V, Y1728C, R1740G, K1751Q, F1762L, R1768H, G1769R, L1771P, L1775F/V, L1777P, G1779E/R, P1780L, I1782R, D1788H, M1791T, A1798P, S1799H, R1800C/G/H, P1801A, Y1802C, S1803Y, F1804S, L1808F, M1842I, P1844S, T1845P, E1848G, A1853T/V, S1858C, K1864E, D1865N/Y, H1867P/R, G1869D/V, G1872E, P1873R, L1875P, V1876L, C1877R/Y, L1882P, R1888I, E1894G, I1901F, E1904D/K, S1907C/R, W1908L, Y1909C, A1939T/V, N1941D/S, G1942A, M1945V, L1951F, R1960L/Q, L1963P, S1965I, M1966I/V, G1967D, S1968R, N1971T, H1973L, G1979V, H1980P/Y, F1982I, R1985Q, L1994P, Y1998C, G2000A, T2004R, M2007I, G2013R, W2015C, R2016P/W, E2018G, G2022D, G2028R, S2030N, V2035A, Y2036C, N2038S, 2040Y, G2045E/V, I2051S, I2056N, A2058P, W2065R, P2067L, A2070V, S2082N, S2088F, D2093G/Y, H2101D, T2105N, Q2106E/P/R, G2107S, R2109C, I2117F/S, Q2119R, F2120C/L, Y2124C, R2135P, S2138Y, T2141N, M2143V, F2145C, N2148S, N2157D, P2162L, R2169C/H, P2172L/Q/R, T2173A/I, H2174D, R2178C/H/L, R2182C/H/P, M2183R/V, L2185S/W, S2192I, C2193G, P2196R, G2198V, E2200D, I2204T, I2209N, A2211P, A2220P, P2224L, R2228G/L/P/Q, L2229F, V2242M, W2248C/S, V2251A/E, M2257V, T2264A, Q2265R, F2279C/I, I2281T, D2286G, W2290L, G2304V, D2307A, P2319L/S, R2323C/G/H/L, R2326G/L/P/Q, Q2330P, W2332R, I2336F, R2339T, G2344C/D/S e C2345S/Y. As proteínas do Fator VIII também incluem polipeptídeos contendo modificações pós-tradução.

[00194] Geralmente, os polinucleotídeos que codificam o Fator VIII codificam para um polipeptídeo de cadeia simples inativa (por exemplo, uma

pré-pró-proteína) que sofre processamento pós-tradução para formar uma proteína Fator VIII ativa (por exemplo, FVIIIa). Por exemplo, referindo-se à Figura 1, a pré-pro-proteína do Fator VIII humano do tipo selvagem é primeiro clivada para liberar o peptídeo sinal codificado (não mostrado), formando uma primeira pró-proteína de cadeia simples (mostrada como “tipo selvagem humano” FVIII). A pró-proteína é então clivada entre os domínios B e A3 para formar um primeiro polipeptídeo que inclui a cadeia pesada do Fator VIII (por exemplo, os domínios A1 e A2) e o domínio B, e um segundo polipeptídeo que inclui a cadeia leve do Fator VIII (por exemplo, incluindo os domínios A3, C1 e C3). O primeiro polipeptídeo é adicionalmente clivado para remover o domínio B, e também para separar os domínios A1 e A2, que permanecem associados à cadeia leve do Fator VIII na proteína do Fator VIIIa maduro. Para revisão do processo de maturação do Fator VIII, ver Graw et al., *Nat Rev Genet.*, 6 (6): 488-501 (2005), cujo conteúdo é incorporado neste documento por referência na sua totalidade para todos os fins.

[00195] No entanto, em algumas modalidades, o polipeptídeo de Fator VIII é um polipeptídeo de Fator VIII de cadeia simples. Os polipeptídeos do Fator VIII de cadeia simples são manipulados para remover locais de clivagem natural e, opcionalmente, remover, truncar ou substituir o domínio B do Fator VIII. Como tal, eles não são amadurecidos por clivagem (além da clivagem de um sinal opcional e/ou peptídeo líder) e são ativos como uma cadeia simples. Exemplos não limitantes de polipeptídeos do Fator VIII de cadeia simples são descritos em Zollner et al. (*Thromb Res*, 134 (1): 125-31 (2014)) e Donath et al. (*Biochem J.*, 312 (1): 49-55 (1995)), cujas divulgações são incorporadas neste documento por referência na sua totalidade para todos os fins.

[00196] Como utilizado neste documento, os termos "cadeia pesada do Fator VIII", ou simplesmente "cadeia pesada", referem-se ao agregado dos domínios A1 e A2 de um polipeptídeo de Fator VIII. Numa modalidade

exemplificativa, os aminoácidos 20-759 de CS04-FL-AA (SEQ ID NO: 2) constituem uma cadeia pesada de Fator VIII.

[00197] Como utilizado neste documento, o termo "cadeia leve do Fator VIII", ou simplesmente "cadeia leve", refere-se ao agregado dos domínios A3, C1 e C2 de um polipeptídeo de Fator VIII. Numa modalidade exemplificativa, os aminoácidos 774-1457 CS04-FL-AA (SEQ ID NO: 2) constitui uma cadeia leve do Fator VIII. Em algumas modalidades, uma cadeia leve do Fator VIII exclui o peptídeo ácido a3, que é liberado durante a maturação in vivo.

[00198] Geralmente, as cadeias pesadas e leves do Fator VIII são expressas como uma única cadeia polipeptídica, por exemplo, juntamente com um ligante opcional do domínio B ou do domínio B substituído. No entanto, em algumas modalidades, uma cadeia pesada do Fator VIII e uma cadeia leve do Fator VIII são expressas como cadeias polipeptídicas separadas (por exemplo, coexpressas) e reconstituídas para formar uma proteína Fator VIII (por exemplo, in vivo ou in vitro).

[00199] Como usado neste documento, os termos "ligante substituído no domínio B" e "Ligante Fator VIII" são usados de forma intercambiável, e referem-se a versões truncadas de um domínio B do Fator VIII do tipo selvagem (por exemplo, aminoácidos 760-1667 de FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19)) ou peptídeos manipulados para substituir o domínio B de um polipeptídeo de Fator VIII. Como utilizado neste documento, um ligante do Fator VIII está posicionado entre o terminal C de uma cadeia pesada do Fator VIII e o terminal N de uma cadeia leve do Fator VIII num polipeptídeo variante do Fator VIII de acordo com algumas modalidades. Exemplos não limitantes de ligantes substituídos no domínio B estão descritos nas Patentes US nº. 4.868.112, 5.112.950, 5.171.844, 5.543.502, 5.595.886, 5.610.278, 5.789.203, 5.972.885, 6.048.720, 6.060.447, 6.114.148, 6.228.620, 6.316.226, 6.346.513, 6.458.563, 6.924.365, 7.041.635 e 7.943.374; Publicação do

Pedido de Patente US nº 2013/024960, 2015/0071883 e 2015/0158930; e Publicação PCT nº WO 2014/064277 e WO 2014/127215, cujas divulgações são incorporadas neste documento por referência, na íntegra, para todos os fins.

[00200] A menos que especificado neste documento de outro modo, a numeração de aminoácidos do Fator VIII refere-se ao aminoácido correspondente na sequência do Fator VIII humano de tipo selvagem de comprimento total (FVIII-FL-AA), apresentada como SEQ ID NO: 19 na Figura 22. Como tal, quando se refere a uma substituição de aminoácidos numa proteína variante do Fator VIII divulgada neste documento, o número de aminoácidos referido refere-se ao análogo (por exemplo, estruturalmente ou funcionalmente equivalente) e/ou homólogo (por exemplo, evolutivamente conservado no aminoácido primário sequência) aminoácido na sequência do Fator VIII de tipo selvagem completa. Por exemplo, uma substituição de aminoácido T2105N refere-se a uma substituição de T para N na posição 2105 da sequência de Fator VIII humana de tipo selvagem completa (FVIII-FL-AA; SEQ ID NO: 19), uma substituição de T para N na posição 1211 da proteína variante do Fator VIII codificada por CS04 (CS04-FL-AA; SEQ ID NO: 2) e uma substituição de T para N na posição 1212 da variante do Fator VIII codificada por CS04m3 (CS04m3-FL-AA; SEQ ID NO: 105).

[00201] Como descrito neste documento, o sistema numérico de aminoácidos do Fator VIII depende da inclusão do peptídeo de sinalização do Fator VIII (por exemplo, aminoácidos 1-19 da sequência do Fator VIII humano de tipo selvagem completo). Quando o peptídeo de sinal é incluído, a numeração referida como "peptídeo de sinal inclusivo" ou "SPI". Quando o peptídeo sinal não está incluído, a numeração é chamada de "peptídeo de sinal exclusivo" ou "SPE". Por exemplo, F328S é a numeração SPI para o mesmo aminoácido que F309S, na numeração SPE. Salvo indicação em contrário, toda a numeração de aminoácidos refere-se ao aminoácido correspondente na

sequência do Fator VIII humano de tipo selvagem de comprimento total (FVIII-FL-AA), apresentada como SEQ ID NO: 19 na Figura 22.

[00202] Como descrito neste documento, os polinucleotídeos alterados por códons fornecem uma expressão aumentada do Fator VIII transgênico in vivo (por exemplo, quando administrados como parte de um vetor de terapia gênica), em comparação com o nível de expressão do Fator VIII fornecido por um construto de Fator VIII codificada de forma nativa (por exemplo, um polinucleotídeo que codifica o mesmo construto do Fator VIII utilizando os códons humanos do tipo selvagem). Como utilizado neste documento, o termo "expressão aumentada" refere-se a um nível aumentado de atividade do Fator VIII transgênico no sangue de um animal administrado com o polinucleotídeo alterado de códons codificando Fator VIII, em comparação com o nível de atividade do Fator VIII transgênico no sangue de um animal administrou um construto de Fator VIII codificada de forma nativa. Os níveis de atividade podem ser medidos utilizando qualquer atividade do Fator VIII conhecida na técnica. Um ensaio exemplificativo para determinar a atividade do Fator VIII é o ensaio Technochrome FVIII (Technoclone, Viena, Áustria).

[00203] Em algumas modalidades, expressão aumentada refere-se a atividade pelo menos 25% maior do Fator VIII transgênico no sangue de um animal administrado o polinucleotídeo do Fator VIII alterado pelo códon, em comparação com o nível de atividade do Fator VIII transgênico no sangue de um animal administrado com polinucleotídeo do Fator VIII codificado de forma nativa. Em algumas modalidades, expressão aumentada refere-se a pelo menos 50% maior, pelo menos 75% maior, pelo menos 100% maior, pelo menos 3 vezes maior, pelo menos 4 vezes maior, pelo menos 5 vezes maior, pelo menos 6 dobrar maior, pelo menos 7 vezes maior, pelo menos 8 vezes maior, pelo menos 9 vezes maior, pelo menos 10 vezes maior, pelo menos 15 vezes maior, pelo menos 20 vezes maior, pelo menos 25- dobrar maior, pelo menos 30 vezes maior, pelo menos 40 vezes maior, pelo menos 50 vezes

maior, pelo menos 60 vezes maior, pelo menos 70 vezes maior, pelo menos 80 vezes maior, pelo menos 90 vezes maior, pelo menos 100 vezes maior, pelo menos 125 vezes maior, pelo menos 150 vezes maior, pelo menos 175 vezes maior, pelo menos 200 vezes maior, pelo menos 225 vezes maior, ou pelo menos 250 vezes maior atividade do Fator VIII transgênico no sangue de um animal que recebeu o polinucleotídeo do Fator VIII alterado pelo códon, em comparação com o nível de atividade do fator VIII transgênico no sangue de um animal administrado com polinucleotídeo do Fator VIII.

[00204] Como descrito neste documento, os polinucleotídeos alterados por códons fornecem produção de vetor aumentada, em comparação com o nível de produção de vetor fornecido por um construto de Fator VIII codificada de forma nativa (por exemplo, um polinucleotídeo codificando o mesmo construto do Fator VIII utilizando códons humanos de tipo selvagem). Tal como utilizado neste documento, o termo “produção aumentada de vírus” refere-se a um rendimento de vetor aumentado em cultura de células (por exemplo, título por litro de cultura) inoculado com o polinucleotídeo alterado codificando o Fator VIII, em comparação com o rendimento do vetor em cultura celular inoculada com um construto do Fator VIII codificado de forma nativa. Os rendimentos do vetor podem ser medidos utilizando qualquer ensaio de título de vetor conhecido na técnica. Um ensaio exemplificativo para determinar o rendimento do vetor (por exemplo, de um vetor AAV) é qPCR direcionado para as repetições terminais invertidas AAV2 (Aurnhammer, Human Gene Therapy Methods: Part B 23: 18-28 (2012)).

[00205] Em algumas modalidades, a produção aumentada de vírus refere-se a rendimento pelo menos 25% maior de vetor alterado por códons, quando comparado com o rendimento de um construto de Fator VIII codificada de forma nativa no mesmo tipo de cultura. Em algumas modalidades, o aumento da produção de vetores refere-se a pelo menos 50% maior, pelo menos 75% maior, pelo menos 100% maior, pelo menos 3 vezes

maior, pelo menos 4 vezes maior, pelo menos 5 vezes maior Número 6 vezes maior, pelo menos 7 vezes maior, pelo menos 8 vezes maior, pelo menos 9 vezes maior, pelo menos 10 vezes maior, pelo menos 15 vezes maior ou pelo menos 20 vezes maior vector rendimento, em comparação com o rendimento de um construto do Fator VIII codificada de forma nativa no mesmo tipo de cultura.

[00206] Como utilizado neste documento, o termo "hemofilia" refere-se a um grupo de estados patológicos amplamente caracterizados por coagulação ou coagulação sanguínea reduzida. A hemofilia pode se referir à hemofilia do Tipo A, Tipo B ou Tipo C, ou ao composto de todos os três tipos de doenças. A hemofilia tipo A (hemofilia A) é causada por uma redução ou perda de atividade do Fator VIII (FVIII) e é o mais proeminente dos subtipos de hemofilia. A hemofilia do tipo B (hemofilia B) resulta da perda ou redução do fator IX (FIX) função de coagulação. A hemofilia do tipo C (hemofilia C) é uma consequência da perda ou redução da atividade de coagulação do fator XI (FXI). A hemofilia A e B são doenças ligadas ao cromossomo X, enquanto a hemofilia C é autossômica. Os tratamentos convencionais para hemofilia incluem administração profilática e sob demanda de fatores de coagulação, como o FVIII, FIX, incluindo Bebulin® – VH e FXI, bem como infusões de FEIBA-VH, desmopressina e plasma.

[00207] Como utilizado neste documento, o termo terapia gênica com FVIII inclui qualquer abordagem terapêutica de fornecer um ácido nucleico codificando Fator VIII a um paciente para aliviar, diminuir ou prevenir a recorrência de um ou mais sintomas (por exemplo, fatores clínicos) associados à hemofilia. O termo abrange a administração de qualquer composto, droga, procedimento ou regime compreendendo um ácido nucleico que codifica uma molécula de Fator VIII, incluindo qualquer forma modificada do Fator VIII (por exemplo, variante do Fator VIII), para manter ou melhorar a saúde de um indivíduo com hemofilia. Um versado na técnica

apreciará que o curso da terapia com FVIII ou a dose de um agente terapêutico com FVIII pode ser alterada, por exemplo, com base nos resultados obtidos de acordo com a presente divulgação.

[00208] Como utilizado neste documento, o termo "terapia de bypass" inclui qualquer abordagem terapêutica de fornecer agentes hemostáticos, compostos ou fatores de coagulação sem Fator VIII a um paciente para aliviar, diminuir ou prevenir a recorrência de um ou mais sintomas (por exemplo, fatores clínicos) associados à hemofilia. Os compostos que não são do Fator VIII e os fatores de coagulação incluem, mas não estão limitados a, Atividade de Bypass do Inibidor do Fator VIII (FEIBA), fator ativado recombinante VII (FVIIa), concentrados de complexos de protrombina e concentrados de complexos de protrombina ativados. Estes compostos que não são do Fator VIII e fatores de coagulação podem ser recombinantes ou derivados do plasma. Um versado na técnica apreciará que o curso da terapia com bypass ou a dose de terapia com bypass pode ser alterada, por exemplo, com base nos resultados obtidos de acordo com a presente divulgação.

[00209] Como utilizado neste documento, uma "terapia de combinação" incluindo administração de um ácido nucleico codificando uma molécula de Fator VIII e um agente terapêutico de hemofilia A convencional inclui qualquer abordagem terapêutica de fornecer um ácido nucleico codificando uma molécula de Fator VIII e uma molécula de Fator VIII e/ou agente hemostático não-Fator VIII (por exemplo, agente terapêutico de bypass) a um paciente para aliviar, diminuir ou prevenir a recorrência de um ou mais sintomas (por exemplo, fatores clínicos) associados à hemofilia. O termo abrange a administração de qualquer composto, droga, procedimento ou regime incluindo um ido nucleico que codifica uma molécula de Fator VIII, incluindo qualquer forma modificada de Fator VIII, que seja útil para manter ou melhorar a saúde de um indivíduo com hemofilia e inclua qualquer dos agentes terapêuticos descritos neste documento.

[00210] Os termos "quantidade ou dose terapeuticamente eficaz" ou "quantidade ou dose terapeuticamente suficiente" ou "quantidade ou dose eficaz ou suficiente" referem-se a uma dose que produz efeitos terapêuticos para os quais é administrada. Por exemplo, uma quantidade terapeuticamente eficaz de uma droga útil para o tratamento da hemofilia pode ser a quantidade que é capaz de prevenir ou aliviar um ou mais sintomas associados à hemofilia. A dose exata vai depender da finalidade do tratamento e vai ser determinável por um versado na técnica usando técnicas conhecidas (*ver, por exemplo*, Lieberman, *Pharmaceutical Dosage Forms* (vols. 1-3, 1992); Lloyd, *The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding* (1999); Pickar, *Dosage Calculations* (1999); e *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, 20ª Edição, 2003, Gennaro, Ed., Lippincott, Williams & Wilkins).

[00211] Como utilizado neste documento, o termo "gene" refere-se ao segmento de um DNA molécula que codifica uma cadeia polipeptídica (por exemplo, a região codificante). Em algumas modalidades, um gene é posicionado por regiões imediatamente precedendo, seguindo e/ou intervindo na região de codificação que estão envolvidas na produção da cadeia polipeptídica (por exemplo, elementos reguladores tais como um promotor, potencializador, sequência de poliadenilação, região não traduzida 5', Região 3' não traduzida ou íntron).

[00212] Como utilizado neste documento, o termo "elementos reguladores" refere-se a sequências nucleotídicas, tais como promotores, intensificadores, terminadores, sequências de poliadenilação, íntrons, etc., que fornecem a expressão de uma sequência de codificação numa célula.

[00213] Como utilizado neste documento, o termo "elemento promotor" refere-se a uma sequência nucleotídica que ajuda a controlar a expressão de uma sequência codificadora. Geralmente, os elementos promotores estão localizados 5' do local de início da tradução de um gene.

Contudo, em certas modalidades, um elemento promotor pode estar localizado dentro de uma sequência íntron, ou 3' da sequência de codificação. Em algumas modalidades, um promotor útil para um vetor de terapia gênica é derivado do gene nativo da proteína alvo (por exemplo, um promotor do Fator VIII). Em algumas modalidades, um promotor útil para um vetor de terapia gênica é específico para expressão numa célula ou tecido particular do organismo alvo (por exemplo, um promotor específico do fígado). Ainda noutras modalidades, utiliza-se um de uma pluralidade de elementos promotores bem caracterizados num vetor de terapia gênica descrito neste documento. Exemplos não limitativos de elementos promotores bem caracterizados incluem o promotor precoce de CMV, o promotor de β -actina e o promotor de proteína de ligação a CpG de metil 2 (MeCP2). Em algumas modalidades, o promotor é um promotor constitutivo, que conduz a expressão substancialmente constante da proteína alvo. Noutras modalidades, o promotor é um promotor induzível, que dirige a expressão da proteína alvo em resposta a um estímulo particular (por exemplo, exposição a um agente ou tratamento particular). Para uma revisão da concepção de promotores para terapia gênica mediada por AAV, ver Gray et al. (Human Gene Therapy 22: 1143-53 (2011)), cujos conteúdos são expressamente incorporados por referência na sua totalidade para todos os fins.

[00214] Como utilizado neste documento, o termo "vetor" refere-se a qualquer veículo usado para transferir um ácido nucleico (por exemplo, codificando um construto de terapia gênica de Fator VIII) para uma célula hospedeira. Em algumas modalidades, um vetor inclui um replicon, que funciona para replicar o veículo, juntamente com o ácido nucleico alvo. Exemplos não limitativos de vetores úteis para terapia gênica incluem plasmídeos, fagos, cosmídeos, cromossomos artificiais e vírus, que funcionam como unidades de replicação autônomas in vivo. Em algumas modalidades, um vetor é um veículo viral para a introdução de um ácido nucleico alvo (por

exemplo, um polinucleotídeo alterado por códon que codifica uma variante do Fator VIII). Muitos vírus eucarióticos modificados úteis para terapia gênica são conhecidos na técnica. Por exemplo, os vírus adeno-associados (AAVs) são particularmente adequados para uso em terapia gênica humana porque os seres humanos são um hospedeiro natural do vírus, os vírus nativos não são conhecidos por contribuir para nenhuma doença e os vírus causam uma resposta imune moderada.

[00215] Como utilizado neste documento, o termo “ilha CpG” refere-se a uma região dentro de um polinucleotídeo possuindo uma densidade estatisticamente elevada de dinucleotídeos CpG. Como utilizado neste documento, uma região de um polinucleotídeo (por exemplo, um polinucleotídeo que codifica uma proteína do Fator VIII alterada por códon) é uma ilha CpG se, ao longo de uma janela de 200 pares de bases: (i) a região tem um teor de GC superior a 50% e (ii) a proporção de dinucleotídeos CpG observados por dinucleotídeos CpG esperados de pelo menos 0,6, como definido pela relação:

$$\frac{N[CpG] * N[length\ of\ window]}{N[C] * N[G]} \geq 0,6.$$

[00216] Para obter informações adicionais sobre métodos para identificar ilhas CpG, *ver* Gardiner-Garden M. et al., J Mol Biol., 196 (2): 261-82 (1987), cujo conteúdo é expressamente incorporado neste documento por referência, na sua totalidade, para todos os fins.

[00217] Como utilizado neste documento, o termo "ácido nucleico" refere-se a desoxirribonucleotídeos ou ribonucleotídeos e polímeros dos mesmos na forma de cadeia simples ou dupla e complementos dos mesmos. O termo engloba ácidos nucleicos contendo análogos de nucleotídeos ou resíduos ou ligações de espinha dorsal modificadas conhecidas, os quais são sintéticos, de ocorrência natural e de ocorrência não natural, que têm propriedades de ligação similares ao ácido nucleico de referência e que são metabolizados de um modo semelhantes aos nucleotídeos de referência.

Exemplos de tais análogos incluem, mas não se limitam a fosforotioatos, fosforamidatos, fosfonatos de metila, fosfonatos de metila quirais, 2-O-metil-ribonucleotídeos e ácidos nucleicos peptídicos (PNAs).

[00218] O termo "aminoácido" se refere a aminoácidos de ocorrência natural e não-natural, incluindo análogos de aminoácidos e miméticos de aminoácidos que funcionam de forma similar aos aminoácidos de ocorrência natural. Aminoácidos de ocorrência natural incluem aqueles codificados pelo código genético, bem como os aminoácidos que são posteriormente modificados, por exemplo, hidroxiprolina, γ -carboxiglutamato e O-fosfoserina. Os aminoácidos de ocorrência natural podem incluir, por exemplo, aminoácidos D e L. Os aminoácidos utilizados neste documento também podem incluir aminoácidos não naturais. Análogos do ácido aminado referem-se aos compostos que possuem a mesma estrutura química básica como um aminoácido que ocorre naturalmente, ou seja, qualquer carbono que está ligado a um hidrogênio, um grupo carboxila, um grupo amino e um grupo R, por exemplo, Homosserina, norleucina, sulfóxido de metionina ou sulfônio metil de metionina. Tais análogos têm grupos R modificados (por exemplo, norleucina) ou estruturas peptídicas modificadas, mas mantêm a mesma estrutura química básica que um aminoácido de ocorrência natural. Miméticos de aminoácido referem-se a compostos químicos que têm uma estrutura que é diferente da estrutura química geral de um aminoácido, mas que funcionam de forma semelhante a um aminoácido que ocorre naturalmente. Os aminoácidos podem ser referidos neste documento pelos seus símbolos de três letras comumente conhecidos ou pelos símbolos de uma letra recomendados pela Comissão de Nomenclatura Bioquímica IUPAC-IUB. Os nucleotídeos, da mesma forma, podem ser referidos por seus códigos de uma letra comumente aceitos.

[00219] As sequências de nucleotídeo que codificam os construtos mutantes do Fator VIII neste documento podem ser idêntica à sequência de

codificação fornecida neste documento ou podem ser uma sequência de codificação diferente em que a sequência, em resultado da redundância ou degeneração do código genético, codifica os mesmos polipeptídeos como as sequências de codificação fornecidas neste documento. Um dos versados na técnica reconhecerá que cada códon em um ácido nucleico (exceto AUG, que é geralmente o único códon para metionina, e TGG, que é geralmente o único códon para triptofano) pode ser modificado para produzir uma molécula funcionalmente idêntica. Assim, cada variação de um ácido nucleico que codifica um polipeptídeo está implícita em cada sequência descrita em relação ao produto de expressão, mas não em relação aos construtos de terapia gênica reais.

[00220] Tal como a sequências de aminoácidos, alguém de conhecimento comum na técnica reconhecerá que substituições, exclusões ou adições individuais a um ácido nucleico ou sequência de peptídeo que altera, adiciona ou exclui um aminoácido individual ou uma pequena porcentagem de aminoácidos na sequência codificada é uma "variante conservativamente modificada", onde a alteração resulta na substituição de um aminoácido por um aminoácido quimicamente semelhante. As tabelas de substituição conservadoras fornecendo aminoácidos funcionalmente semelhantes são conhecidas na técnica. Tais variantes conservativamente modificadas são além de e não excluem variantes polimórficas, homólogos interespecies, e alelos da divulgação.

[00221] As substituições conservativas de aminoácidos fornecendo aminoácidos funcionalmente semelhantes são bem conhecidas na técnica. Dependendo da funcionalidade do aminoácido particular, por exemplo, aminoácidos catalíticos, estruturais ou estericamente importantes, diferentes agrupamentos de aminoácidos podem ser considerados substituições conservativas um pelo outro. **Tabela 1** fornece agrupamentos de aminoácidos que são considerados substituições conservativas com base na carga e

polaridade do aminoácido, na hidrofobicidade do aminoácido, na exposição à superfície/natureza estrutural do aminoácido e na propensão da estrutura secundária do aminoácido.

Tabela 1. Agrupamentos de substituições conservativas de aminoácidos com base na funcionalidade do resíduo na proteína.

| Recurso Importante | Agrupamentos Conservadores |
|-----------------------------------|---|
| Carga/Polaridade | 1. H, R e K 2. D e E 3. C, T, S, G, N, Q e Y 4. A, P, M, L, I, V, F e W |
| Hidrofobicidade | 1. D, E, N, Q, R e K 2. C, S, T, P, G, H e Y 3. A, M, I, L, V, F e W |
| Exposição Estrutural/Superficial | 1. D, E, N, Q, H, R, e K 2. C, S, T, P, A, G, W e Y 3. M, I, L, V e F |
| Propensão da Estrutura Secundária | 1. A, E, Q, H, K, M, L e R 2. C, T, I, V, F, Y e W 3. S, G, P, D e N |
| Conservação Evolutiva | 1. D e E 2. H, K e R 3. N e Q 4. S e T 5. L, I e V 6. F, Y e W 7. A e G 8. M e C |

[00222] Os termos "idêntico" ou "identidade" percentual, no contexto de dois ou mais ácidos nucleicos ou sequências de peptídeos, referem-se a duas ou mais sequências ou subsequências que são a mesma ou têm uma percentagem especificada de resíduos de aminoácidos ou nucleotídeos que são iguais (ou seja, com cerca de 60% de identidade, de um modo preferido, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou mais identidade ao longo de uma região especificada, em comparação e alinhadas à correspondência máxima em uma região designada ou em uma janela de comparação), conforme medido utilizando algoritmos de comparação de sequência BLAST ou BLAST 2.0 com parâmetros padrão descritos abaixo, ou por alinhamento manual e inspeção visual.

[00223] Como é conhecido na técnica, podem ser utilizados vários programas diferentes para identificar se uma proteína (ou ácido nucleico como discutido abaixo) tem identidade de sequência ou semelhança com uma

sequência conhecida. Sequências de identidade e/ou similaridade é determinada através do uso de técnicas padrão conhecidas na técnica, incluindo, mas não limitadas a, o algoritmo de identidade de sequência local de Smith & Waterman, *Adv. Appl. Math.*, 2:482 (1981), pela sequência de identidade de alinhamento de algoritmo de Needleman & Wunsch, *J. Mol. Biol.*, 48:443 (1970), pela busca de método de similaridade de Pearson & Lipman, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 85:2444 (1988), implementações computadorizadas desses algoritmos (GAP, BESTFIT, FASTA, and TFASTA in the Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Drive, Madison, Wis.), o programa de sequência Best Fit descrita por Devereux et al., *Nucl. Acid Res.*, 12:387-395 (1984), preferencialmente, usando as configurações padrão ou por inspeção. Preferencialmente, a identidade percentual é calculada por FastDB com base nos seguintes parâmetros: penalidade de incompatibilidade de 1; penalidade de lacuna de 1, penalidade de tamanho de lacuna de 0,33; e penalidade de união de 30, "Current Methods in Sequence Comparison and Analysis," *Macromolecule Sequencing and Synthesis, Selected Methods and Applications*, pp 127-149 (1988), Alan R. Liss, Inc, todos incorporados aqui por referência.

[00224] Um exemplo de um algoritmo útil é PILEUP. O PILEUP cria um alinhamento de sequência múltiplo a partir de um grupo de sequências relacionadas usando alinhamentos progressivos em pares. Também é possível plotar uma árvore mostrando as relações de agrupamento usadas para criar o alinhamento. O PILEUP usa uma simplificação do método de alinhamento progressivo de Feng & Doolittle, *J. Mol. Evol.* 35: 351-360 (1987); o método é semelhante ao descrito por Higgins & Sharp *CABIOS* 5: 151-153 (1989), ambos incorporados por referência. Parâmetros de PILEUP úteis, incluindo um peso padrão de lacuna de 3,00, um peso de comprimento de lacuna padrão de 0,10 e lacunas terminais ponderadas.

[00225] Outro exemplo de um algoritmo útil é o algoritmo BLAST,

descrito em: Altschul et al., J. Mol. Biol. 215, 403-410, (1990); Altschul et al., Nucleic Acids Res. 25:3389-3402 (1997); and Karlin et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 5873-5787 (1993), ambos incorporados por referência. Um programa BLAST particularmente útil é o programa WU-BLAST-2 que foi obtido de Altschul et al., Methods in Enzymology, 266: 460-480 (1996); [http://blast.wustl.edu/blast/ README.html](http://blast.wustl.edu/blast/README.html)]. WU-BLAST-2 usa vários parâmetros de pesquisa, a maioria dos quais são configurados para os valores padrão. Os parâmetros ajustáveis são definidos com os seguintes valores: intervalo de sobreposição = 1, fração de sobreposição=0,125, limite de palavra (T)=11. Os parâmetros HSP S e HSP S2 são valores dinâmicos e são estabelecidos pelo próprio programa dependendo da composição da sequência em particular e da composição do banco de dados em particular em relação à qual a sequência de interesse está sendo pesquisada; no entanto, os valores podem ser ajustados para aumentar a sensibilidade.

[00226] Um algoritmo útil adicional é BLAST com lacunas (gapped BLAST), como relatado por Altschul et al., Nucl. Acids Res., 25: 3389-3402, incorporado por referência. O BLAST com lacunas usa escores de substituição BLOSUM-62; parâmetro T de limite definido para 9; o método de duas tentativas (two-hit method) para acionar extensões sem lacunas, comprimentos de lacunas de cargas de 10+k; Xu definido para 16, e Xg definido para 40 para estágio de pesquisa em bando de dados e para 67 para o estágio de resultado dos algoritmos. Alinhamentos com lacunas são acionados por uma classificação correspondente a ~22 bits.

[00227] Um valor de % de identidade de sequência de aminoácidos é determinado pelo número de resíduos idênticos coincidentes dividido pelo número total de resíduos da sequência "mais longa" na região alinhada. A sequência "mais longa" é a que tem a maioria dos resíduos reais na região alinhada (lacunas introduzidas pelo WU-BLAST-2 para maximizar a classificação do alinhamento são ignoradas). De uma maneira semelhante,

“percentual (%) de identidade de sequência de ácido nucleico” em relação à sequência de ácido nucleico dos polipeptídeos identificados é definido como o percentual de resíduos de nucleotídeos em uma sequência candidata que são idênticas aos resíduos de nucleotídeos na sequência de codificação do ciclo celular da proteína. Um método preferido utiliza o módulo BLASTN de WU-BLAST-2 configurado para os parâmetros padrão, com intervalo de sobreposição e fração de sobreposição definidos como 1 e 0,125, respectivamente.

[00228] O alinhamento pode incluir a introdução de lacunas nas sequências a serem alinhadas. Adicionalmente, para sequências que contêm mais ou menos aminoácidos do que a proteína codificada pela sequência da Figura 2 (SEQ ID NO: 1), entende-se que numa modalidade, a percentagem de identidade da sequência será determinada com base na número de aminoácidos ou nucleotídeos idênticos em relação ao número total de aminoácidos ou nucleotídeos. Assim, por exemplo, a identidade de sequência de sequências mais curta que a mostrada na Figura 2 (SEQ ID NO: 1), como discutido abaixo, será determinada utilizando o número de nucleotídeos na sequência mais curta, numa modalidade. Nos cálculos de porcentagem de identidade o peso relativo não é atribuído a várias manifestações de variação de sequência, tais como, inserções, deleções, substituições, etc.

[00229] Numa modalidade, somente identidades são classificadas positivamente (+1) e a todas as formas de variação de sequência, incluindo lacunas, é atribuído um valor de "0", o que evita a necessidade de uma escala ou parâmetros ponderados, como descrito abaixo para os cálculos de semelhança de sequência. A porcentagem de identidade de sequência pode ser calculada, por exemplo, dividindo-se o número de resíduos idênticos coincidentes pelo número total de resíduos da sequência "mais curta" na região alinhada e multiplicando-se por 100. A sequência "mais longa" é a que tem a maioria dos resíduos reais na região alinhada.

[00230] O termo “variantes alélicas” refere-se a formas polimórficas de um gene num determinado local genético, bem como a DNAs derivados de transcritos de mRNA dos genes e aos polipeptídeos codificados por eles. O termo “códon de mamífero preferido” refere-se a um subconjunto de códons de entre o conjunto de códons que codificam para um aminoácido que são mais frequentemente utilizados em proteínas expressas em células de mamífero, conforme escolhido da seguinte lista: Gly (GGC, GGG); Glu (GAG); Asp (GAC); Val (GTG, GTC); Ala (GCC, GCT); Ser (AGC, TCC); Lys (AAG); Asn (AAC); Met (ATG); Ile (ATC); Thr (ACC); Trp (TGG); Cys (TGC); Tyr (TAT, TAC); Leu (CTG); Phe (TTC); Arg (CGCAGG, AGA); Gln (CAG); Dele (CAC); e Pro (CCC).

[00231] Como utilizado neste documento, o termo códon alterado refere-se a uma sequência polinucleotídica que codifica um polipeptídeo (por exemplo, uma proteína variante do Fator VIII), em que pelo menos um códon do polinucleotídeo nativo que codifica o polipeptídeo foi alterado para melhorar uma propriedade da sequência polinucleotídica. Em algumas modalidades, a propriedade melhorada promove transcrição aumentada de mRNA que codifica para o polipeptídeo, estabilidade aumentada do mRNA (por exemplo, meia-vida de mRNA melhorada), tradução aumentada do polipeptídeo e/ou empacotamento aumentado do polinucleotídeo no vetor. Exemplos não limitativos de alterações que podem ser usadas para alcançar as propriedades melhoradas incluem a alteração do uso e/ou distribuição de códons para determinados aminoácidos, ajustando o conteúdo global e/ou local de GC, removendo sequências ricas em AT, removendo elementos de sequência repetida, ajustando o conteúdo global e/ou local de dinucleotídeos CpG, removendo elementos reguladores críticos (por exemplo, elementos TATA box e CCAAT box), removendo os locais de splice de íntron/exon, melhorando as sequências regulatórias (por exemplo, introdução de uma sequência de consenso Kozak) e removendo a sequência elementos capazes

de formar estruturas secundárias (por exemplo, hastes-tronco) no mRNA transcrito.

[00232] Como discutido neste documento, existem várias nomenclaturas para referir os componentes da divulgação neste documento. "Número CS" (por exemplo, "CS04", "CS01", "CS23", etc.) referem-se a polinucleotídeos alterados por códon que codificam polipeptídeos de FVIII e/ou aos polipeptídeos codificados, incluindo variantes. Por exemplo, CS01-FL se refere à sequência de polinucleotídeos alterada por **Códon** de comprimento Completo CS01 ou sequência de aminoácidos (por vezes referida neste documento como "CS01-FL-AA" para a sequência de **Amino Ácido** e "CS01-FL-NA" para a sequência de **Ácido Nucleico**) codificada pela sequência polinucleotídica CS01. Similarmente, "CS01-LC" refere-se à sequência de ácido nucleico alterada por códon ("CS01-LC-NA") que codifica a cadeia leve de um polipeptídeo de FVIII ou a sequência de aminoácidos (também por vezes referida neste documento como "CS01-LC-AA ") da cadeia leve de FVIII codificada pela sequência polinucleotídica CS01. Da mesma forma, CS01-HC, CS01-HC-AA e CS01-HC-NA são os mesmos para a cadeia pesada de FVIII. Como será entendido pelos versados na técnica, para construtos como CS01, CS04, CS23, etc., que são apenas alteradas por códon (por exemplo, não contêm substituições adicionais de aminoácidos em comparação com Refacto), as sequências de aminoácidos ser idêntico, pois as sequências de aminoácidos não são alteradas pela otimização do códon. Assim, os construtos de sequências da divulgação incluem, mas não estão limitadas a, CS01-FL-NA, CS01-FL-AA, CS01-LC-NA, CS01-LC-AA, CS01-HC-AA, CS01-HC-NA, CS04-FL-NA, CS04-FL-AA, CS04-LC-NA, CS04-LC-AA, CS04-HC-AA, CS04-HC-NA, CS23-FL-NA, CS23-FL-AA, CS23 -LC-NA, CS23-LC-AA, CS23-HC-AA e CS23-HC-NA.

[00233] Esta nomenclatura também se aplica a peptídeos de glicosilação, como mostrado na Figura 13, tal que "NGA1-AA" refere-se à

sequência de aminoácidos e NGA1-NA refere-se à sequência de ácido nucleico.

[00234] A divulgação também inclui novas variantes adicionais do Fator VIII, como descrito abaixo, com a nomenclatura apropriada.

III. Variantes do Fator VIII Alteradas por Códon

[00235] Em algumas modalidades, a presente divulgação fornece polinucleotídeos alterados por códon que codificam variantes do Fator VIII. Estes polinucleotídeos alterados por códons fornecem uma expressão acentuada melhoria do Fator VIII quando administrados num construto de terapia gênica baseada em AAV. Os polinucleotídeos alterados por códons também demonstram empacotamento de vírion de AAV melhorado, em comparação com construtos otimizados por códon convencionalmente. Como demonstrado em Exemplo 2 e Exemplo os requerentes alcançaram estas vantagens através da descoberta de três polinucleotídeos alterados por códon (CS01-FL-NA, CS04-FL-NA e CS23-FL-NA) que codificam um polipeptídeo de Fator VIII com Fator VIII selvagem e pesado do tipo selvagem humano cadeias e um ligante substituído de domínio B de 14 aminoácidos curto (o ligante "SQ") contendo um sítio de clivagem de furina para facilitar a maturação de uma proteína FVIIIa ativa in vivo. Como demonstrado em Exemplo , a incorporação de várias combinações das mutações de aminoácidos F328S, X5 e X1 na molécula de Fator VIII codificada aumentou ainda mais a expressão in vivo da atividade do Fator VIII.

[00236] Numa modalidade, um polinucleotídeo alterado por códon neste documento fornecido tem sequências nucleotídicas com elevada identidade de sequências com, pelo menos, as sequências CS01, CS04 ou CS23 (SEQ ID NOS 13, 1 e 20, respectivamente) que codificam a cadeia pesada do Fator VIII e cadeias leves do Fator VIII. Como é conhecido na técnica, o domínio B do Fator VIII é dispensável para atividade in vivo.

Assim, em algumas modalidades, os polinucleotídeos alterados por códon fornecidos neste documento carecem completamente de um domínio B do Fator VIII. Em algumas modalidades, o domínio B do Fator VIII nativo é substituído por um ligante de aminoácido curto contendo um sítio de clivagem da furina, por exemplo, o ligante “SQ” consistindo nos aminoácidos 760-773 do CS01, CS04 ou CS23 (SEQ ID NOS 2, 2 e 21, respectivamente). O ligante “SQ” é também referido como BDLO04, (-AA para a sequência de aminoácidos e -NA para a sequência nucleotídica mostrada na Figura 6).

[00237] Numa modalidade, as cadeias pesada e leve do Fator VIII codificadas pelo polinucleotídeo alterado pelo códon são cadeias pesada e leve do Fator VIII, respectivamente. Noutras modalidades, as cadeias pesadas e leves do Fator VIII codificadas pelo polinucleotídeo alterado pelo códon são sequências da cadeia pesada e leve de outro mamífero (por exemplo, Fator VIII suíno). Ainda noutras modalidades, as cadeias pesada e leve do Fator VIII são cadeias pesada e leve quiméricas (por exemplo, uma combinação de sequências humanas e de segundos mamíferos). Ainda noutras modalidades, as cadeias pesadas e leves do Fator VIII são versões humanizadas das cadeias pesada e leve de outro mamífero, por exemplo, sequências da cadeia pesada e leve de outro mamífero nas quais os resíduos humanos são substituições em posições selecionadas para reduzir a imunogenicidade do peptídeo resultante quando administrado a um ser humano.

[00238] O conteúdo GC dos genes humanos varia amplamente, de menos de 25% a mais de 90%. No entanto, em geral, os genes humanos com maior conteúdo de GC são expressos em níveis mais elevados. Por exemplo, Kudla et al. (PLoS Biol., 4 (6): 80 (2006)) demonstram que o aumento do teor de GC num gene aumenta a expressão do polipeptídeo codificado, principalmente aumentando a transcrição e efetuando um maior nível de estado estacionário do transcrito de mRNA. Geralmente, o conteúdo GC desejado de um construto genético otimizada por códon é igual ou superior a

60%. No entanto, os genomas de AAV nativos têm um conteúdo de GC de cerca de 56%.

[00239] Consequentemente, em algumas modalidades, os polinucleotídeos alterados por códon fornecidos neste documento têm um conteúdo CG que corresponde mais de perto ao teor GC dos vírions AAV nativos (por exemplo, cerca de 56% GC), que é inferior ao conteúdo preferido de CG dos polinucleotídeos que são convencionalmente códon otimizado para expressão em células de mamíferos (por exemplo, em ou acima de 60% GC). Como delineado no Exemplo 1, o CS04-FL-NA (SEQ ID NO: 1), que possui um teor de GC de cerca de 56%, possui um empacotamento de vírion melhorado em comparação com sequências de codificação alteradas por códon semelhantes com maior conteúdo GC.

[00240] Assim, em algumas modalidades, o teor total de GC de um polinucleotídeo alterado por códon que codifica um polipeptídeo de Fator VIII é inferior a 60%. Em algumas modalidades, o teor total de GC de um polinucleotídeo alterado por códon que codifica um polipeptídeo de Fator VIII é inferior a 59%. Em algumas modalidades, o teor total de GC de um polinucleotídeo alterado por códon que codifica um polipeptídeo de Fator VIII é inferior a 58%. Assim, em algumas modalidades, o teor total de GC de um polinucleotídeo alterado por códon que codifica um polipeptídeo de Fator VIII é inferior a 57%. Em algumas modalidades, o teor total de GC de um polinucleotídeo alterado por códon que codifica um polipeptídeo de Fator VIII não maior que 56%.

[00241] Em algumas modalidades, o teor total de GC de um polinucleotídeo alterado por códon que codifica um polipeptídeo de Fator VIII de 54% a 59%. Em algumas modalidades, o teor total de GC de um polinucleotídeo alterado por códon que codifica um polipeptídeo de Fator VIII é de 55% a 59%. Em algumas modalidades, o teor total de GC de um polinucleotídeo alterado por códon que codifica um polipeptídeo de Fator

VIII de 56% a 59%. Em algumas modalidades, o teor total de GC de um polinucleotídeo alterado por códon que codifica um polipeptídeo de Fator VIII de 54% a 58%. Em algumas modalidades, o teor total de GC de um polinucleotídeo alterado por códon que codifica um polipeptídeo de Fator VIII é de 55% a 58%. Em algumas modalidades, o teor total de GC de um polinucleotídeo alterado por códon que codifica um polipeptídeo de Fator VIII de 56% a 58%. Em algumas modalidades, o teor total de GC de um polinucleotídeo alterado por códon que codifica um polipeptídeo de Fator VIII de 54% a 57%. Em algumas modalidades, o teor total de GC de um polinucleotídeo alterado por códon que codifica um polipeptídeo de Fator VIII é de 55% a 57%. Em algumas modalidades, o teor total de GC de um polinucleotídeo alterado por códon que codifica um polipeptídeo de Fator VIII de 56% a 57%. Em algumas modalidades, o teor total de GC de um polinucleotídeo alterado por códon que codifica um polipeptídeo de Fator VIII de 54% a 56%. Em algumas modalidades, o teor total de GC de um polinucleotídeo alterado por códon que codifica um polipeptídeo de Fator VIII é de 55% a 56%.

[00242] Em algumas modalidades, o teor total de GC de um polinucleotídeo alterado por códon que codifica um polipeptídeo de Fator VIII é de $56 \pm 0,5\%$. Em algumas modalidades, o teor total de GC de um polinucleotídeo alterado por códon que codifica um polipeptídeo de Fator VIII é de $56 \pm 0,4\%$. Em algumas modalidades, o teor total de GC de um polinucleotídeo alterado por códon que codifica um polipeptídeo de Fator VIII é de $56 \pm 0,3\%$. Em algumas modalidades, o teor total de GC de um polinucleotídeo alterado por códon que codifica um polipeptídeo de Fator VIII é de $56 \pm 0,2\%$. Em algumas modalidades, o teor total de GC de um polinucleotídeo alterado por códon que codifica um polipeptídeo de Fator VIII é de $56 \pm 0,1\%$. Em algumas modalidades, o teor total de GC de um polinucleotídeo alterado por códon que codifica um polipeptídeo de Fator

VIII é de 56%.

A. Substituições de aminoácidos do Fator VIII

[00243] Para aumentar ainda mais a eficiência da expressão baseada em vetores AAV dos construtos do Fator VIII descrita neste documento, as substituições de aminoácidos que se sabe melhorar a secreção, aumentar a atividade específica e/ou melhorar a estabilidade do Fator VIII são incorporadas em algumas implementações. Foram identificadas várias variantes potenciais que aumentam os níveis plasmáticos da atividade do FVIII a uma dada dose vetorial. Essas variantes incluem aquelas com um peptídeo de sinal mais eficiente, substituições de aminoácidos que impedem interações BiP, substituições de aminoácidos lembrando ortólogos de Fator VIII secretados mais eficientemente (por exemplo, Fator VIII suíno), variantes de Fator VIII de cadeia simples e substituições de aminoácidos que estabilizam Fator VIII e/ou reduzir a dissociação da subunidade.

[00244] A mutação dos resíduos A108, R121 e L2302 (SPE), localizada na interface entre os domínios A1 e C2, aumenta a estabilidade do Fator VIII. Por exemplo, a substituição de aminoácidos A108I introduz um resíduo hidrofóbico que preenche melhor o espaço entre domínios, estabilizando a interação. Do mesmo modo, uma substituição de aminoácido duplo R121C/L2302C (SPE) introduz uma ligação dissulfureto que abrange os domínios A1-C2, estabilizando ainda mais a interação. Em conjunto, todas as três substituições de aminoácidos aumentam a estabilidade térmica do Fator VIII em 3 a 4 vezes. Para revisão, ver Wakabayashi et al., J Biol Chem. 286(29):25748-55 (2011) and Wakabayashi et al., Thromb Haemost. 10(3):492-95 (2012). Por conseguinte, em algumas modalidades, o polipeptídeo de Fator VIII codificado inclui substituições de aminoácidos A108I e/ou R121C/L2302C.

[00245] A mutação de E113 (SPE), localizada dentro do domínio de ligação a cálcio do Fator VIII, aumenta a atividade específica de coagulação

de FVIII. Por exemplo, E113A parece aumentar a formação de FXase através de uma afinidade aumentada de FVIII para o Fator IXa. Especificamente, a substituição de aminoácido E113A aumenta duas vezes a atividade de coagulação de FVIII específica e aumenta em quatro vezes a afinidade para o Fator IXa (Biochemistry, 41: 8485 (2002); J. Biol. Chem., 279:12677 (2004); and Biochemistry, 44:10298 (2005)). Por conseguinte, em algumas modalidades, os polipeptídeos codificados do Fator VIII incluem uma substituição de aminoácidos E113A.

[00246] Substituição de um ou mais resíduos de aminoácidos em torno do fator VIII APC sítio de clivagem (resíduos 331-341 (SPE)) reduz a inativação do Fator VIIIa pela proteína C ativada, sem afetar a atividade do FVIII. Por exemplo, as substituições de aminoácidos de PQL333-335VDQ (SPE) reduzem a inativação do Fator VIII em 16 vezes. Do mesmo modo, as substituições de aminoácidos MKN336-339GNQ reduzem a inativação do Fator VIII em 9 vezes. Quando combinadas, as duas substituições de aminoácidos triplos (por exemplo, PQLRMKN333-339VDQRGNQ) (SEQ ID NOS 34 e 35, respectivamente) reduzem a inativação do Fator VIII em 100 vezes (J. Biol. Chem., 282:20264 (2007)). Por conseguinte, em algumas modalidades, o polipeptídeo de Fator VIII codificado inclui substituições de aminoácidos de PQL333-335VDQ e/ou MKN337-339GNQ (SPE).

[00247] Mutações dentro da interface do domínio A2 também aumentam a estabilidade do Fator VIII. Especificamente, os resíduos carregados com mutação nas interfaces do domínio A1-A2 e A2-A3 aumentam a estabilidade e a retenção da subunidade A2 no Fator VIIIa. Por exemplo, a mutação de D519, E665 e E1984 a V ou A produz uma estabilidade até 2 vezes maior no Fator VIII e uma estabilidade até 5 vezes no Fator VIIIa. Especificamente, as substituições de aminoácidos D519A/E665V fornecem um aumento de 3 vezes na estabilidade; as substituições de aminoácidos D519V/E665V fornecem um aumento de 2 vezes na

estabilidade, um decréscimo de 8 vezes na dissociação de A2 e um aumento de 2-4 vezes no potencial de geração de trombina; as substituições de aminoácidos D519V/E1984A fornecem um aumento de 2 vezes na estabilidade; e a substituição de aminoácidos D519V/E665V/E1984A fornece um aumento de 2 vezes na estabilidade (Blood 112: 2761-69 (2008); J. Thromb. Haemost., 7: 438-44 (2009)). Por conseguinte, em algumas modalidades, os polipeptídeos do Fator VIII codificados incluem uma ou mais das substituições de aminoácidos D519A/V, E665A/V e E1984A/V.

[00248] De particular relevância para a presente divulgação são várias mutações específicas que podem ser incluídas separadamente ou em combinações com outras variantes descritas neste documento. Estas variantes são codificadas da seguinte forma: “m1” refere-se a uma única alteração de aminoácido, “m2” é um conjunto de 5 variantes de aminoácidos, “m3” é uma combinação de uma deleção de 7 aminoácidos e uma inserção de Seis aminoácidos abrangem a junção entre o ligante polipeptídico e a cadeia pesada, “m4” é uma combinação da mutação única m1 e da mutação dupla m5 e “m5” é um conjunto de duas ablações de cisteína. Essas mutações são descritas abaixo. Estes podem ser incluídos em qualquer construto particular, isoladamente ou em combinação com outras variantes, e são codificados em conformidade. Por exemplo, “m23” é uma combinação das variantes m2 e m3 em um andaime particular, como descrito aqui; assim, “CS01m23-FL-NA” ou “CS01-FL-NA_{m23}” refere-se à sequência polinucleotídica alterada por códon CS01 com os nucleotídeos que codificam as mutações m2 e m3 incluídas, e “CS01m23-FL-AA” ou “CS01-FL- AA_{m23} ”refere-se à sequência de aminoácidos. Como o CS01 é alterado por códon mas não altera a sequência de aminoácidos do Refacto, estes podem ser considerados no nível de aminoácidos como mutações em comparação com a sequência de aminoácidos do Refacto de CS01-FL-AA (SEQ ID NO: 2).

[00249] Em muitas modalidades, os polipeptídeos da divulgação são

feitos com a variante “m1” incluída. Mutações dentro de uma folha β hidrofóbica de 11 aminoácidos no domínio A1, que interage com BiP, aumentam a secreção do Fator VIII. Por exemplo, uma substituição de aminoácidos F328S (SPI, F309S SPE) dentro da bolsa aumentou 3 vezes a secreção do Fator VIII. A variante F328S é referida neste documento como a mutação “m1” e está dentro da cadeia pesada. Novamente, como descrito neste documento, o número das variantes pode ser feito inclusive do peptídeo sinal, “Sinal de Peptídeo Inclusive”, ou “SPI”, ou a partir da sequência proteica final processada, “Sinal de Peptídeo Exclusivo” ou “SPE”. Assim, utilizando a numeração SPI, a mutação F328S é a mesma que a mutante SPE F309. Geralmente, a especificação utiliza a numeração de SPI, mas, como será apreciado pelos versados na técnica, qualquer sistema de numeração resulta na (s) mesma (s) mutação (ões).

[00250] Consequentemente, incluídos na presente divulgação são polipeptídeos que incluem a mutação m1, incluindo CS01-FL-AAm1, CS01-HC-AAm1, CS04-FL-AAm1, CS04-HC-AAm1 CS23-FL-AAm1, CS23-HC-AAm1, CS40-FL-AAm1 e CS40-HC-AAm1 (todos os quais codificam as mesmas sequências proteicas correspondentes).

[00251] Além disso, incluídos na presente divulgação não estão apenas sequências polipeptídicas que incluem a mutação mutante, mas também aquelas sequências polinucleotídicas alteradas por códons que codificam proteínas com a mutação m1, tais como CS01-FL-NA m1, CS01-HC-NA m1, CS04. -FL-NA m1, CS04-HC-NA m1, CS23-FL-NA m1, CS23-HC-NA-M1, CS40-FL-NA m1 e CS40-HC-NA m1.

[00252] Em muitas modalidades, os polipeptídeos da divulgação são feitos com o conjunto variante "m2" incluído, que são as mutações I105V/A127S/G151K/M166T/L171P (numeração SPI; a numeração SPE é V86I/S108A/K132G/T147M/P152L, respectivamente). O conjunto de mutação m2 baseia-se no fato de a substituição dos aminoácidos suínos 82-

176 pelos aminoácidos humanos correspondentes num construto de terapia gênica com deleção do domínio B, aumentar a atividade do Fator VIII quando expressa em células HEK293 (W. Xiao, comunicação). *Id.* A mutação reversa de aminoácidos isolados suínos no construto de BDD-FVIII humano identificou cinco aminoácidos dentro do domínio A1 que contribuem para esse fenômeno: I105V, A127S, G151K, M166T e L171P (SPI). A introdução da combinação destas mutações no construto humano recapitulou a atividade melhorada da substituição suína maior. *Id.* Consequentemente, em algumas modalidades, os polipeptídeos do Fator VIII codificados incluem uma ou mais substituições de aminoácidos selecionadas de I105V, A127S, G151K, M166T e L171P, com o conjunto completo de 5 aminoácidos, m2, encontrando utilização particular em muitas modalidades. Quanto à mutação m1, as variantes m2 estão na cadeia pesada, e assim a presente divulgação inclui polipeptídeos que incluem a mutação m2, incluindo CS01-FL-AAm2, CS01-HC-AAm2, CS04-FL-AAm2, CS04-HC-AAm2, CS23-FL-AAm2, CS23-HC-AAm2, CS40-FL-AAm2 e CS40-HC-AAm2 (todos os quais codificam as mesmas sequências de proteínas correspondentes).

[00253] Além disso, incluídos na presente divulgação não estão apenas sequências polipeptídicas que incluem a mutação mutante, mas também aquelas sequências polinucleotídicas alteradas por códons que codificam proteínas com a mutação m2, tais como CS01-FL-NA m2, CS01-HC-NA m2, CS04-FL-NA m2, CS04-HC-NA m2, CS23-FL-NA m2, CS23-HC-NA m2, CS40-FL-NA m2 e CS40-HC-NA m2.

[00254] Em modalidades adicionais, os polipeptídeos e polinucleotídeos da divulgação incluem mutações m3. m3 é a substituição de sete aminoácidos por seis através da interface do domínio HC-B que introduz um local de glicosilação adicional introduzido próximo da interface. Consequentemente, em algumas modalidades, m3 é a deleção dos aminoácidos AIEPRSF755-761 e a inserção de aminoácidos TTYVNRSL

(SEQ ID NO: 33) após N754, em relação a FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19) (AIEPRSF755-761TTYVNRSL) ("TTYVNRSL" divulgada como SEQ ID NO: 33). Os resíduos AIEPR755-759, relativos a SEQ ID NO: 19, situam-se no final da cadeia pesada, enquanto os resíduos S760 e F761 caem dentro do domínio B. Em algumas modalidades, em que o domínio B de FVIII é eliminado, truncado ou substituído, os resíduos S760 e F761 podem não estar presentes na sequência de aminoácidos subjacente a sofrer mutação. Consequentemente, em algumas modalidades, m3 é a deleção dos aminoácidos AIEPR755-759 e a inserção de aminoácidos TTYVNRSL (SEQ ID NO: 33) após N754, em relação a FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19) (AIEPR755-759TTYVNRSL) ("TTYVNRSL" divulgada como SEQ ID NO: 33)

[00255] As variantes m3 estão na junção entre a cadeia pesada e o domínio B e, assim, a presente divulgação inclui polipeptídeos que incluem a mutação m3, incluindo CS01-FL-AAm3, CS01-HC-AAm3, CS04-FL-AAm3, CS04- HC-AAm3, CS23-FL-AAm3, CS23-HC-AAm3, CS40-FL-AAm3 e CS40-HC-AAm3 (todos os quais codificam as mesmas sequências proteicas correspondentes).

[00256] Além disso, incluídos na presente divulgação não estão sequências polipeptídicas que incluem a mutação m3, mas também aquelas sequências polinucleotídicas alteradas por códon que codificam proteínas com as mutações m3, tais como CS01-FL-NA m3, CS01-HC-NA m3, CS04. -FL-NA m3, CS04-HC-NA m3, CS23-FL-NA m3, CS23-HC-NA-m3, CS40-FL-NA m3 e CS40-HC-NA m3.

[00257] Em modalidades adicionais, os polipeptídeos e polinucleotídeos da divulgação incluem mutações m4. A eliminação da ligação dissulfureto C1899-C1903 no Fator VIII também aumentou a secreção. Além disso, os aumentos na secreção do Fator VIII são aditivos para a combinação de substituições de aminoácidos F328S (SPI, F309S SPE) e

C1918G/C1922G (Miao et al., Blood, 103: 3412-19 (2004); Selvaraj et al. J. Thromb. Haemost., 10: 107-15 (2012)). Consequentemente, em algumas modalidades, os polipeptídeos do Fator VIII codificados incluem mutações m4, que são as substituições de aminoácidos F328S (SPI, F309S SPE) e C1918G/C1922G (SPI). Como a variante F328S está na cadeia pesada e as duas variantes de cisteína estão na cadeia leve, as sequências polipeptídicas que incluem mutações m4 são CS01-FL-AAm4, CS01-HC-AAm4, CS01-LC-AAm4, CS04-FL-AAm4 CS04-HC-AAm4, CS04-LC-AAm4, CS23-FL-AAm4, CS23-HC-AAm4 e CS23-LC-AAm4.

[00258] Adicionalmente, incluídos na presente divulgação não estão sequências polipeptídicas que incluem a mutação m4, mas também aquelas sequências polinucleotídicas alteradas por códon que codificam proteínas com as mutações m4, tais como CS01-FL-NA m4, CS01-HC-NA m4, CS01. -LC-NA m4, CS04-FL-NA m4, CS04-HC-NA m4, CS04-LC-NA m4, CS23-FL-NA m4, CS23-HC-NA m4, CS23-LC-NA m4, CS40-FL-NA-m4, CS40 -HC-NA-m4 e CS40-LC-NA-m4.

[00259] Em modalidades adicionais, os polipeptídeos e polinucleotídeos da divulgação incluem mutações m5. Tal como acima, a eliminação da ligação dissulfureto C1899-C1903 no Fator VIII também aumentou a secreção. Substituições de aminoácidos C1918G/C1922G (SPI), contidas na cadeia leve, referidas neste documento como o conjunto de mutações m5.

[00260] As variantes m5 estão na cadeia leve e, assim, a presente divulgação inclui polipeptídeos que incluem a mutação m5, incluindo CS01-FL-AAm5, CS01-LC-AAm5, CS04-FL-AAm5, CS04-LC-AAm5, CS23-FL -AAm5, CS23-LC-AAm5, CS40-FL-AAm5 e CS40-LC-AAm5 (todos os quais codificam as mesmas sequências proteicas correspondentes).

[00261] Adicionalmente, incluídos na presente divulgação não estão sequências polipeptídicas que incluem a mutação m5, mas também aquelas

sequências polinucleotídicas alteradas por códon que codificam proteínas com as mutações m5, tais como CS01-FL-NA-m5, CS01-LC-NA-m5, CS04-FL-NA-m5, CS04-LC-NA-m5, CS23-FL-NA-m5, CS23-LC-NA-m5, CS40-FL-NA-m5 e CS40-LC-NA-m5.

[00262] Para além de construtos específicas (aminoácidos e ácidos nucleicos) que incluem m1, m2, m3, m4 e m5 individualmente, podem ser feitas combinações de conjuntos de mutações, como delineado neste documento. Como observado neste documento, eles são indicados como “m12”, que é a combinação de conjuntos m1 e m2, ou “m123”, que é a combinação de conjuntos m1, m2 e m3. Assim, incluo na divulgação combinações duplas incluindo m12, m13, m14, m15, m23, m24, m25, m34, m35 e m45. Também estão incluídas combinações triplas, m123, m124, m125, m234, m235 e m345. Além disso, estão incluídas as combinações quádruplas, m1234, m1235, m1345 e a combinação m12345. De particular interesse em algumas modalidades são os seguintes conjuntos de mutação: m1, m2, m3 e m4, m23, m123 e m234.

B. Ligantes substituídos no domínio B do Fator VIII

[00263] Em algumas modalidades, a ligação entre a cadeia pesada de FVIII e a cadeia leve (por exemplo, o domínio B no Fator VIII do tipo selvagem) é ainda alterada. Devido a restrições de tamanho da capacidade de empacotamento de AAV, as variantes de domínio B apagadas, truncadas e/ou substituídas por ligante devem melhorar a eficácia do construto de terapia gênica de FVIII. O ligante substituído de domínio B mais convencional é o de SQ FVIII, que retém apenas 14 aminoácidos do domínio B como sequência ligante. Outra variante de VIII suíno (“OBI-1 ” descrito na Patente US no 6.458.563) é bem expresso em células CHO e tem um ligante ligeiramente mais longo de 24 aminoácidos. Em algumas modalidades, os construtos do Fator VIII codificadas pelos polinucleotídeos alterados por códon descritos neste documento incluem uma sequência ligante do domínio B do tipo SQ.

Noutras modalidades, os construtos do Fator VIII codificadas pelos polinucleotídeos alterados por códon descritos neste documento incluem uma sequência ligante do domínio B do tipo OBI-1.

[00264] Em algumas modalidades, os polipeptídeos codificados do Fator VIII descritos neste documento incluem um ligante do domínio B do tipo SQ, incluindo os aminoácidos 760-762/1657-1667 do domínio B do Fator VIII humano de tipo selvagem (FVIII-FL-AA; SEQ ID NO: 19) (Sandberg et al. *Thromb. Haemost.* 85:93 (2001)). Em algumas modalidades, o ligante de domínio B do tipo SQ tem uma substituição de aminoácido relativamente à sequência do tipo selvagem correspondente. Em algumas modalidades, o ligante do domínio B do tipo SQ tem duas substituições de aminoácidos em relação à sequência do tipo selvagem correspondente. Em algumas modalidades, um peptídeo de glicosilação é inserido no ligante do domínio B do tipo SQ. Em algumas modalidades, o peptídeo de glicosilação é selecionado entre os apresentados na Figura 13 (SEQ ID NOS 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73 e 75, respectivamente, em ordem de aparição).

[00265] Em algumas modalidades, os polipeptídeos codificados do Fator VIII descritos neste documento incluem um ligante do domínio B do tipo Greengene, incluindo os aminoácidos 760/1582-1667 do domínio B do Fator VIII humano de tipo selvagem (FVIII-FL-AA; SEQ ID NO: 19) (Oh et al., *Biotechnol. Prog.*, 17: 1999 (2001)). Em algumas modalidades, o ligante de domínio B do tipo Greengene tem uma substituição de aminoácido relativamente à sequência do tipo selvagem correspondente. Em algumas modalidades, o ligante do domínio B do tipo Greengene tem duas substituições de aminoácidos em relação à sequência do tipo selvagem correspondente. Em algumas modalidades, um peptídeo de glicosilação é inserido no ligante do domínio B do tipo Greengene. Em algumas modalidades, o peptídeo de glicosilação é selecionado entre os apresentados na Figura 13 (SEQ ID NOS 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73 e 75,

respectivamente, em ordem de aparição).

[00266] Em algumas modalidades, os polipeptídeos do Fator VIII codificados descritos neste documento incluem um ligante do domínio B de tipo SQ prolongado (SFSQNPPVLKRHQR; BDL-SQ-AA; SEQ ID NO: 30), incluindo os aminoácidos 760-769/1657-1667 da do domínio B do Fator VIII humano (FVIII-FL-AA; SEQ ID NO: 19) (Thim et al., Haemophilia, 16: 349 (2010)). Em algumas modalidades, o ligante de domínio B do tipo SQ estendido tem uma substituição de aminoácido relativamente à sequência do tipo selvagem correspondente. Em algumas modalidades, o ligante do domínio B do tipo SQ estendido tem duas substituições de aminoácidos em relação à sequência do tipo selvagem correspondente. Em algumas modalidades, um peptídeo de glicosilação é inserido no ligante do domínio B do tipo SQ estendido. Em algumas modalidades, o peptídeo de glicosilação é selecionado entre os apresentados na Figura 13 (SEQ ID NOS 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73 e 75, respectivamente, em ordem de aparição).

[00267] Em algumas modalidades, os polipeptídeos codificados do Fator VIII descritos neste documento incluem um ligante do domínio B do tipo OBI-1 suíno, incluindo os aminoácidos SFAQNSRPPSASAPKPPVLRHQR (SEQ ID NO: 31) do domínio de Fator VIII B suíno do tipo selvagem (Toschi et al., Curr. Opin. Mol. Ther. 12:517 (2010)). Em algumas modalidades, o ligante de domínio B do tipo OBI-1 suíno tem uma substituição de aminoácido relativamente à sequência do tipo selvagem correspondente. Em algumas modalidades, o ligante do domínio B do tipo OBI-1 suíno tem duas substituições de aminoácidos em relação à sequência do tipo selvagem correspondente. Em algumas modalidades, um peptídeo de glicosilação é inserido no ligante do domínio B do tipo OBI-1 suíno. Em algumas modalidades, o peptídeo de glicosilação é selecionado entre os apresentados na Figura 13 (SEQ ID NOS 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73 e 75, respectivamente, em ordem de aparição).

[00268] Em algumas modalidades, os polipeptídeos codificados do Fator VIII descritos neste documento incluem um ligante do domínio B do tipo OBI-1, incluindo os aminoácidos 760-772/1655-1667 do domínio B do Fator VIII humano de tipo selvagem (FVIII-FL-AA; SEQ ID NO: 19). Em algumas modalidades, o ligante de domínio B do tipo OBI-1 humano tem uma substituição de aminoácido relativamente à sequência do tipo selvagem correspondente. Em algumas modalidades, o ligante do domínio B do tipo OBI-1 humano tem duas substituições de aminoácidos em relação à sequência do tipo selvagem correspondente. Em algumas modalidades, um peptídeo de glicosilação é inserido no ligante do domínio B do tipo OBI-1 humano. Em algumas modalidades, o peptídeo de glicosilação é selecionado entre os apresentados na Figura 13 (SEQ ID NOS 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73 e 75, respectivamente, em ordem de aparição).

[00269] Em algumas modalidades, os polipeptídeos codificados do Fator VIII descritos neste documento incluem um ligante do domínio B do tipo O8, incluindo os aminoácidos SFSQNSRHQAYRYRRG (SEQ ID NO: 32) do domínio de Fator VIII B suíno do tipo selvagem (Toschi et al., Curr. Opin. Mol. Ther. 12:517 (2010)). Em algumas modalidades, o ligante de domínio B do tipo OBI-1 suíno tem uma substituição de aminoácido relativamente à sequência do tipo selvagem correspondente. Em algumas modalidades, o ligante do domínio B do tipo OBI-1 suíno tem duas substituições de aminoácidos em relação à sequência do tipo selvagem correspondente. Em algumas modalidades, um peptídeo de glicosilação é inserido no ligante do domínio B do tipo OBI-1 suíno. Em algumas modalidades, o peptídeo de glicosilação é selecionado entre os apresentados na Figura 13 (SEQ ID NOS 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73 e 75, respectivamente, em ordem de aparição).

[00270] A remoção do domínio B dos construtos do Fator VIII não parece afetar a atividade da enzima ativada (por exemplo, FVIIIa),

presumivelmente porque o domínio B é removido durante a ativação. No entanto, o domínio B do Fator VIII contém vários resíduos que são modificados pós-tradução, por exemplo, por glicosilação ligada a N ou O. A análise in silico (Prediction of N-glycosylation sites in human proteins, R. Gupta, E. Jung and S. Brunak, in preparation (2004)) do domínio B do Fator VIII do tipo selvagem, prevê que pelo menos quatro desses locais são glicosilados in vivo (Figura 14). Pensa-se que estas modificações no domínio B contribuem para a regulação pós-traducional e/ou meia-vida do Fator VIII in vivo.

[00271] Enquanto o domínio B do Fator VIII está ausente na proteína madura do Fator VIIIA, a glicosilação no domínio B da molécula precursora do Fator VIII pode aumentar a semivida de circulação da proteína antes da ativação. Assim, em algumas modalidades, o ligante polipeptídico dos construtos codificadas do Fator VIII descritas neste documento inclui uma ou mais sequências de glicosilação, para permitir a glicosilação in vivo. Em algumas modalidades, o agente de ligação polipeptídico inclui pelo menos uma sequência de consenso de glicosilação (por exemplo, uma sequência de consenso de glicosilação ligada a N ou O). Em algumas modalidades, o agente de ligação polipeptídica inclui pelo menos duas sequências de glicosilação de consenso. Em algumas modalidades, o agente de ligação polipeptídico inclui pelo menos três sequências de glicosilação de consenso. Em algumas modalidades, o agente de ligação polipeptídico inclui pelo menos quatro sequências de glicosilação de consenso. Em algumas modalidades, o agente de ligação polipeptídica inclui pelo menos cinco sequências de glicosilação de consenso. Em algumas modalidades, o agente de ligação polipeptídico inclui pelo menos 6, 7, 8, 9, 10 ou mais sequências de glicosilação de consenso.

[00272] Em algumas modalidades, o ligante polipeptídeo contém pelo menos uma sequência N-X-S/T de glicosilação ligada a N, onde X é qualquer

aminoácido diferente P, S ou T. Em algumas modalidades, o ligante polipeptídeo contém glicosilação ligadas a N pelo menos duas sequências N-X-S/T, onde X é qualquer aminoácido diferente P, S ou T. Em algumas modalidades, o ligante polipeptídeo contém pelo menos três sequências N-X-S/T de glicosilação ligadas a N, onde X é qualquer aminoácido diferente P, S ou T. Em algumas modalidades, o ligante de polipeptídeo contém pelo menos quatro sequências N-X-S/T de glicosilação ligadas a N, onde X é qualquer aminoácido diferente P, S ou T. Em algumas modalidades, o ligante polipeptídico contém pelo menos cinco sequências N-X-S/T de glicosilação ligadas a N, onde X é qualquer aminoácido diferente P, S ou T. Em algumas modalidades, o ligante polipeptídico contém pelo menos 6, 7, 8, 9, 10, ou mais sequências N-X-S/T de glicosilação ligadas a N, onde X é qualquer aminoácido diferente P, S ou T.

[00273] Em algumas modalidades, o ligante polipeptídico inclui um peptídeo de glicosilação com elevada identidade de sequência com qualquer uma das SEQ ID NOS 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73 e 75, respectivamente, em ordem de aparição, como mostrado nas Figuras 13A-13B. Em algumas modalidades, o polipeptídeo de glicosilação tem pelo menos 92% de identidade com qualquer uma das SEQ ID NOS 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73 e 75, respectivamente, em ordem de aparição, como mostrado nas Figuras 13A-13B. Em algumas modalidades, o peptídeo de glicosilação não tem mais do que duas substituições de aminoácidos em relação a qualquer uma das SEQ ID NOS 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73 e 75, respectivamente, por ordem de aparecimento, como mostrado nas Figuras 13A-13B. Em algumas modalidades, o peptídeo de glicosilação não tem mais do que uma substituição de aminoácido relativamente a qualquer das SEQ ID NOS 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73 e 75, respectivamente, em ordem de aparição, como mostrado nas Figuras 13A-13B. Em algumas modalidades, o peptídeo de glicosilação possui uma

sequência de aminoácidos selecionada de qualquer uma das SEQ ID NOS 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73 e 75, respectivamente, por ordem de aparição, como mostrado nas Figuras 13A-13B.

[00274] Em algumas modalidades, o peptídeo de glicosilação tem pelo menos 92% de identidade com qualquer uma das SEQ ID NOS 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73 e 75, respectivamente, em ordem de aparição, como mostrado nas Figuras 13A-13B e são codificadas por uma sequência polinucleotídica possuindo pelo menos 90% de identidade com uma sequência nucleotídica correspondente selecionada a partir da SEQ ID NOS 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72 e 74, respectivamente, como mostrado nas Figuras 13A-13B. Em algumas modalidades, o peptídeo de glicosilação tem pelo menos 92% de identidade com qualquer uma das SEQ ID NOS 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73 e 75, respectivamente, em ordem de aparição, como mostrado nas Figuras 13A-13B e são codificadas por uma sequência polinucleotídica possuindo pelo menos 95% de identidade com uma sequência nucleotídica correspondente selecionada a partir da SEQ ID NOS 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72 e 74, respectivamente, em ordem de aparição, como mostrado nas Figuras 13A-13B. Em algumas modalidades, o peptídeo de glicosilação tem pelo menos 92% de identidade com qualquer uma das SEQ ID NOS 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73 e 75, respectivamente, em ordem de aparição, como mostrado nas Figuras 13A-13B e é codificado por uma sequência polinucleotídica possuindo pelo menos 98% de identidade com uma sequência nucleotídica correspondente selecionada a partir da SEQ ID NOS 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72 e 74, respectivamente, em ordem de aparição, como mostrado nas Figuras 13A-13B.

[00275] Em algumas modalidades, o peptídeo de glicosilação tem não mais do que duas substituições de aminoácidos em relação com qualquer uma das SEQ ID NOS 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73 e 75,

respectivamente, em ordem de aparição, como mostrado nas Figuras 13A-13B e são codificadas por uma sequência polinucleotídica possuindo pelo menos 90% de identidade com uma sequência nucleotídica correspondente selecionada a partir da SEQ ID NOS 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72 e 74, respectivamente, em ordem de aparição, como mostrado nas Figuras 13A-13B. Em algumas modalidades, o peptídeo de glicosilação tem não mais do que duas substituições de aminoácidos em relação com qualquer uma das SEQ ID NOS 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73 e 75, respectivamente, em ordem de aparição, como mostrado nas Figuras 13A-13B e é codificado por uma sequência polinucleotídica possuindo pelo menos 95% de identidade com uma sequência nucleotídica correspondente selecionada a partir da SEQ ID NOS 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72 e 74, respectivamente, em ordem de aparição, como mostrado nas Figuras 13A-13B. Em algumas modalidades, o peptídeo de glicosilação tem não mais do que duas substituições de aminoácidos em relação com qualquer uma das SEQ ID NOS 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73 e 75, respectivamente, em ordem de aparição, como mostrado nas Figuras 13A-13B e é codificado por uma sequência polinucleotídica possuindo pelo menos 98% de identidade com uma sequência nucleotídica correspondente selecionada a partir da SEQ ID NOS 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72 e 74, respectivamente, em ordem de aparição, como mostrado nas Figuras 13A-13B.

[00276] Em algumas modalidades, o peptídeo de glicosilação tem não mais do que uma substituição de aminoácido em relação com qualquer uma das SEQ ID NOS 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73 e 75, respectivamente, em ordem de aparição, como mostrado nas Figuras 13A-13B e são codificadas por uma sequência polinucleotídica possuindo pelo menos 90% de identidade com uma sequência nucleotídica correspondente selecionada a partir da SEQ ID NOS 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70,

72 e 74, respectivamente, em ordem de aparição, como mostrado nas Figuras 13A-13B. Em algumas modalidades, o peptídeo de glicosilação tem não mais do que uma substituição de aminoácido em relação com qualquer uma das SEQ ID NOS 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73 e 75, respectivamente, em ordem de aparição, como mostrado nas Figuras 13A-13B e é codificado por uma sequência polinucleotídica possuindo pelo menos 95% de identidade com uma sequência nucleotídica correspondente selecionada a partir da SEQ ID NOS 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72 e 74, respectivamente, em ordem de aparição, como mostrado nas Figuras 13A-13B. Em algumas modalidades, o peptídeo de glicosilação tem não mais do que uma substituição de aminoácido em relação com qualquer uma das SEQ ID NOS 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73 e 75, respectivamente, em ordem de aparição, como mostrado nas Figuras 13A-13B e é codificado por uma sequência polinucleotídica possuindo pelo menos 98% de identidade com uma sequência nucleotídica correspondente selecionada a partir da SEQ ID NOS 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72 e 74, respectivamente, em ordem de aparição, como mostrado nas Figuras 13A-13B.

[00277] Em algumas modalidades, o peptídeo de glicosilação tem uma sequência selecionada com qualquer uma das SEQ ID NOS 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73 e 75, respectivamente, em ordem de aparição, como mostrado nas Figuras 13A-13B e é codificado por uma sequência polinucleotídica possuindo pelo menos 90% de identidade com uma sequência nucleotídica correspondente selecionada a partir da SEQ ID NOS 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72 e 74, respectivamente, em ordem de aparição, como mostrado nas Figuras 13A-13B. Em algumas modalidades, o peptídeo de glicosilação tem uma sequência selecionada com qualquer uma das SEQ ID NOS 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73 e 75, respectivamente, em ordem de aparição, como mostrado nas Figuras 13A-13B e é codificado por uma sequência polinucleotídica possuindo pelo menos 95%

de identidade com uma sequência nucleotídica correspondente selecionada a partir da SEQ ID NOS 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72 e 74, respectivamente, em ordem de aparição, como mostrado nas Figuras 13A-13B. Em algumas modalidades, o peptídeo de glicosilação tem uma sequência selecionada com qualquer uma das SEQ ID NOS 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73 e 75, respectivamente, em ordem de aparição, como mostrado nas Figuras 13A-13B e é codificado por uma sequência polinucleotídica possuindo pelo menos 98% de identidade com uma sequência nucleotídica correspondente selecionada a partir da SEQ ID NOS 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72 e 74, respectivamente, em ordem de aparição, como mostrado nas Figuras 13A-13B.

[00278] Em algumas modalidades, o polipeptídeo de Fator VIII codificado por um polinucleotídeo alterado por códon descrito neste documento tem um ligante substituído no domínio B em que um peptídeo de glicosilação é inserido na sequência ligante SQ (aminoácidos 760-773 de CS04-FL-AA; SEQ ID NO: 2). Numa modalidade específica, o peptídeo de glicosilação selecionado dentre qualquer uma das SEQ ID N 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73 e 75, respectivamente, por ordem de aparição, como mostrado nas Figuras 13A-13B, um peptídeo de glicosilação com pelo menos 92% de identidade com qualquer uma das SEQ ID NOS 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73 e 75, respectivamente, por ordem de aparecimento, como mostrado nas Figuras 13A-13B, um peptídeo de glicosilação com não mais de duas substituições de aminoácidos em relação a qualquer uma das SEQ ID NOS 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73 e 75, respectivamente, por ordem de aparição, como mostrado nas Figuras 13A-13B, e um peptídeo de glicosilação que não tem mais do que uma substituição de aminoácido com relação a qualquer uma das SEQ ID NOS 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, e 75, respectivamente, em ordem de aparição, como mostrado nas Figuras 13A-13B. Em algumas modalidades, o peptídeo

de glicosilação é inserido no peptídeo SQ entre os resíduos N768 e P769 (relativamente a CS04-FL-AA; SEQ ID NO: 2).

[00279] Em algumas modalidades, o ligante polipeptídico do construto do Fator VIII é codificado por uma terceira sequência nucleotídica possuindo uma identidade de sequência elevada a qualquer uma das apresentadas na Figura 6 (SEQ ID NOS 5-7 e 36-48, respectivamente, por ordem de aparição). Em algumas modalidades, a terceira sequência nucleotídica tem pelo menos 95% de identidade com qualquer uma das mostradas na Figura 13 (SEQ ID NOS 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72 e 74, respectivamente, em ordem de aparição). Em algumas modalidades, a terceira sequência nucleotídica tem pelo menos 96% de identidade com qualquer uma das mostradas na Figura 13 (SEQ ID NOS 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72 e 74, respectivamente, em ordem de aparição). Em algumas modalidades, a terceira sequência nucleotídica tem pelo menos 97% de identidade com qualquer uma das mostradas na Figura 13 (SEQ ID NOS 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72 e 74, respectivamente, em ordem de aparição). Em algumas modalidades, a terceira sequência nucleotídica tem pelo menos 98% de identidade com qualquer uma das mostradas na Figura 13 (SEQ ID NOS 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72 e 74, respectivamente, em ordem de aparição). Em algumas modalidades, a terceira sequência nucleotídica tem pelo menos 99% de identidade com qualquer uma das mostradas na Figura 13 (SEQ ID NOS 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72 e 74, respectivamente, em ordem de aparição). Em algumas modalidades, a terceira sequência nucleotídica tem pelo menos 99,5% de identidade com qualquer uma das mostradas na Figura 13 (SEQ ID NOS 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72 e 74, respectivamente, em ordem de aparição). Em algumas modalidades, a terceira sequência nucleotídica tem pelo menos 99,9% de identidade com qualquer uma das mostradas na Figura 13 (SEQ ID NOS 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72 e 74,

respectivamente, em ordem de aparição). Em algumas modalidades, a terceira sequência nucleotídica é idêntica a qualquer uma das mostradas na Figura 13 (SEQ ID NOS 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72 e 74, respectivamente, em ordem de aparição).

C. Polinucleotídeos alterados por códon que Codificam uma Variante do Fator VIII com um Ligante Clivável

Polinucleotídeos CS04 Alterados por Códon

[00280] Numa modalidade, os polinucleotídeos alterados por códon fornecidos neste documento incluem uma sequência nucleotídica codificando um polipeptídeo variante do Fator VIII com um ligante que é clivável in vivo. O polipeptídeo de Fator VIII inclui um Fator VIII de cadeia leve, um Fator VIII de cadeia pesada e um ligante polipeptídico que une o terminal C da cadeia pesada ao terminal N da cadeia leve. A cadeia pesada do polipeptídeo de Fator VIII é codificada por uma primeira sequência nucleotídica possuindo uma identidade de sequência elevada com CS04-HC-NA (SEQ ID NO: 3), que é a porção de CS04-FL-NA (SEQ ID NO: 1) codificando para uma cadeia pesada do Fator VIII. A cadeia leve do polipeptídeo de Fator VIII é codificada por uma segunda sequência nucleotídica com uma identidade de sequência elevada para CS04-LC-NA (SEQ ID NO: 4), que é a porção de CS04-FL-NA (SEQ ID NO: 1) codificando para uma cadeia leve do Fator VIII. O ligante polipeptídico inclui um sítio de clivagem da furina, que permite a maturação in vivo (por exemplo, após a expressão in vivo ou a administração do polipeptídeo precursor).

[00281] Em algumas modalidades, a primeira e segunda sequências nucleotídicas têm pelo menos 95% de identidade de sequência com CS04-HC-NA e CS04-LC-NA (SEQ ID NOS 3 e 4), respectivamente. Em algumas modalidades, a primeira e segunda sequências nucleotídicas têm pelo menos 96% de identidade de sequência com CS04-HC-NA e CS04-LC-NA (SEQ ID NOS 3 e 4), respectivamente. Em algumas modalidades, a primeira e segunda

sequências nucleotídicas têm pelo menos 97% de identidade de sequência com CS04-HC-NA e CS04-LC-NA (SEQ ID NOS 3 e 4), respectivamente. Em algumas modalidades, a primeira e segunda sequências nucleotídicas têm pelo menos 98% de identidade de sequência com CS04-HC-NA e CS04-LC-NA (SEQ ID NOS 3 e 4), respectivamente. Em algumas modalidades, a primeira e segunda sequências nucleotídicas têm pelo menos 99% de identidade de sequência com CS04-HC-NA e CS04-LC-NA (SEQ ID NOS 3 e 4), respectivamente. Em algumas modalidades, a primeira e segunda sequências nucleotídicas têm pelo menos 99,5% de identidade de sequência com CS04-HC-NA e CS04-LC-NA (SEQ ID NOS 3 e 4), respectivamente. Em algumas modalidades, a primeira e segunda sequências nucleotídicas têm pelo menos 99,9% de identidade de sequência com CS04-HC-NA e CS04-LC-NA (SEQ ID NOS 3 e 4), respectivamente. Em algumas modalidades, a primeira e segunda sequências nucleotídicas são idênticas a CS04-HC-NA e CS04-LC-NA (SEQ ID NOS 3 e 4), respectivamente.

[00282] Em algumas modalidades, o ligante polipeptídico do construto do Fator VIII codificado por uma terceira sequência nucleotídica possuindo uma identidade de sequência elevada para BDLO04 (SEQ ID NO: 6), que codifica o ligante de 14 aminoácidos correspondente aos aminoácidos 760-773 de CS04. -FL-AA (SEQ ID NO: 2). Em algumas modalidades, a terceira sequência nucleotídica tem pelo menos 95% de identidade com BDLO04 (SEQ ID NO: 6). Em algumas modalidades, a terceira sequência nucleotídica tem pelo menos 96% de identidade com BDLO04 (SEQ ID NO: 6). Em algumas modalidades, a terceira sequência nucleotídica tem pelo menos 97% de identidade com BDLO04 (SEQ ID NO: 6). Em algumas modalidades, a terceira sequência nucleotídica tem pelo menos 98% de identidade com BDLO04 (SEQ ID NO: 6). Em algumas modalidades, a terceira sequência de nucleotídeos é idêntica a BDLO04 (SEQ ID NO: 6).

[00283] Em algumas modalidades, o polinucleotídeo alterado por

códon tem uma sequência nucleotídica com uma identidade de sequência elevada para CS04-FL-NA (SEQ ID NO: 1). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica tem pelo menos 95% de identidade com CS04-FL-NA (SEQ ID NO: 1). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica tem pelo menos 96% de identidade com CS04-FL-NA (SEQ ID NO: 1). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica tem pelo menos 97% de identidade com CS04-FL-NA (SEQ ID NO: 1). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica tem pelo menos 98% de identidade com CS04-FL-NA (SEQ ID NO: 1). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica tem pelo menos 99% de identidade com CS04-FL-NA (SEQ ID NO: 1). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica tem pelo menos 99,5% de identidade com CS04-FL-NA (SEQ ID NO: 1). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica tem pelo menos 99,9% de identidade com CS04-FL-NA (SEQ ID NO: 1). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica é idêntica à CS04-FL-NA (SEQ ID NO: 1).

[00284] Em algumas modalidades, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo alterado pelo códon tem uma sequência de aminoácidos com identidade de sequência elevada para CS04-FL-AA (SEQ ID NO: 2). Em algumas modalidades, a sequência de aminoácidos tem pelo menos 97% de identidade com CS04-FL-AA (SEQ ID NO: 2). Em algumas modalidades, a sequência de aminoácidos tem pelo menos 98% de identidade com CS04-FL-AA (SEQ ID NO: 2). Em algumas modalidades, a sequência de aminoácidos tem pelo menos 99% de identidade com CS04-FL-AA (SEQ ID NO: 2). Em algumas modalidades, a sequência de aminoácidos tem pelo menos 99,5% de identidade com CS04-FL-AA (SEQ ID NO: 2). Em algumas modalidades, a sequência de aminoácidos tem pelo menos 99,9% de identidade com CS04-FL-AA (SEQ ID NO: 2). Em algumas modalidades, a sequência de aminoácidos é idêntica a CS04-FL-AA (SEQ ID NO: 2).

[00285] Em algumas modalidades, a variante do Fator VIII codificada

pelo polinucleotídeo CS04, tendo uma alta homologia de sequência com CS04-FL-AA (por exemplo, pelo menos 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% ou 99,9% identidade), compreende uma ou mais substituições de aminoácidos selecionadas de m1, m2, m3, m4 e m5.

[00286] Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS04 compreende uma substituição de aminoácidos m1. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS04 compreende uma substituição de aminoácidos m2. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS04 compreende uma substituição de aminoácidos m3. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS04 compreende uma substituição de aminoácidos m4. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS04 compreende uma substituição de aminoácidos m5.

[00287] Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS04 compreende substituições de aminoácidos m12. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS04 compreende substituições de aminoácidos m13. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS04 compreende substituições de aminoácidos m23. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS04 compreende substituições de aminoácidos m24. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS04 compreende substituições de aminoácidos m25. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS04 compreende substituições de aminoácidos m34. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS04 compreende substituições de aminoácidos m35.

[00288] Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS04 compreende substituições de aminoácidos m123. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS04

compreende substituições de aminoácidos m234. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS04 compreende substituições de aminoácidos m125.

Polinucleotídeos CS01 Alterados por Códon

[00289] Numa modalidade, os polinucleotídeos alterados por códon fornecidos neste documento incluem uma sequência nucleotídica codificando um polipeptídeo variante do Fator VIII com um ligante que é clivável in vivo. O polipeptídeo de Fator VIII inclui um Fator VIII de cadeia leve, um Fator VIII de cadeia pesada e um ligante polipeptídico que une o terminal C da cadeia pesada ao terminal N da cadeia leve. A cadeia pesada do polipeptídeo de Fator VIII é codificada por uma primeira sequência nucleotídica possuindo uma identidade de sequência elevada com CS01-HC-NA (SEQ ID NO: 24), que é a porção de CS01-FL-NA (SEQ ID NO: 13) codificando para uma cadeia pesada do Fator VIII. A cadeia leve do polipeptídeo de Fator VIII é codificada por uma segunda sequência nucleotídica com uma identidade de sequência elevada para CS01-LC-NA (SEQ ID NO: 25), que é a porção de CS01-FL-NA (SEQ ID NO: 13) codificação para uma cadeia leve do Fator VIII. O ligante polipeptídico inclui um sítio de clivagem da furina, que permite a maturação in vivo (por exemplo, após a expressão in vivo ou a administração do polipeptídeo precursor).

[00290] Em algumas modalidades, a primeira e segunda sequências nucleotídicas têm pelo menos 95% de identidade de sequência com CS01-HC-NA e CS01-LC-NA (SEQ ID NOS 24 e 25), respectivamente. Em algumas modalidades, a primeira e segunda sequências nucleotídicas têm pelo menos 96% de identidade de sequência com CS01-HC-NA e CS01-LC-NA (SEQ ID NOS 24 e 25), respectivamente. Em algumas modalidades, a primeira e segunda sequências nucleotídicas têm pelo menos 97% de identidade de sequência com CS01-HC-NA e CS01-LC-NA (SEQ ID NOS 24 e 25), respectivamente. Em algumas modalidades, a primeira e segunda

sequências nucleotídicas têm pelo menos 98% de identidade de sequência com CS01-HC-NA e CS01-LC-NA (SEQ ID NOS 24 e 25), respectivamente. Em algumas modalidades, a primeira e segunda sequências nucleotídicas têm pelo menos 99% de identidade de sequência com CS01-HC-NA e CS01-LC-NA (SEQ ID NOS 24 e 25), respectivamente. Em algumas modalidades, a primeira e segunda sequências nucleotídicas têm pelo menos 99,5% de identidade de sequência com CS01-HC-NA e CS01-LC-NA (SEQ ID NOS 24 e 25), respectivamente. Em algumas modalidades, a primeira e segunda sequências nucleotídicas têm pelo menos 99,9% de identidade de sequência com CS01-HC-NA e CS01-LC-NA (SEQ ID NOS 24 e 25), respectivamente. Em algumas modalidades, a primeira e segunda sequências nucleotídicas são idênticas a CS01-HC-NA e CS01-LC-NA (SEQ ID NOS 24 e 25), respectivamente.

[00291] Em algumas modalidades, o ligante polipeptídico do construto do Fator VIII codificado por uma terceira sequência nucleotídica possuindo uma identidade de sequência elevada para BDLO04 (SEQ ID NO: 6), que codifica o ligante de 14 aminoácidos correspondente aos aminoácidos 760-773 de CS01. -FL-AA (SEQ ID NO: 2). Em algumas modalidades, a terceira sequência nucleotídica tem pelo menos 95% de identidade com BDLO04 (SEQ ID NO: 6). Em algumas modalidades, a terceira sequência nucleotídica tem pelo menos 96% de identidade com BDLO04 (SEQ ID NO: 6). Em algumas modalidades, a terceira sequência nucleotídica tem pelo menos 97% de identidade com BDLO04 (SEQ ID NO: 6). Em algumas modalidades, a terceira sequência nucleotídica tem pelo menos 98% de identidade com BDLO04 (SEQ ID NO: 6). Em algumas modalidades, a terceira sequência de nucleotídeos é idêntica a BDLO04 (SEQ ID NO: 6).

[00292] Em algumas modalidades, o polinucleotídeo alterado por códon tem uma sequência nucleotídica com uma identidade de sequência elevada para CS01-FL-NA (SEQ ID NO: 13). Em algumas modalidades, a

sequência nucleotídica tem pelo menos 95% de identidade com CS01-FL-NA (SEQ ID NO: 13). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica tem pelo menos 96% de identidade com CS01-FL-NA (SEQ ID NO: 13). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica tem pelo menos 97% de identidade com CS01-FL-NA (SEQ ID NO: 13). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica tem pelo menos 98% de identidade com CS01-FL-NA (SEQ ID NO: 13). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica tem pelo menos 99% de identidade com CS01-FL-NA (SEQ ID NO: 13). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica tem pelo menos 99,5% de identidade com CS01-FL-NA (SEQ ID NO: 13). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica tem pelo menos 99,9% de identidade com CS01-FL-NA (SEQ ID NO: 13). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica é idêntica à CS01-FL-NA (SEQ ID NO: 13).

[00293] Em algumas modalidades, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo alterado pelo códon tem uma sequência de aminoácidos com identidade de sequência elevada para CS01-FL-AA (SEQ ID NO: 2). Em algumas modalidades, a sequência de aminoácidos tem pelo menos 97% de identidade com CS01-FL-AA (SEQ ID NO: 2). Em algumas modalidades, a sequência de aminoácidos tem pelo menos 98% de identidade com CS01-FL-AA (SEQ ID NO: 2). Em algumas modalidades, a sequência de aminoácidos tem pelo menos 99% de identidade com CS01-FL-AA (SEQ ID NO: 2). Em algumas modalidades, a sequência de aminoácidos tem pelo menos 99,5% de identidade com CS01-FL-AA (SEQ ID NO: 2). Em algumas modalidades, a sequência de aminoácidos tem pelo menos 99,9% de identidade com CS01-FL-AA (SEQ ID NO: 2). Em algumas modalidades, a sequência de aminoácidos é idêntica a CS01-FL-AA (SEQ ID NO: 2).

[00294] Em algumas modalidades, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS01, tendo uma alta homologia de sequência com CS01-FL-AA (por exemplo, pelo menos 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5%

ou 99,9% identidade), compreende uma ou mais substituições de aminoácidos selecionadas de m1, m2, m3, m4 e m5.

[00295] Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS01 compreende uma substituição de aminoácidos m1. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS01 compreende uma substituição de aminoácidos m2. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS01 compreende uma substituição de aminoácidos m3. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS01 compreende uma substituição de aminoácidos m4. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS01 compreende uma substituição de aminoácidos m5.

[00296] Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS01 compreende substituições de aminoácidos m12. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS01 compreende substituições de aminoácidos m13. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS01 compreende substituições de aminoácidos m23. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS01 compreende substituições de aminoácidos m24. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS01 compreende substituições de aminoácidos m25. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS01 compreende substituições de aminoácidos m34. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS01 compreende substituições de aminoácidos m35.

[00297] Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS01 compreende substituições de aminoácidos m123. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS01 compreende substituições de aminoácidos m234. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS01 compreende

substituições de aminoácidos m125.

Polinucleotídeos CS23 Alterados por Códon

[00298] Numa modalidade, os polinucleotídeos alterados por códon fornecidos neste documento incluem uma sequência nucleotídica codificando um polipeptídeo variante do Fator VIII com um ligante que é clivável in vivo. O polipeptídeo de Fator VIII inclui um Fator VIII de cadeia leve, um Fator VIII de cadeia pesada e um ligante polipeptídico que une o terminal C da cadeia pesada ao terminal N da cadeia leve. A cadeia pesada do polipeptídeo de Fator VIII é codificada por uma primeira sequência nucleotídica possuindo uma identidade de sequência elevada com CS23-HC-NA (SEQ ID NO: 22), que é a porção de CS23-FL-NA (SEQ ID NO: 20) codificando para uma cadeia pesada do Fator VIII. A cadeia leve do polipeptídeo de Fator VIII é codificada por uma segunda sequência nucleotídica com uma identidade de sequência elevada para CS23-LC-NA (SEQ ID NO: 23), que é a porção de CS23-FL-NA (SEQ ID NO: 20) codificação para uma cadeia leve do Fator VIII. O ligante polipeptídico inclui um sítio de clivagem da furina, que permite a maturação in vivo (por exemplo, após a expressão in vivo ou a administração do polipeptídeo precursor).

[00299] Em algumas modalidades, a primeira e segunda sequências nucleotídicas têm pelo menos 95% de identidade de sequência com CS23-HC-NA e CS23-LC-NA (SEQ ID NOS 22 e 23), respectivamente. Em algumas modalidades, a primeira e segunda sequências nucleotídicas têm pelo menos 96% de identidade de sequência com CS23-HC-NA e CS23-LC-NA (SEQ ID NOS 22 e 23), respectivamente. Em algumas modalidades, a primeira e segunda sequências nucleotídicas têm pelo menos 97% de identidade de sequência com CS23-HC-NA e CS23-LC-NA (SEQ ID NOS 22 e 23), respectivamente. Em algumas modalidades, a primeira e segunda sequências nucleotídicas têm pelo menos 98% de identidade de sequência com CS23-HC-NA e CS23-LC-NA (SEQ ID NOS 22 e 23), respectivamente.

Em algumas modalidades, a primeira e segunda sequências nucleotídicas têm pelo menos 99% de identidade de sequência com CS23-HC-NA e CS23-LC-NA (SEQ ID NOS 22 e 23), respectivamente. Em algumas modalidades, a primeira e segunda sequências nucleotídicas têm pelo menos 99,5% de identidade de sequência com CS23-HC-NA e CS23-LC-NA (SEQ ID NOS 22 e 23), respectivamente. Em algumas modalidades, a primeira e segunda sequências nucleotídicas têm pelo menos 99,9% de identidade de sequência com CS23-HC-NA e CS23-LC-NA (SEQ ID NOS 22 e 23), respectivamente. Em algumas modalidades, a primeira e segunda sequências nucleotídicas são idênticas a CS23-HC-NA e CS23-LC-NA (SEQ ID NOS 22 e 23), respectivamente.

[00300] Em algumas modalidades, o ligante polipeptídico do construto do Fator VIII codificado por uma terceira sequência nucleotídica possuindo uma identidade de sequência elevada para BDLO04 (SEQ ID NO: 6), que codifica o ligante de 14 aminoácidos correspondente aos aminoácidos 760-773 de CS23-FL-AA (SEQ ID NO: 21). Em algumas modalidades, a terceira sequência nucleotídica tem pelo menos 95% de identidade com BDLO04 (SEQ ID NO: 6). Em algumas modalidades, a terceira sequência nucleotídica tem pelo menos 96% de identidade com BDLO04 (SEQ ID NO: 6). Em algumas modalidades, a terceira sequência nucleotídica tem pelo menos 97% de identidade com BDLO04 (SEQ ID NO: 6). Em algumas modalidades, a terceira sequência nucleotídica tem pelo menos 98% de identidade com BDLO04 (SEQ ID NO: 6). Em algumas modalidades, a terceira sequência de nucleotídeos é idêntica a BDLO04 (SEQ ID NO: 6).

[00301] Em algumas modalidades, o polinucleotídeo alterado por códon tem uma sequência nucleotídica com uma identidade de sequência elevada para CS23-FL-NA (SEQ ID NO: 20). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica tem pelo menos 95% de identidade com CS23-FL-NA (SEQ ID NO: 20). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica tem

pelo menos 96% de identidade com CS23-FL-NA (SEQ ID NO: 20). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica tem pelo menos 97% de identidade com CS23-FL-NA (SEQ ID NO: 20). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica tem pelo menos 98% de identidade com CS23-FL-NA (SEQ ID NO: 20). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica tem pelo menos 99% de identidade com CS23-FL-NA (SEQ ID NO: 20). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica tem pelo menos 99,5% de identidade com CS23-FL-NA (SEQ ID NO: 20). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica tem pelo menos 99,9% de identidade com CS23-FL-NA (SEQ ID NO: 20). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica é idêntica à CS23-FL-NA (SEQ ID NO: 20).

[00302] Em algumas modalidades, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo alterado pelo códon tem uma sequência de aminoácidos com identidade de sequência elevada para CS23-FL-AA (SEQ ID NO: 21). Em algumas modalidades, a sequência de aminoácidos tem pelo menos 97% de identidade com CS23-FL-AA (SEQ ID NO: 21). Em algumas modalidades, a sequência de aminoácidos tem pelo menos 98% de identidade com CS23-FL-AA (SEQ ID NO: 21). Em algumas modalidades, a sequência de aminoácidos tem pelo menos 99% de identidade com CS23-FL-AA (SEQ ID NO: 21). Em algumas modalidades, a sequência de aminoácidos tem pelo menos 99,5% de identidade com CS23-FL-AA (SEQ ID NO: 21). Em algumas modalidades, a sequência de aminoácidos tem pelo menos 99,9% de identidade com CS23-FL-AA (SEQ ID NO: 21). Em algumas modalidades, a sequência de aminoácidos é idêntica a CS23-FL-AA (SEQ ID NO: 21).

[00303] Em algumas modalidades, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS23, tendo uma alta homologia de sequência com CS23-FL-AA (por exemplo, pelo menos 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% ou 99,9% identidade), compreende uma ou mais substituições de aminoácidos selecionadas de m1, m2, m3, m4 e m5.

[00304] Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS23 compreende uma substituição de aminoácidos m1. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS23 compreende uma substituição de aminoácidos m2. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS23 compreende uma substituição de aminoácidos m3. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS23 compreende uma substituição de aminoácidos m4. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS23 compreende uma substituição de aminoácidos m5.

[00305] Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS23 compreende substituições de aminoácidos m12. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS23 compreende substituições de aminoácidos m13. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS23 compreende substituições de aminoácidos m23. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS23 compreende substituições de aminoácidos m24. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS23 compreende substituições de aminoácidos m25. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS23 compreende substituições de aminoácidos m34. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS23 compreende substituições de aminoácidos m35.

[00306] Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS23 compreende substituições de aminoácidos m123. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS23 compreende substituições de aminoácidos m234. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS23 compreende substituições de aminoácidos m125.

D. Polinucleotídeos alterados por códon que codificam uma proteína de

fator VIII de cadeia única

[00307] Os construtos do fator VIII em que o sítio de clivagem da furina localizado na extremidade do terminal C do domínio B removido retém a atividade como um polipeptídeo de cadeia simples, apesar de que a maturação normal da molécula do Fator VIII não possa ocorrer (Leyte et al. (1991)). Analogamente, um construto do Fator VIII deletado do domínio B com um sítio de furina atenuado (contendo uma substituição de aminoácido R1664H) é mais biologicamente ativa do que o construto correspondente do Fator VIII com um sítio de clivagem de furina de tipo selvagem (Siner et al. (2013)). Consequentemente, em algumas modalidades, os polinucleotídeos alterados por códon aqui proporcionados incluem uma sequência nucleotídica que codifica um polipeptídeo variante do Fator VIII de cadeia única. O polipeptídeo de Fator VIII de cadeia única inclui um Fator VIII de cadeia leve, um Fator VIII de cadeia pesada e um ligante polipeptídico que une o terminal C da cadeia pesada ao terminal N da cadeia leve. O ligante polipeptídico não inclui um sítio de clivagem de furina.

Polinucleotídeos com Códon CS04 de Cadeia Única

[00308] Em uma modalidade, os polinucleotídeos alterados por códon aqui proporcionados incluem uma sequência nucleotídica que codifica um polipeptídeo variante do Fator VIII de cadeia única. O polipeptídeo de Fator VIII inclui um Fator VIII de cadeia leve, um Fator VIII de cadeia pesada e um ligante polipeptídico opcional que une o terminal C da cadeia pesada ao terminal N da cadeia leve. A cadeia pesada do polipeptídeo de Fator VIII é codificada por uma primeira sequência nucleotídica possuindo uma identidade de sequência elevada com CS04-HC-NA (SEQ ID NO: 3), que é a porção de CS04-FL-NA (SEQ ID NO: 1) codificando para uma cadeia pesada do Fator VIII. A cadeia leve do polipeptídeo de Fator VIII é codificada por uma segunda sequência nucleotídica com uma identidade de sequência elevada para CS04-LC-NA (SEQ ID NO: 4), que é a porção de CS04-FL-NA (SEQ

ID NO: 1) codificação para uma cadeia leve do Fator VIII. O ligante polipeptídico opcional não inclui um sítio de clivagem de furina.

[00309] Em algumas modalidades, a primeira e segunda sequências nucleotídicas têm pelo menos 95% de identidade de sequência com CS04-HC-NA e CS04-LC-NA (SEQ ID NOS 3 e 4), respectivamente. Em algumas modalidades, a primeira e segunda sequências nucleotídicas têm pelo menos 96% de identidade de sequência com CS04-HC-NA e CS04-LC-NA (SEQ ID NOS 3 e 4), respectivamente. Em algumas modalidades, a primeira e segunda sequências nucleotídicas têm pelo menos 97% de identidade de sequência com CS04-HC-NA e CS04-LC-NA (SEQ ID NOS 3 e 4), respectivamente. Em algumas modalidades, a primeira e segunda sequências nucleotídicas têm pelo menos 98% de identidade de sequência com CS04-HC-NA e CS04-LC-NA (SEQ ID NOS 3 e 4), respectivamente. Em algumas modalidades, a primeira e segunda sequências nucleotídicas têm pelo menos 99% de identidade de sequência com CS04-HC-NA e CS04-LC-NA (SEQ ID NOS 3 e 4), respectivamente. Em algumas modalidades, a primeira e segunda sequências nucleotídicas têm pelo menos 99,5% de identidade de sequência com CS04-HC-NA e CS04-LC-NA (SEQ ID NOS 3 e 4), respectivamente. Em algumas modalidades, a primeira e segunda sequências nucleotídicas têm pelo menos 99,9% de identidade de sequência com CS04-HC-NA e CS04-LC-NA (SEQ ID NOS 3 e 4), respectivamente. Em algumas modalidades, a primeira e segunda sequências nucleotídicas são idênticas a CS04-HC-NA e CS04-LC-NA (SEQ ID NOS 3 e 4), respectivamente.

[00310] Em algumas modalidades, o polinucleotídeo alterado por códon tem uma sequência nucleotídica com uma identidade de sequência elevada para CS04-SC1-NA (SEQ ID NO: 9). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica tem pelo menos 95% de identidade com CS04-SC1-NA (SEQ ID NO: 9). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica tem pelo menos 96% de identidade com CS04-SC1-NA (SEQ ID NO: 9). Em

algumas modalidades, a sequência nucleotídica tem pelo menos 97% de identidade com CS04-SC1-NA (SEQ ID NO: 9). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica tem pelo menos 98% de identidade com CS04-SC1-NA (SEQ ID NO: 9). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica tem pelo menos 99% de identidade com CS04-SC1-NA (SEQ ID NO: 9). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica tem pelo menos 99,5% de identidade com CS04-SC1-NA (SEQ ID NO: 9). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica tem pelo menos 99,9% de identidade com CS04-SC1-NA (SEQ ID NO: 9). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica é idêntica à CS04-SC1-NA (SEQ ID NO: 9).

[00311] Em algumas modalidades, o polinucleotídeo alterado por códon tem uma sequência nucleotídica com uma identidade de sequência elevada para CS04-SC2-NA (SEQ ID NO: 11). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica tem pelo menos 95% de identidade com CS04-SC2-NA (SEQ ID NO: 11). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica tem pelo menos 96% de identidade com CS04-SC2-NA (SEQ ID NO: 11). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica tem pelo menos 97% de identidade com CS04-SC2-NA (SEQ ID NO: 11). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica tem pelo menos 98% de identidade com CS04-SC2-NA (SEQ ID NO: 11). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica tem pelo menos 99% de identidade com CS04-SC2-NA (SEQ ID NO: 11). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica tem pelo menos 99,5% de identidade com CS04-SC2-NA (SEQ ID NO: 11). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica tem pelo menos 99,9% de identidade com CS04-SC2-NA (SEQ ID NO: 11). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica é idêntica à CS04-SC2-NA (SEQ ID NO: 11).

[00312] Em algumas modalidades, a variante do Fator VIII de cadeia simples codificada pelo polinucleotídeo alterado pelo códon tem uma sequência de aminoácidos com elevada identidade de sequência com CS04-

SC1-AA (SEQ ID NO: 10; Fator Humano VIIIΔ (760-1667) (SPI; *HsFVIIIΔ* (741-1648), SPE)). Em algumas modalidades, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo alterado pelo códon tem uma sequência de aminoácidos com identidade de sequência elevada para CS04-SC1-AA (SEQ ID NO: 10). Em algumas modalidades, a sequência de aminoácidos tem pelo menos 97% de identidade com CS04-SC1-AA (SEQ ID NO: 10). Em algumas modalidades, a sequência de aminoácidos tem pelo menos 98% de identidade com CS04-SC1-AA (SEQ ID NO: 10). Em algumas modalidades, a sequência de aminoácidos tem pelo menos 99% de identidade com CS04-SC1-AA (SEQ ID NO: 10). Em algumas modalidades, a sequência de aminoácidos tem pelo menos 99,5% de identidade com CS04-SC1-AA (SEQ ID NO: 10). Em algumas modalidades, a sequência de aminoácidos tem pelo menos 99,9% de identidade com CS04-SC1-AA (SEQ ID NO: 10). Em algumas modalidades, a sequência de aminoácidos é idêntica a CS04-SC1-AA (SEQ ID NO: 10).

[00313] Em algumas modalidades, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS04-SC1, tendo uma alta homologia de sequência com CS04-SC1-AA (por exemplo, pelo menos 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% ou 99,9% identidade), compreende uma ou mais substituições de aminoácidos selecionadas de m1, m2, m3, m4 e m5.

[00314] Em algumas modalidades, a variante do Fator VIII de cadeia simples codificada pelo polinucleotídeo alterado pelo códon tem uma sequência de aminoácidos com elevada identidade de sequência com CS04-SC2-AA (SEQ ID NO: 12; Fator Humano VIIIΔ (772-1667) (SPI; *HsFVIIIΔ* (753-1648), SPE)). Em algumas modalidades, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo alterado pelo códon tem uma sequência de aminoácidos com identidade de sequência elevada para CS04-SC2-AA (SEQ ID NO: 12). Em algumas modalidades, a sequência de aminoácidos tem pelo menos 97% de identidade com CS04-SC2-AA (SEQ ID NO: 12). Em algumas modalidades, a sequência de aminoácidos tem pelo menos 98% de identidade

com CS04-SC2-AA (SEQ ID NO: 12). Em algumas modalidades, a sequência de aminoácidos tem pelo menos 99% de identidade com CS04-SC2-AA (SEQ ID NO: 12). Em algumas modalidades, a sequência de aminoácidos tem pelo menos 99,5% de identidade com CS04-SC2-AA (SEQ ID NO: 12). Em algumas modalidades, a sequência de aminoácidos tem pelo menos 99,9% de identidade com CS04-SC2-AA (SEQ ID NO: 12). Em algumas modalidades, a sequência de aminoácidos é idêntica a CS04-SC2-AA (SEQ ID NO: 12).

[00315] Em algumas modalidades, a variante do Fator VIII de cadeia única codificada pelo polinucleotídeo CS04-SC2, tendo uma alta homologia de sequência com CS04-SC2-AA (por exemplo, pelo menos 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% ou 99,9% identidade), compreende uma ou mais substituições de aminoácidos selecionadas de m1, m2, m3, m4 e m5.

[00316] Numa modalidade, a variante do Fator VIII de cadeia única codificada pelo polinucleotídeo CS04 compreende uma substituição de aminoácidos m1. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS04 compreende uma substituição de aminoácidos m2. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS04 compreende uma substituição de aminoácidos m3. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS04 compreende uma substituição de aminoácidos m4. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS04 compreende uma substituição de aminoácidos m5.

[00317] Numa modalidade, a variante do Fator VIII de cadeia única codificada pelo polinucleotídeo CS04 compreende substituições de aminoácidos m12. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS04 compreende substituições de aminoácidos m13. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS04 compreende substituições de aminoácidos m23. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS04 compreende substituições

de aminoácidos m24. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS04 compreende substituições de aminoácidos m25. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS04 compreende substituições de aminoácidos m34. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS04 compreende substituições de aminoácidos m35.

[00318] Numa modalidade, a variante do Fator VIII de cadeia única codificada pelo polinucleotídeo CS04 compreende substituições de aminoácidos m123. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS04 compreende substituições de aminoácidos m234. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS04 compreende substituições de aminoácidos m125.

Polinucleotídeos com Códon CS01 de Cadeia Única

[00319] Em uma modalidade, os polinucleotídeos alterados por códon aqui proporcionados incluem uma sequência nucleotídica que codifica um polipeptídeo variante do Fator VIII de cadeia única. O polipeptídeo de Fator VIII inclui um Fator VIII de cadeia leve, um Fator VIII de cadeia pesada e um ligante polipeptídico opcional que une o terminal C da cadeia pesada ao terminal N da cadeia leve. A cadeia pesada do polipeptídeo de Fator VIII é codificada por uma primeira sequência nucleotídica possuindo uma identidade de sequência elevada com CS01-HC-NA (SEQ ID NO: 24), que é a porção de CS01-FL-NA (SEQ ID NO: 13) codificando para uma cadeia pesada do Fator VIII. A cadeia leve do polipeptídeo de Fator VIII é codificada por uma segunda sequência nucleotídica com uma identidade de sequência elevada para CS01-LC-NA (SEQ ID NO: 25), que é a porção de CS01-FL-NA (SEQ ID NO: 13) codificação para uma cadeia leve do Fator VIII. O ligante polipeptídico opcional não inclui um sítio de clivagem de furina.

[00320] Em algumas modalidades, a primeira e segunda sequências nucleotídicas têm pelo menos 95% de identidade de sequência com CS01-

HC-NA e CS01-LC-NA (SEQ ID NOS 24 e 25), respectivamente. Em algumas modalidades, a primeira e segunda sequências nucleotídicas têm pelo menos 96% de identidade de sequência com CS01-HC-NA e CS01-LC-NA (SEQ ID NOS 24 e 25), respectivamente. Em algumas modalidades, a primeira e segunda sequências nucleotídicas têm pelo menos 97% de identidade de sequência com CS01-HC-NA e CS01-LC-NA (SEQ ID NOS 24 e 25), respectivamente. Em algumas modalidades, a primeira e segunda sequências nucleotídicas têm pelo menos 98% de identidade de sequência com CS01-HC-NA e CS01-LC-NA (SEQ ID NOS 24 e 25), respectivamente. Em algumas modalidades, a primeira e segunda sequências nucleotídicas têm pelo menos 99% de identidade de sequência com CS01-HC-NA e CS01-LC-NA (SEQ ID NOS 24 e 25), respectivamente. Em algumas modalidades, a primeira e segunda sequências nucleotídicas têm pelo menos 99,5% de identidade de sequência com CS01-HC-NA e CS01-LC-NA (SEQ ID NOS 24 e 25), respectivamente. Em algumas modalidades, a primeira e segunda sequências nucleotídicas têm pelo menos 99,9% de identidade de sequência com CS01-HC-NA e CS01-LC-NA (SEQ ID NOS 24 e 25), respectivamente. Em algumas modalidades, a primeira e segunda sequências nucleotídicas são idênticas a CS01-HC-NA e CS01-LC-NA (SEQ ID NOS 24 e 25), respectivamente.

[00321] Em algumas modalidades, o polinucleotídeo alterado por códon tem uma sequência nucleotídica com uma identidade de sequência elevada para CS01-SC1-NA (SEQ ID NO: 26). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica tem pelo menos 95% de identidade com CS01-SC1-NA (SEQ ID NO: 26). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica tem pelo menos 96% de identidade com CS01-SC1-NA (SEQ ID NO: 26). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica tem pelo menos 97% de identidade com CS01-SC1-NA (SEQ ID NO: 26). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica tem pelo menos 98% de identidade com CS01-SC1-

NA (SEQ ID NO: 26). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica tem pelo menos 99% de identidade com CS01-SC1-NA (SEQ ID NO: 26). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica tem pelo menos 99,5% de identidade com CS01-SC1-NA (SEQ ID NO: 26). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica tem pelo menos 99,9% de identidade com CS01-SC1-NA (SEQ ID NO: 26). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica é idêntica à CS01-SC1-NA (SEQ ID NO: 26).

[00322] Em algumas modalidades, o polinucleotídeo alterado por códon tem uma sequência nucleotídica com uma identidade de sequência elevada para CS01-SC2-NA (SEQ ID NO: 27). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica tem pelo menos 95% de identidade com CS01-SC2-NA (SEQ ID NO: 27). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica tem pelo menos 96% de identidade com CS01-SC2-NA (SEQ ID NO: 27). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica tem pelo menos 97% de identidade com CS01-SC2-NA (SEQ ID NO: 27). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica tem pelo menos 98% de identidade com CS01-SC2-NA (SEQ ID NO: 27). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica tem pelo menos 99% de identidade com CS01-SC2-NA (SEQ ID NO: 27). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica tem pelo menos 99,5% de identidade com CS01-SC2-NA (SEQ ID NO: 27). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica tem pelo menos 99,9% de identidade com CS01-SC2-NA (SEQ ID NO: 27). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica é idêntica à CS01-SC2-NA (SEQ ID NO: 27).

[00323] Em algumas modalidades, a variante do Fator VIII de cadeia simples codificada pelo polinucleotídeo alterado pelo códon tem uma sequência de aminoácidos com elevada identidade de sequência com CS01-SC1-AA (SEQ ID NO: 10; Fator Humano VIII Δ (760-1667) (SPI; *HsFVIII* Δ (741-1648), SPE)). Em algumas modalidades, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo alterado pelo códon tem uma sequência de

aminoácidos com identidade de sequência elevada para CS01-SC1-AA (SEQ ID NO: 10). Em algumas modalidades, a sequência de aminoácidos tem pelo menos 97% de identidade com CS01-SC1-AA (SEQ ID NO: 10). Em algumas modalidades, a sequência de aminoácidos tem pelo menos 98% de identidade com CS01-SC1-AA (SEQ ID NO: 10). Em algumas modalidades, a sequência de aminoácidos tem pelo menos 99% de identidade com CS01-SC1-AA (SEQ ID NO: 10). Em algumas modalidades, a sequência de aminoácidos tem pelo menos 99,5% de identidade com CS01-SC1-AA (SEQ ID NO: 10). Em algumas modalidades, a sequência de aminoácidos tem pelo menos 99,9% de identidade com CS01-SC1-AA (SEQ ID NO: 10). Em algumas modalidades, a sequência de aminoácidos é idêntica a CS01-SC1-AA (SEQ ID NO: 10).

[00324] Em algumas modalidades, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS01-SC1, tendo uma alta homologia de sequência com CS01-SC1-AA (por exemplo, pelo menos 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% ou 99,9% identidade), compreende uma ou mais substituições de aminoácidos selecionadas de m1, m2, m3, m4 e m5.

[00325] Em algumas modalidades, a variante do Fator VIII de cadeia simples codificada pelo polinucleotídeo alterado pelo códon tem uma sequência de aminoácidos com elevada identidade de sequência com CS01-SC2-AA (SEQ ID NO: 12; Fator Humano VIII Δ (772-1667) (SPI; *HsFVIII Δ* (753-1648), SPE)). Em algumas modalidades, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo alterado pelo códon tem uma sequência de aminoácidos com identidade de sequência elevada para CS01-SC2-AA (SEQ ID NO: 12). Em algumas modalidades, a sequência de aminoácidos tem pelo menos 97% de identidade com CS01-SC2-AA (SEQ ID NO: 12). Em algumas modalidades, a sequência de aminoácidos tem pelo menos 98% de identidade com CS01-SC2-AA (SEQ ID NO: 12). Em algumas modalidades, a sequência de aminoácidos tem pelo menos 99% de identidade com CS01-SC2-AA (SEQ ID NO: 12). Em algumas modalidades, a sequência de aminoácidos tem pelo

menos 99,5% de identidade com CS01-SC2-AA (SEQ ID NO: 12). Em algumas modalidades, a sequência de aminoácidos tem pelo menos 99,9% de identidade com CS01-SC2-AA (SEQ ID NO: 12). Em algumas modalidades, a sequência de aminoácidos é idêntica a CS01-SC2-AA (SEQ ID NO: 12).

[00326] Em algumas modalidades, a variante do Fator VIII de cadeia única codificada pelo polinucleotídeo CS01-SC2, tendo uma alta homologia de sequência com CS01-SC2-AA (por exemplo, pelo menos 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% ou 99,9% identidade), compreende uma ou mais substituições de aminoácidos selecionadas de m1, m2, m3, m4 e m5.

[00327] Numa modalidade, a variante do Fator VIII de cadeia única codificada pelo polinucleotídeo CS01 compreende uma substituição de aminoácidos m1. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS01 compreende uma substituição de aminoácidos m2. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS01 compreende uma substituição de aminoácidos m3. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS01 compreende uma substituição de aminoácidos m4. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS01 compreende uma substituição de aminoácidos m5.

[00328] Numa modalidade, a variante do Fator VIII de cadeia única codificada pelo polinucleotídeo CS01 compreende substituições de aminoácidos m12. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS01 compreende substituições de aminoácidos m13. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS01 compreende substituições de aminoácidos m23. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS01 compreende substituições de aminoácidos m24. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS01 compreende substituições de aminoácidos m25. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo

CS01 compreende substituições de aminoácidos m34. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS01 compreende substituições de aminoácidos m35.

[00329] Numa modalidade, a variante do Fator VIII de cadeia única codificada pelo polinucleotídeo CS01 compreende substituições de aminoácidos m123. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS01 compreende substituições de aminoácidos m234. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS01 compreende substituições de aminoácidos m125.

Polinucleotídeos com Códon CS23 de Cadeia Única

[00330] Em uma modalidade, os polinucleotídeos alterados por códon aqui proporcionados incluem uma sequência nucleotídica que codifica um polipeptídeo variante do Fator VIII de cadeia única. O polipeptídeo de Fator VIII inclui um Fator VIII de cadeia leve, um Fator VIII de cadeia pesada e um ligante polipeptídico opcional que une o terminal C da cadeia pesada ao terminal N da cadeia leve. A cadeia pesada do polipeptídeo de Fator VIII é codificada por uma primeira sequência nucleotídica possuindo uma identidade de sequência elevada com CS23-HC-NA (SEQ ID NO: 22), que é a porção de CS23-FL-NA (SEQ ID NO: 20) codificando para uma cadeia pesada do Fator VIII. A cadeia leve do polipeptídeo de Fator VIII é codificada por uma segunda sequência nucleotídica com uma identidade de sequência elevada para CS23-LC-NA (SEQ ID NO: 23), que é a porção de CS23-FL-NA (SEQ ID NO: 20) codificação para uma cadeia leve do Fator VIII. O ligante polipeptídico opcional não inclui um sítio de clivagem de furina.

[00331] Em algumas modalidades, a primeira e segunda sequências nucleotídicas têm pelo menos 95% de identidade de sequência com CS23-HC-NA e CS23-LC-NA (SEQ ID NOS 22 e 23), respectivamente. Em algumas modalidades, a primeira e segunda sequências nucleotídicas têm pelo menos 96% de identidade de sequência com CS23-HC-NA e CS23-LC-NA

(SEQ ID NOS 22 e 23), respectivamente. Em algumas modalidades, a primeira e segunda sequências nucleotídicas têm pelo menos 97% de identidade de sequência com CS23-HC-NA e CS23-LC-NA (SEQ ID NOS 22 e 23), respectivamente. Em algumas modalidades, a primeira e segunda sequências nucleotídicas têm pelo menos 98% de identidade de sequência com CS23-HC-NA e CS23-LC-NA (SEQ ID NOS 22 e 23), respectivamente. Em algumas modalidades, a primeira e segunda sequências nucleotídicas têm pelo menos 99% de identidade de sequência com CS23-HC-NA e CS23-LC-NA (SEQ ID NOS 22 e 23), respectivamente. Em algumas modalidades, a primeira e segunda sequências nucleotídicas têm pelo menos 99,5% de identidade de sequência com CS23-HC-NA e CS23-LC-NA (SEQ ID NOS 22 e 23), respectivamente. Em algumas modalidades, a primeira e segunda sequências nucleotídicas têm pelo menos 99,9% de identidade de sequência com CS23-HC-NA e CS23-LC-NA (SEQ ID NOS 22 e 23), respectivamente. Em algumas modalidades, a primeira e segunda sequências nucleotídicas são idênticas a CS23-HC-NA e CS23-LC-NA (SEQ ID NOS 22 e 23), respectivamente.

[00332] Em algumas modalidades, o polinucleotídeo alterado por códon tem uma sequência nucleotídica com uma identidade de sequência elevada para CS23-SC1-NA (SEQ ID NO: 28). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica tem pelo menos 95% de identidade com CS23-SC1-NA (SEQ ID NO: 28). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica tem pelo menos 96% de identidade com CS23-SC1-NA (SEQ ID NO: 28). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica tem pelo menos 97% de identidade com CS23-SC1-NA (SEQ ID NO: 28). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica tem pelo menos 98% de identidade com CS23-SC1-NA (SEQ ID NO: 28). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica tem pelo menos 99% de identidade com CS23-SC1-NA (SEQ ID NO: 28). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica tem pelo menos 99,5% de

identidade com CS23-SC1-NA (SEQ ID NO: 28). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica tem pelo menos 99,9% de identidade com CS23-SC1-NA (SEQ ID NO: 28). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica é idêntica à CS23-SC1-NA (SEQ ID NO: 28).

[00333] Em algumas modalidades, o polinucleotídeo alterado por códon tem uma sequência nucleotídica com uma identidade de sequência elevada para CS23-SC2-NA (SEQ ID NO: 29). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica tem pelo menos 95% de identidade com CS23-SC2-NA (SEQ ID NO: 29). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica tem pelo menos 96% de identidade com CS23-SC2-NA (SEQ ID NO: 29). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica tem pelo menos 97% de identidade com CS23-SC2-NA (SEQ ID NO: 29). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica tem pelo menos 98% de identidade com CS23-SC2-NA (SEQ ID NO: 29). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica tem pelo menos 99% de identidade com CS23-SC2-NA (SEQ ID NO: 29). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica tem pelo menos 99,5% de identidade com CS23-SC2-NA (SEQ ID NO: 29). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica tem pelo menos 99,9% de identidade com CS23-SC2-NA (SEQ ID NO: 29). Em algumas modalidades, a sequência nucleotídica é idêntica à CS23-SC2-NA (SEQ ID NO: 29).

[00334] Em algumas modalidades, a variante do Fator VIII de cadeia simples codificada pelo polinucleotídeo alterado pelo códon tem uma sequência de aminoácidos com elevada identidade de sequência com CS23-SC1-AA (SEQ ID NO: 10; Fator Humano VIII Δ (760-1667) (SPI; CS04 Δ (741-1648), SPE)). Em algumas modalidades, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo alterado pelo códon tem uma sequência de aminoácidos com identidade de sequência elevada para CS23-SC1-AA (SEQ ID NO: 10). Em algumas modalidades, a sequência de aminoácidos tem pelo menos 97% de identidade com CS23-SC1-AA (SEQ ID NO: 10). Em algumas

modalidades, a sequência de aminoácidos tem pelo menos 98% de identidade com CS23-SC1-AA (SEQ ID NO: 10). Em algumas modalidades, a sequência de aminoácidos tem pelo menos 99% de identidade com CS23-SC1-AA (SEQ ID NO: 10). Em algumas modalidades, a sequência de aminoácidos tem pelo menos 99,5% de identidade com CS23-SC1-AA (SEQ ID NO: 10). Em algumas modalidades, a sequência de aminoácidos tem pelo menos 99,9% de identidade com CS23-SC1-AA (SEQ ID NO: 10). Em algumas modalidades, a sequência de aminoácidos é idêntica a CS23-SC1-AA (SEQ ID NO: 10).

[00335] Em algumas modalidades, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS23-SC1, tendo uma alta homologia de sequência com CS23-SC1-AA (por exemplo, pelo menos 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% ou 99,9% identidade), compreende uma ou mais substituições de aminoácidos selecionadas de m1, m2, m3, m4 e m5.

[00336] Em algumas modalidades, a variante do Fator VIII de cadeia simples codificada pelo polinucleotídeo alterado pelo códon tem uma sequência de aminoácidos com elevada identidade de sequência com CS23-SC2-AA (SEQ ID NO: 12; Fator Humano VIIIΔ (772-1667) (SPI; *HsFVIII*Δ (753-1648), SPE)). Em algumas modalidades, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo alterado pelo códon tem uma sequência de aminoácidos com identidade de sequência elevada para CS23-SC2-AA (SEQ ID NO: 12). Em algumas modalidades, a sequência de aminoácidos tem pelo menos 97% de identidade com CS23-SC2-AA (SEQ ID NO: 12). Em algumas modalidades, a sequência de aminoácidos tem pelo menos 98% de identidade com CS23-SC2-AA (SEQ ID NO: 12). Em algumas modalidades, a sequência de aminoácidos tem pelo menos 99% de identidade com CS23-SC2-AA (SEQ ID NO: 12). Em algumas modalidades, a sequência de aminoácidos tem pelo menos 99,5% de identidade com CS23-SC2-AA (SEQ ID NO: 12). Em algumas modalidades, a sequência de aminoácidos tem pelo menos 99,9% de identidade com CS23-SC2-AA (SEQ ID NO: 12). Em algumas modalidades,

a sequência de aminoácidos é idêntica a CS23-SC2-AA (SEQ ID NO: 12).

[00337] Em algumas modalidades, a variante do Fator VIII de cadeia única codificada pelo polinucleotídeo CS23-SC2, tendo uma alta homologia de sequência com CS23-SC2-AA (por exemplo, pelo menos 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% ou 99,9% identidade), compreende uma ou mais substituições de aminoácidos selecionadas de m1, m2, m3, m4 e m5.

[00338] Numa modalidade, a variante do Fator VIII de cadeia única codificada pelo polinucleotídeo CS23 compreende uma substituição de aminoácidos m1. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS23 compreende uma substituição de aminoácidos m2. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS23 compreende uma substituição de aminoácidos m3. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS23 compreende uma substituição de aminoácidos m4. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS23 compreende uma substituição de aminoácidos m5.

[00339] Numa modalidade, a variante do Fator VIII de cadeia única codificada pelo polinucleotídeo CS23 compreende substituições de aminoácidos m12. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS23 compreende substituições de aminoácidos m13. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS23 compreende substituições de aminoácidos m23. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS23 compreende substituições de aminoácidos m24. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS23 compreende substituições de aminoácidos m25. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS23 compreende substituições de aminoácidos m34. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS23 compreende substituições de aminoácidos m35.

[00340] Numa modalidade, a variante do Fator VIII de cadeia única codificada pelo polinucleotídeo CS23 compreende substituições de aminoácidos m123. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS23 compreende substituições de aminoácidos m234. Numa modalidade, a variante do Fator VIII codificada pelo polinucleotídeo CS23 compreende substituições de aminoácidos m125.

E. Vetores de Expressão do Fator VIII

[00341] Em algumas modalidades, os polinucleotídeos alterados por códon aqui descritos são integrados em vetores de expressão. Exemplos não limitativos de vetores de expressão incluem vetores virais (por exemplo, vetores adequados para terapia gênica), vetores plasmídeo, vetores de bacteriófago, cosmídeos, fagemídeos, cromossomas artificiais e semelhantes.

[00342] Exemplos não limitativos de vetores virais incluem: retrovírus, por exemplo, vírus da leucemia murina de Moloney (MMLV), vírus do sarcoma murino Harvey, vírus do tumor mamário murino e vírus do sarcoma de Rous; adenovírus, vírus adeno-associados; Vus do tipo SV40; poliomavírus; Vírus Epstein-Barr; vírus do papiloma; vírus do herpes; vírus vaccinia; e vírus da poliomielite.

[00343] Em algumas modalidades, os polinucleotídeos alterados por códon aqui descritos são integrados num vetor de terapia gênica. Em algumas modalidades, o vetor de terapia genética é um retrovírus e, particularmente, um retrovírus deficiente na replicação. Os protocolos para a produção de retrovírus deficientes na replicação são conhecidos na técnica. Para revisão, ver Kriegler, M., Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual, W.H. Freeman Co., New York (1990) and Murry, E. J., Methods in Molecular Biology, Vol. 7, Humana Press, Inc., Clifton, N.J. (1991).

[00344] Numa modalidade, o vetor de terapia gênica é um vetor de terapia genética baseado no vírus adeno-associado (AAV). Os sistemas AAV foram descritos anteriormente e são geralmente bem conhecidos na técnica

(Kelleher and Vos, *Biotechniques*, 17(6):1110-17 (1994); Cotten et al., *Proc Natl Acad Sci USA*, 89(13):6094-98 (1992); Curiel, *Nat Immun*, 13(2-3):141-64 (1994); Muzyczka, *Curr Top Microbiol Immunol*, 158:97-129 (1992); and Asokan A, et al., *Mol. Ther.*, 20 (4): 699-708 (2012), cada um aqui incorporado por referência na sua totalidade para todos os fins). Detalhes relativos à geração e utilização de vetores de rAAV são descritos, por exemplo, nas Patentes US nº 5.139.941 e 4.797.368, cada uma aqui incorporada por referência na sua totalidade para todos os fins. Em uma modalidade particular, o vetor AAV é um vetor AAV-8.

[00345] Em algumas modalidades, os polinucleotídeos alterados por códon aqui descritos são integrados num vetor de expressão retroviral. Estes sistemas foram descritos anteriormente e são geralmente bem conhecidos na técnica (Mann *et al.*, *Cell*, 33:153-159, 1983; Nicolas and Rubinstein, In: *Vectors: A survey of molecular cloning vectors and their uses*, Rodriguez and Denhardt, eds., Stoneham: Butterworth, pp. 494-513, 1988; Temin, In: *Gene Transfer*, Kucherlapati (ed.), Nova York: Plenum Press, pp. 149-188, 1986). Numa modalidade específica, o vetor retroviral é um vetor lentiviral (veja, por exemplo, Naldini *et al.*, *Science*, 272(5259):263-267, 1996; Zufferey *et al.*, *Nat Biotechnol*, 15(9):871-875, 1997; Blomer *et al.*, *J Virol.*, 71(9):6641-6649, 1997; U.S. Pat. 6.013.516 e 5.994.136).

[00346] Pode ser utilizada uma grande variedade de vetores para a expressão de um polipeptídeo de Fator VIII a partir de um polipeptídeo alterado no códon em cultura de células, incluindo vetores de expressão eucarióticos e procarióticos. Em certas modalidades, um vetor plasmídico é contemplado para utilização na expressão de um polipeptídeo de Fator VIII na cultura de células. Em geral, vetores plasmídicos contendo replicação e sequências de controle que derivam de espécies compatíveis com a célula hospedeira são utilizados em ligação com estes hospedeiros. O vetor pode transportar um sítio de replicação, bem como sequências de marcação que são

capazes de proporcionar seleção fenotípica em células transformadas. O plasmídeo incluirá o polinucleotídeo alterado por códon que codifica o polipeptídeo de Fator VIII, operativamente ligado a uma ou mais sequências de controle, por exemplo, um promotor.

[00347] Exemplos não limitantes de vetores para expressão procariota incluem plasmídeos tais como pRSET, pET, pBAD, etc., em que os promotores utilizados em vetores de expressão procarióticos incluem lac, trc, trp, recA, araBAD, etc. Exemplos de vetores para expressão eucariota incluem: (i) para expressão em levedura, vetores tais como pAO, pPIC, pYES, pMET, utilizando promotores tais como AOX1, GAP, GAL1, AUG1, etc; (ii) para expressão em células de inseto, vetores tais como pMT, pAc5, pIB, pMIB, pBAC, etc., utilizando promotores tais como PH, p10, MT, Ac5, OpIE2, gp64, polh, etc., e (iii) para expressão em células de mamífero, vetores tais como pSVL, pCMV, pRc/RSV, pcDNA3, pBPV, etc., e vetores derivados de sistemas virais tais como vírus vaccinia, vírus adenoassociados, vírus herpes, retrovírus, etc., utilizando promotores como CMV, SV40, EF-1, UbC, RSV, ADV, BPV e β -actina.

IV. Exemplos

Exemplo 1 - Construto de uma Sequência de Expressão Variante de Fator VIII Alterado por Códon

[00348] Dois obstáculos tiveram que ser superados para criar uma sequência codificadora do Fator VIII que seja eficaz para a terapia genética da hemofilia A. Primeiro, por causa das limitações do tamanho genômico dos vetores de entrega da terapia gênica convencional (por exemplo, vírions AAV), o polipeptídeo de Fator VIII codificado teve que ser encurtado consideravelmente. Em segundo lugar, a sequência de codificação teve que ser alterada para: (i) estabilizar as interações de empacotamento dentro do vetor de distribuição, (ii) estabilizar o intermediário de mRNA e (iii) melhorar a robustez da transcrição/tradução do mRNA.

[00349] Para atingir o primeiro objetivo, os Requerentes começaram com um construto de variante do Fator VIII suprimido de domínio B, referida aqui como “FVIII-BDD-SQ.” Neste construto, o domínio B é substituído por uma sequência de catorze aminoácidos designada por sequência “SQ”. O FVIII-BDD-SQ recombinante vendido sob a designação comercial REFACTO®, e demonstrou ser eficaz no tratamento da hemofilia A. No entanto, a sequência de codificação nativa para o FVIII-BDD-SQ, que inclui o ácido nucleico do tipo selvagem humano. As sequências das cadeias pesada e leve do Fator VIII são ineficazmente expressas em vetores de terapia gênica.

[00350] Para abordar a expressão pobre do FVIII-BDD-SQ nativo, o algoritmo de otimização de códon descrito em Fath et al. (PLoS 1, 6: e17596 (2011)), modificado como descrito em Ward et al. (Blood, 117: 798 (2011)) e em McIntosh et al. (Blood, 121, 3335-3344 (2013)), foi aplicado à sequência de FVIII-BDD-SQ para criar a primeira sequência de codificação intermediária CS04a. No entanto, os Requerentes reconheceram que a sequência CS04a criada utilizando o algoritmo modificado poderia ser melhorada modificando ainda mais a sequência. Por conseguinte, os Requerentes reintroduziram dinucleotídeos CpG, reintroduziram códon CGC para arginina, alterou as distribuições de códons de leucina e serina, reintroduziu pares de códons altamente conservados e removeu caixa críptico TATA, caixa CCAAT e elementos de sítio de emenda, evitando ilhas CpG e super-representação sítio de trechos ricos em AT e ricos em GC.

[00351] Em primeiro lugar, o algoritmo modificado substituiu sistematicamente códons contendo CpG-dinucleotídeos (por exemplo, códons de arginina) com códons não-CpG-dinucleotídeos e elimina/evita dinucleotídeos CpG criados por códons vizinhos. Este impedimento estrito de dinucleotídeos CpG é geralmente feito para prevenir a imunidade induzida por TLR após injeção intramuscular de vacinas de DNA. No entanto, isso limita as possibilidades de otimização do códon. Por exemplo, o algoritmo

modificado exclui o uso do conjunto completo de códons CGX de arginina. Isto é particularmente perturbador na codificação de genes para expressão em células humanas, porque CGC é o códon de arginina mais frequentemente utilizado em genes humanos altamente expressos. Além disso, evitar a criação de CpGs por códons vizinhos limita ainda mais as possibilidades de otimização (por exemplo, limita o número de pares de códons que podem ser usados juntos).

[00352] Como não se espera que a imunidade induzida por TLR seja um problema associado à terapia gênica baseada em AAV direcionada ao fígado, códons incluindo CpGs e códons vizinhos criando CpGs, são reintroduzidos na sequência de codificação intermediária CS04a, preferencialmente na codificação de sequência para cadeia leve do Fator VIII (por exemplo, no 3' final da sequência de codificação de FVIII-BDD-SQ). Isto permitiu o uso mais frequente de códons humanos preferidos, particularmente os da arginina. Foi tomado cuidado, no entanto, para evitar a criação de ilhas CpG, que são regiões de sequência codificadora com uma elevada frequência de sítios CpG. Isso é contrário aos ensinamentos de Krinner et al. (Nucleic Acids Res., 42 (6): 3551-64 (2014)), o que sugere que os domínios CpG a jusante dos sítios de início da transcrição promovem níveis elevados de expressão gênica.

[00353] Segundo, o algoritmo modificado aplica certos códons exclusivamente, como CTG para leucina, GTG para valina e CAG para a glutamina. No entanto, isto ofende os princípios do uso de códons balanceados, por exemplo, como proposto em Haas et al. (Current Biology, 6 (3): 315-24 (1996)). Para contabilizar o uso excessivo de códons preferidos pelo algoritmo modificado, códons de leucina alternados foram reintroduzidos onde permitido pelas outras regras aplicadas à alteração de códon (por exemplo, frequência de CpG e conteúdo de GC).

[00354] Terceiro, o algoritmo modificado substitui pares de códons

sem considerar quão conservados eles são na natureza, quando certos critérios (por exemplo, a presença de dinucleotídeos-CG) são atendidos. Para ter em conta as propriedades benéficas que podem ter sido conservadas pela evolução, os pares de códons mais conservados que foram substituídos pelo algoritmo e pelos pares de códons preferidos mais conservados, por exemplo, como descrito em Tats et al. (BMC Genomics 9: 463 (2008)), foram analisados e ajustados onde permitido pelas outras regras aplicadas à alteração do códon (por exemplo, frequência de CpG e conteúdo GC).

[00355] Em quarto lugar, os códons de serina utilizados na sequência de codificação intermediária foram também reprojatados. Especificamente, os códons de serina AGC, TCC, e TCT foram introduzidos na sequência de codificação modificada com maior frequência, para melhor corresponder globalmente à utilização de códons humanos (Haas et al., *supra*).

[00356] Em quinto lugar, a caixa TATA, os elementos da caixa CCAAT e os sítios de processamento íntron/éxon foram rastreados e removidos da sequência de codificação modificada. Ao modificar a sequência de codificação, foi tomado o cuidado de evitar a super-representação local de trechos ricos em AT ou ricos em GC.

[00357] Finalmente, para além de otimizar a utilização do códon na sequência de codificação, os requisitos estruturais do vírion de AAV subjacente foram considerados quando se refinou ainda mais a sequência de codificação intermédia CS04a. Os vetores AAV (por exemplo, a porção de ácido nucleico de um vírion AAV) são empacotados como moléculas de cadeia única de DNA em seus capsídeos (para revisão, ver, Daya e Berns, Clin. Microbiol Rev., 21 (4): 583-93 (2008)). Portanto, é provável que o teor de GC do vetor influencie o empacotamento do genoma e, assim, os rendimentos do vetor durante a produção. Como muitos algoritmos, o algoritmo modificado usado aqui cria uma sequência genética otimizada com um conteúdo de GC de pelo menos 60% (*veja*, Fath et al., PLoS One, 6 (3):

e17596 (2011) (errata em: PLoS One, (6) 3 (2011)). No entanto, a proteína da capsídeo AAV8 é codificada por uma sequência de nucleotídeos com um teor de GC inferior de cerca de 56%. Assim, para mimetizar melhor a sequência de codificação da proteína de capsídeo AAV8 nativa, o teor de GC da sequência de codificação intermediária CS04a foi reduzido para 56%.

[00358] A sequência de codificação CS04 resultante, mostrada na Figura 2, tem um conteúdo geral de GC de 56%. O conteúdo em dinucleotídeo CpG da sequência é moderado. Contudo, os dinucleotídeos CpG estão predominantemente presentes na porção a jusante da sequência de codificação, por exemplo, a porção codificadora da cadeia leve do Fator VIII. A sequência CS04 tem 79,77% de identidade de sequência nucleotídica com as sequências de codificação correspondentes no Fator VIII de tipo selvagem (acesso ao Genbank M14113).

[00359] Para fins de comparação, vários outros construtos ReFacto otimizados por códons foram preparados. CS01 foi construído aplicando o algoritmo de otimização de códons de Fath et al., Modificado por Ward et al., Como feito para CS04. No entanto, ao contrário do CS04, o CS01 não contém ilhas CpG. O construto CS08 ReFacto foi otimizado por códon como descrito em Radcliff PM et al., Gene Therapy, 15: 289-97 (2008), cujo conteúdo é aqui expressamente incorporado por referência, na sua totalidade, para todos os fins. O construto ReFacto otimizado para o códon CS10 foi obtido da Eurofins Genomics (Ebersberg, Alemanha). O construto ReFacto otimizado para códon CS11 foi obtido da Integrated DNA Technologies, Inc. (Coralville, EUA). O construto ReFacto otimizado para o códon CH25 foi obtido a partir dos serviços GeneArt da ThermoFischer Scientific (Regensburg, Alemanha). O construto CS40 ReFacto consiste na sequência de codificação do Fator VIII do tipo selvagem. O algoritmo usado para construto CS23 é baseado na ferramenta JCAT (www.jcat.de), uma ferramenta on-line para otimizações de códons (Grote et al., 2005; Nucl. Acids Res. W526-31).

A sequência foi modificada para refletir mais o uso de códons da superfamília de albumina (Mirsafian et al. 2014: Sc. Word Journal 2014, ID 639682). As identidades de sequência compartilhadas entre cada uma das sequências de codificação do ReFacto são mostradas em **Tabela 2**, abaixo.

Tabela 2 - Matriz de identidade percentual para construtos de Fator VIII alterados por códon.

| | CS01 | CS04 | CS08 | CS10 | CS11 | CS40 | CH25 | CS23 |
|------|-------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|------|
| CS01 | 100% | | | | | | | |
| CS04 | 93,0% | 100% | | | | | | |
| CS08 | 80,7% | 82,2,% | 100% | | | | | |
| CS10 | 79,1% | 79,4% | 78,4% | 100% | | | | |
| CS11 | 78,3% | 78,3% | 78,1% | 77,5% | 100% | | | |
| CS40 | 79,6% | 79,8% | 76,7% | 77,6% | 75,4% | 100% | | |
| CH25 | 81,3% | 85,1% | 85,0% | 79,9% | 79,4% | 75,8% | 100% | |
| CS23 | 84,3% | 89,2% | 85,1% | 80,3% | 79,9 | 76,5% | 93,2% | 100% |

[00360] Os plasmídeos de cada construto foram construídos por clonagem de fragmentos de DNA sintéticos diferentes no mesmo plasmídeo da estrutura principal do vetor (pCh-BB01). A síntese de DNA dos fragmentos BDD-FVIII do tipo Refacto com sítios de restrição de enzimas AscI e NotI flanqueantes foi realizada por ThermoFischer Scientific (Regensburg, Alemanha). A estrutura principal do vetor contém duas repetições terminais invertidas derivadas de AAV2 (ITRs) que abrangem uma sequência promotora/potencializadora derivada do gene de transtirretina murino específico para o fígado, sítios de restrição AscI e NotI para inserção do respectivo tipo BDD-FVIII do tipo Refacto e um sítio poliA sintético. Após ligação da estrutura principal do vetor preparado e inserções através dos sítios AscI e NotI, os plasmídeos resultantes foram amplificados em escala de miligramas. As sequências BDD-FVIII do tipo Refacto dos construtos foram verificadas por sequenciação direta (Microsynth, Balgach, Suíça). A clonagem resultou em sete construtos plasmídicos diferentes denominadas pCS40, pCS01, pCS04, pCS08, pCS10, pCS11 e pCh25 (Figura 23). Os construtos têm a mesma estrutura principal do vetor e codificam a mesma

proteína FVIII deletada no domínio B (tipo BDD-FVIII do Refacto), mas diferem na sua sequência de codificação do FVIII.

[00361] Os vetores baseados em AAV8 foram preparados pelo método de transfecção, como descrito em Grieger JC, et al. (Vetores de vírus utilizando células HEK293 em suspensão e colheita contínua de vetores a partir dos meios de cultura para GMP FIX e FLT1 Clinical Vector, *Mol Ther.*, Out. 6 (2015) doi: 10.1038/mt.2015.187. [Publicação eletrônica diante da impressão]), cujo conteúdo é aqui expressamente incorporado por referência, na sua totalidade, para todos os efeitos. Utilizaram-se células de suspensão HEK293 para transfecções de plasmídeo utilizando o plasmídeo do vetor FVIII correspondente, o plasmídeo auxiliar pXX6-80 (transportador de genes auxiliares adenovirais) e o plasmídeo de empacotamento pGSK2/8 (contribuindo com os genes rep2 e cap8). Para isolar os construtos de AAV8, as péletes de células de culturas de um litro foram processados usando gradientes de iodixanol, como descrito em Grieger et al. (2015, supra). O procedimento resultou em preparações vetoriais chamadas vCS01, vCS04, vCS08, vCS10, vCS11 e vCH25. Os vetores foram quantificados por qPCR usando o procedimento qPCR universal visando as repetições terminais invertidas AAV2 (Aurnhammer, *Human Gene Therapy Methods: Parte B* 23: 18-28 (2012)). Um plasmídeo de vetor de controle contendo repetições terminais invertidas AAV2 serviu para preparar a curva padrão. O construto vCS04 resultante é apresentado como SEQ ID NO: 8 nas Figuras 7A-7C.

[00362] A integridade dos genomas do vetor foi analisada por electroforese em gel de agarose AAV. A eletroforese foi realizada como descrito em Fagone et al., *Human Gene Therapy Methods* 23: 1-7 (2012). Resumidamente, as preparações de vetor AAV foram incubadas a 75° C durante 10 minutos na presença de SDS a 0,5% e depois arrefecidas até à temperatura ambiente. Aproximadamente 1,5E10 genomas vector (vg) foram carregados por pista num gel de agarose 1xTAE a 1% e sujeitos a eletroforese

durante 60 min a 7 V/cm de comprimento de gel. O gel foi então corado em 2x solução GelRed (Biotium Cat # 41003) e fotografado por ChemiDocTMMP (Biorad). Os resultados mostrados na Figura 24 demonstram que os vetores virais vCS01, vCS04 e vCS40 possuem o genoma do mesmo tamanho, indicado por uma banda distinta na faixa de 5kb (Figura 24, faixas 2-4). Apesar de um tamanho de vetor de aprox. 5,2 kb, o genoma uma banda homogênea que confirma o empacotamento correto do genoma um pouco exagerado (em relação a um genoma do tipo selvagem AAV de 4,7 kb). Todas as outras preparações de vetor vCS mostram o mesmo tamanho genômico (dados não mostrados).

[00363] De modo a confirmar o padrão esperado das proteínas da capsídeo, o SDS-PAGE seguido de coloração prata foi realizado com os vetores vCS01, vCS04 e vCS40 (Figura 25). Como mostrado na figura, o procedimento de purificação a jusante resultou em material altamente purificado apresentando o padrão de proteína esperado de VP1, VP2 e VP3 (Figura 25, pistas 2-4). O mesmo padrão foi observado com todas as outras preparações virais (não mostrado). O procedimento SDS-PAGE das preparações de AAV foi realizado de acordo com procedimentos padrão. Cada pista continha 1E10 vg do respectivo construto viral e foram separados num gel Bis-Tris (NuPAGE® Novex, Life Technologies) a 4-12%, de acordo com as instruções do fabricante. A coloração prata foi realizada com um kit SilverQuest™ (Novex, Life Technologies) de acordo com as instruções do fabricante.

[00364] Surpreendentemente, os vetores AAV vCS01 e vCS04 apresentaram maior empacotamento do vírion, medido por rendimentos mais elevados na produção do vírus AAV, em comparação com o construto de codificação de tipo selvagem vCS40 e os outros construtos otimizados por códon. Como mostrado em **Tabela** , os vetores vCS01 e vCS04 replicaram substancialmente melhor que vCS40, proporcionando um aumento de

rendimento de 5-7 vezes no título de AAV.

Tabela 3 - Produz cultura de células por litro obtida com os construtos de vetor AAV vCS01, vCS04 e vCD40, como purificado a partir de péletes celulares.

| Construto | Concentração de vetor [vg/ml] x10E12 | Rendimentos [vg /litro] x10E12 | Aumento da Dobra vs p |
|-------------------|--|--------------------------------------|-----------------------------|
| vCS40 | 2,0 | 11,0 | - |
| vCS01 | 9,2 | 51,4 | 4,7 |
| vCS04 - amostra 1 | 17,6 | 79,2 | 7,2 |
| vCS04 - amostra 2 | 15,9 | 58,8 | 5,4 |

Exemplo 2 - Expressão In Vivo de Sequências de Expressão Variante de Fator VIII Alteradas por Códon

[00365] Para testar a potência biológica das sequências variantes do Fator VIII alteradas com códon, os construtos de FVIII tipo ReFacto descritos no Exemplo 1 foram administradas a camundongos sem o Fator VIII. Resumidamente, os ensaios foram realizados em camundongos nocaute (C57BI/6FVIII (ko) (com 6-8 animais por grupo) por injeção na veia da cauda de genomas vetoriais 4E12 (vg) por quilograma de peso corporal de camundongo. O sangue foi retirado 14 dias após a injeção por punção retro-orbital e o plasma foi preparado e congelado utilizando procedimentos padrão. Os níveis de expressão no dia 14 foram escolhidos porque existe uma influência mínima de anticorpos inibidores neste momento, que são vistos em alguns animais deste modelo de camundongo em tempos posteriores. A atividade de FVIII no plasma de camundongo foi determinada utilizando o ensaio de Technochrome FVIII realizado, com apenas pequenas modificações, como sugerido pelo fabricante (Technoclone, Viena, Áustria). Para o ensaio, as amostras de plasma foram apropriadamente diluídas e misturadas com reagentes de ensaio, contendo trombina, fator IX ativado (FIXa), fosfolipídeos, fator X e cálcio. Após a ativação do FVIII pela trombina, forma-se um complexo com FIXa, formam-se fosfolipídeos e cálcio. Este complexo ativa o FX para o FX ativado (FXa) que, por sua vez, cliva a para-nitroanilida (pNA) do substrato cromogênico. A cinética da

formação de pNA é medida a 405 nm. A taxa é diretamente proporcional à concentração de FVIII na amostra. As concentrações de FVIII são lidas a partir de uma curva de referência e os resultados são dados em IU FVIII/mililitro.

[00366] Os resultados, apresentados em **Tabela 4** abaixo, demonstram que as sequências alteradas por códon concebidas utilizando algoritmos comerciais (CS10, CS11 e CH25) proporcionaram apenas um aumento modesto no Fator VIII de BDD (3-4 vezes) em comparação com o construto de Fator VIII BDD de tipo selvagem (CS40). Similarmente, o construto de Fator VIII BDD alterado por códon preparado como descrito em Radcliffe et al. (CS08), proporcionaram apenas um aumento de 3-4 vezes na expressão de BDD-FVIII. Este resultado é consistente com os resultados relatados em Radcliff et al. Surpreendentemente, os construtos CS01, CS04 e CS23 proporcionaram uma expressão de BDD-FVIII muito mais elevados nos ensaios de biopotência in vivo (aumentos de 18, 74 e 30 vezes, respectivamente).

Tabela 4 - Expressão de FVIII no plasma de camundongos nocaute para FVIII induzidos por diferentes construtos de vetor AAV.

| Construto | Algoritmo de Códon | Média de FVIII Expressão no Dia 14 [IU/ml] | Desvio padrão | Número de camundongos | Aumento da Dobra vs p |
|-----------|----------------------|--|---------------|-----------------------|-----------------------|
| vCS40 | Tipo selvagem humano | 0,03 | 0,03 | 12 | - |
| vCS01 | Requerentes | 0,55 | 0,28 | 22 | 18,3 |
| vCS04 | Requerentes | 2,21 | 1,20 | 55 | 73,7 |
| vCS08 | Radcliffe et al. | 0,11 | 0,01 | 6 | 3,6 |
| vCS10 | Eurofins | 0,09 | 0,01 | 7 | 3,0 |
| vCS11 | IDT | 0,08 | 0,02 | 8 | 2,7 |
| vCH25 | GeneArt | 0,13 | 0,12 | 18 | 4,3 |
| vCS23 | Requerentes | 0,91 | 0,32 | 5 | 30,3 |

Exemplo 3 - Projeto de peptídeos de glicosilação para o ligante substituído no domínio B

[00367] Outros demonstraram que a inclusão de um pequeno peptídeo (o “peptídeo V3”) contendo seis sítios de glicosilação ligados por N putativos

do domínio B do Fator VIII do tipo selvagem, num construto de terapia genética com deleção do domínio B, aumentou os níveis do Fator VIII no plasma de camundongos (McIntosh et al., Blood 121 (17): 3335-44 (2013)). No entanto, a fim de manter o pequeno tamanho do ligante substituído com o domínio B, os sítios de glicosilação foram retirados do contexto do domínio B de tipo selvagem. A previsão *in silico* (Gupta et al., Supra) do agente de ligação contendo o peptídeo V3 sugere que apenas dois destes sítios de glicosilação no peptídeo V3 serão modificados *in vivo* (Figura 15).

[00368] Assim, os Requerentes tentaram identificar peptídeos de glicosilação alternativos que suportariam níveis mais elevados de glicosilação *in vivo*, que combinavam com a glicosilação de tipo selvagem mais perto do que o peptídeo V3. Os requerentes desenharam e testaram vários peptídeos de glicosilação alternativos, *in silico*. Vários destes peptídeos, mostrados nas Figuras 13A-13B, foram previstos para terem igual ou maior glicosilação *in vivo* do que o peptídeo V3, quando colocados entre os aminoácidos N768 e P769 do ligante substituído no domínio B na SEQ ID NO: 2. Os resultados das previsões *in silico* são mostrados em **Tabela 5**, abaixo. **Tabela 5** também reportam os resultados de experiências de expressão realizadas para vários construtos codificando uma proteína do Fator VIII do tipo ReFacto com um peptídeo de glicosilação incorporado no ligante substituído no domínio B, num contexto otimizado de códons CS01.

Tabela 5 - Predição da glicosilação N em peptídeos ligantes substituídos no domínio B e desempenho de construtos de vetores AAV *in vivo*.

| Sequência | Número de sítios de glicosilação N previstos | Expressão no Dia 28 [IU/ml] | SD | Número de camundongos [n] | Índice de aumento |
|------------|--|-----------------------------|------|---------------------------|-------------------|
| vCS01 | 0 | 0,74 | 0,52 | 5 | 21 |
| vNG1/CS01 | 4 | n.d. | - | - | - |
| vNG4/CS01 | 3 | 1,93 | 0,57 | 6 | 55 |
| vNG5/CS01 | 2 | n.d. | - | - | - |
| vNG6/CS01 | 1 | 0,80 | 0,67 | 5 | 23 |
| vNG9/CS01 | 1 | n.d. | - | - | - |
| vNG10/CS01 | 2 | 2,66 | 0,52 | 6 | 76 |
| vNG16/CS01 | 2 | 1,59 | 0,57 | 6 | 45 |
| vNG17/CS01 | 2 | n.d. | - | - | - |
| vNG18/CS01 | 2 | n.d. | - | - | - |

| Sequência | Número de sítios de glicosilação N previstos | Expressão no Dia 28 [IU/ml] | SD | Número de camundongos [n] | Índice de aumento |
|------------|--|-----------------------------|-------|---------------------------|-------------------|
| vNG19/CS01 | 2 | 0,88 | 0,25 | 5 | 25 |
| vNG20/CS01 | 2 | n.d. | - | - | - |
| vNG21/CS01 | 2 | n.d. | - | - | - |
| vCS40 | 0 | 0,035 | 0,030 | 12 | 1 |

[00369] Os vetores AAV contendo as variantes NG foram construídos como descrito no Exemplo 1 e testados em camundongos com eliminação de FVIII, como descrito no Exemplo 2. Todos os vetores de vírus (exceto o vetor de controle vCS40) **Tabela 5** são baseados no algoritmo usado no vCS01. Um conjunto paralelo de construtos usando o algoritmo de vCS04 também foi preparado (série vNG/CS04) e é testado no modelo de camundongo. Os resultados foram comparados com os níveis de expressão alcançados com o construto vCS40 do tipo selvagem. O dia 28 níveis de expressão foram escolhidos neste exemplo, porque os níveis de expressão da maioria do construto atingiram os níveis mais altos neste momento. Três vetores de AAV atingiram níveis de expressão de FVIII maiores que 40 vezes incluindo vNG4/CS01, vNG10/CS01 e vNG16/CS01 (**Tabela 5**). Espera-se que os construtos correspondentes vNG4/CS04, vNG10/CS04 e vNG16/CS04 mostrem uma expressão ainda maior, porque eles são baseados no algoritmo superior vCS04.

[00370] Surpreendentemente, os vetores AAV da série vNG/CS01 tinham um maior empacotamento do vírion, medido por rendimentos mais elevados na produção do vírus AAV, em comparação com o construto de codificação do tipo selvagem vCS40. Como mostrado em **Tabela 6**, os vetores baseados em vNG/CS01 replicaram substancialmente melhor que vCS40, proporcionando um aumento de rendimento de aproximadamente 3 vezes no título de AAV.

Tabela 2 - Produz cultura de células por litro obtida com os construtos de vetor AAV como purificado a partir de péletes celulares.

| Sequência | Vetor conc. [vg/ml] x10 ¹² | Rendimentos [vg/litro] x10 ¹² | Dobra o aumento vs tipo selvagem |
|-----------|---------------------------------------|--|----------------------------------|
| vCS01 | 9,17 | 51,35 | 4,7 |
| vNG1/CS01 | 2,13 | 17,04 | 1,5 |

| Sequência | Vetor conc. [vg/ml] x10 ¹² | Rendimentos [vg/litro] x10 ¹² | Dobra o aumento vs tipo selvagem |
|------------|---------------------------------------|--|----------------------------------|
| vNG4/CS01 | 5,74 | 33,01 | 3,0 |
| vNG5/CS01 | 6,91 | 27,29 | 2,5 |
| vNG6/CS01 | 7,01 | 40,66 | 3,7 |
| vNG9/CS01 | 6,39 | 29,39 | 2,7 |
| vNG10/CS01 | 8,57 | 37,71 | 3,4 |
| vNG16/CS01 | 5,3 | 28,36 | 2,6 |
| vNG17/CS01 | 4,24 | 32,22 | 2,9 |
| vNG18/CS01 | 6,11 | 37,88 | 3,4 |
| vNG19/CS01 | 9,42 | 39,56 | 3,6 |
| vNG20/CS01 | 4,09 | 30,27 | 2,8 |
| vNG21/CS01 | n.d. | - | - |
| vCS40 | 2,03 | 11 | 1,0 |

Exemplo 4 - Construção de construtos mutantes de BDD-FVIII

[00371] Foram clonados e pesquisados numerosos construtos BDD-FVIII tipo Refacto mutados, portadores de mutações de aminoácidos dentro da cadeia pesada do Fator VIII e/ou ligante substituído no domínio B. Os vetores correspondentes, como referido aqui como a série de "vCS" de vetores, codificam variantes de BDD-FVIII no CS01, CS04 e CS23 códon-alterado em contextos. O método usado para construir os planos de fundo CS01 e CS04 é descrito em Exemplo 1. O método usado para construir o CS23 foi baseado na ferramenta JCAT (www.jcat.de), uma ferramenta on-line para otimizações de códons (Grote et al., 2005; Nucl. Acids Res. W526-31). A sequência foi ainda modificada para refletir mais o uso de códons da superfamília de albumina (Mirsafian et al. Sc. Word Journal, ID 639682 (2014)), cujo conteúdo é aqui expressamente incorporado por referência, em sua totalidade, para todos os propósitos.

[00372] Combinações de três tipos de mutações foram incluídas nas sequências FVIII da série de construtos vCS. A primeira alteração de aminoácidos introduzida na sequência de FVIII é a mutação X1 (TTYVNRSL (SEQ ID NO: 33); X. Xiao), que introduz um sítio de glicosilação adicional perto do ligante substituído no domínio-B. A mutação X1 é também referida aqui como a mutação "m3". A segunda alteração de aminoácidos feita na sequência de FVIII inclui a mutação F328S (SPI, SP309S SPE), uma alteração de aminoácidos conhecida por melhorar a secreção de FVIII

(Swaarop, J. Biol. Chem., 272: 24121-24 (1997)). Esta mutação é também referida aqui como a mutação “m1”. A terceira alteração é a chamada mutação X5, que é uma combinação de cinco alterações de aminoácidos no domínio A1 da cadeia pesada que melhora a atividade específica e a secreção de BDD-FVIII (Cao et al., 2014; ASGCT resumo # 460 detalhes de mutações reveladas na apresentação oral). A mutação X5 é também referida aqui como a mutação “m2”. Em seguida, foram feitas combinações de X1 e F328S (SPI, F309S SPE), seguidas pelas combinações de X1 e X5, também referidas como “X6”, e ainda outras combinações de X5 e F328S (SPI, F309S SPE) foram feitas (**Tabela 7**).

[00373] **Síntese de genes e clonagem dos plasmídeos do vetor.** Os plasmídeos foram construídos por clonagem de fragmentos de DNA sintéticos diferentes no mesmo plasmídeo da estrutura principal do vetor (pCh-BB01). A síntese de DNA dos fragmentos BDD-FVIII do tipo Refacto com sítios de restrição de enzimas *AscI* e *NotI* flanqueantes foi realizada por ThermoFischer Scientific (Regensburg, Alemanha). A estrutura principal do vetor contém duas repetições terminais invertidas derivadas de AAV2 (ITRs) que abrangem uma sequência promotora/potencializadora derivada do gene de transtirretina murino específico para o fígado, sítios de restrição *AscI* e *NotI* para inserção do respectivo tipo BDD-FVIII do tipo Refacto e um sítio poliA sintético. Após a ligação da estrutura principal do vetor preparado e inserções através dos sítios *AscI* e *NotI*, os plasmídeos resultantes foram amplificados em escala miligrama. As sequências BDD-FVIII do tipo Refacto dos construtos foram verificadas por sequenciação direta (Microsynth, Balgach, Suíça). A clonagem resultou em diferentes construtos de plasmídeos, como mostrado na Figura 44.

[00374] **Preparações de vetores em pequena escala e quantificação por PCR quantitativo (qPCR).** Os vetores baseados em AAV8 foram preparados pelo método de transfecção essencialmente, como descrito em

Grieger JC, et al. (2015, supra). Utilizaram-se células de suspensão HEK293 para transfecções de plasmídeo utilizando o plasmídeo do vetor FVIII correspondente, o plasmídeo auxiliar pXX6X80 (transportador de genes auxiliares adenovirais) e o plasmídeo de empacotamento pGSK2/8 (contribuindo com os genes rep2 e cap8). No processo a jusante, o sedimento celular de uma cultura de um litro foi processado utilizando gradientes de iodixanol, como descrito acima. O procedimento resultou em preparações de vetores, conforme **Tabela 8**. Os vetores foram quantificados por qPCR usando o procedimento qPCR universal visando as repetições terminais invertidas AAV2 (Aurnhammer, HUMAN GENE THERAPY METHODS: Part B 23:18–28 (2012)). Um plasmídeo vetorial quantificado com precisão contendo repetições terminais invertidas AAV2 serviu para preparar a curva padrão.

[00375] **Caracterizações do vetor AAV.** A integridade do genoma do vetor foi analisada por electroforese em gel de agarose AAV. A eletroforese foi realizada de forma semelhante à descrita em Fagone et al. (Human Gene Therapy Methods, 23:1-7 (2012)). As preparações de vetor AAV foram incubadas a 75° C durante 10 minutos na presença de SDS a 0,5% e depois arrefecidas até à temperatura ambiente. Aproximadamente 1,5E10 genomas vector (vg) foram carregados por pista num gel de agarose 1xTAE a 1% e sujeitos a eletroforese durante 60 min a 7 V/cm de comprimento de gel. O gel foi então corado em 2x solução GelRed (Biotium Cat # 41003) e fotografado por ChemiDoc™MP (Biorad). Os resultados de uma seleção de vetores são mostrados na Figura 45. Os vetores virais vCS04 (controle), vCS17, vCS20, vCS24, vCS16 e vCS40 (controle) mostram todo o genoma do mesmo tamanho como uma banda distinta na faixa de 5kb (Figura 45, pistas 2-7; flecha no lado direito). Apesar de um tamanho de vetor de aprox. 5,2 kb, o genoma uma banda homogênea que confirma o empacotamento correto do genoma um pouco exagerado (em relação a um genoma do tipo selvagem

AAV de 4,7 kb).

[00376] A fim de confirmar a pureza do vetor e o padrão esperado de proteínas do capsídeo, o SDS PAGE seguido de coloração prata foi realizado com os vetores, como mostrado na Figura 46. Como mostrado na figura, o procedimento de purificação a jusante resultou em material altamente purificado apresentando o padrão de proteína esperado de VP1, VP2 e VP3 (Figura 46, pistas 2-9; setas do lado direito). O procedimento SDS-PAGE das preparações de AAV foi realizado de acordo com procedimentos padrão. As quantidades de 1E10 vg por pista foram separadas num gel de 4-12% de Bis-Tris (NuPAGE® Novex, Life Technologies) de acordo com as instruções do fabricante. Coloração prata foi realizada com um SilverQuest™ kit (Novex, Life Technologies) de acordo com as instruções do fabricante.

[00377] **Triagem de biopotência in vivo de vetores.** Os diferentes construtos BDD-FVIII do tipo Refacto foram pesquisados em camundongos. O ensaio foi realizado em camundongos nocaute (C57BI/6FVIII (ko) (com 6-8 animais por grupo) por injeção na veia da cauda de genomas vetoriais 4E12 (vg) por quilograma de peso corporal de camundongo. O sangue foi retirado 14 dias após a injeção por punção retro-orbital e o plasma foi preparado e congelado utilizando procedimentos padrão. A atividade de FVIII no plasma de camundongo foi determinada com um ensaio cromogênico de Technoclone com pequenas modificações (Technochrome FVIII, Technoclone, Viena, Áustria). Em resumo, a amostra de plasma foi apropriadamente diluída e misturada com reagentes de ensaio, contendo trombina, fator IX ativado (FIXa), fosfolipídeos, fator X e cálcio. Após a ativação do FVIII pela trombina, forma-se um complexo com FIXa, formam-se fosfolipídeos e cálcio. Este complexo ativa o FX para o FX ativado (FXa) que, por sua vez, cliva a para-nitroanilida (pNA) do substrato cromogênico. A cinética da formação de pNA é medida a 405 nm. A taxa é diretamente proporcional à concentração de FVIII na amostra. As concentrações de FVIII são lidas a

partir de uma curva de referência e os resultados são dados em IU FVIII/mililitro.

[00378] Os resultados do ensaio de biopotência de camundongo (dados de expressão do dia 14 de FVIII em unidades internacionais por mililitro [UI/ml] em plasma de camundongo e expressão de dobra em comparação com o controle de tipo selvagem vCS40) são apresentados em **Tabela 7**. Vetores AAVvCS19, vCS26 e vCS32 contêm todos o sítios de glicosilação X1 nos fundos alterados de códon CS01, CS04 e CS23, respectivamente. Como visto em **Tabela 7**, surpreendentemente altos níveis de expressão foram obtidos, em comparação com o construto do tipo selvagem vCS40 (nível definido como 1). O vCS26, por exemplo, expressou níveis 202 vezes mais altos em comparação com o vetor vCS40 do tipo selvagem. Outro construto de controle para a série de vetores X1, vCH111, que contém a mutação X1 no contexto do códon Geneart, mostrou um aumento mais modesto na expressão (12 vezes).

[00379] **Vetores**vCS16, vCS28 e vCS34 todos contêm a secreção que aumenta a mutação F328S (SPI, F309S SPE) nos fundos alterados de códon CS01, CS04 e CS23, respectivamente. Como visto em **Tabela 7**, altos níveis de expressão (45-93 vezes maior que o controle p vCS40) foram obtidos com vCS16 e vCS28.

[00380] **Vetores**vCS20, vCS24 e vCS33 contêm a mutação X5 nos planos de fundo alterados por códon CS01, CS04 e CS23, respectivamente. A variante de melhor desempenho na série X5 foi vCS20, atingindo níveis > 3 unidades/ml após o dia 14 e um aumento de 121 vezes em relação ao controle p vCS40.

[00381] **Vetores**vCS17, vCS29 e vCS31 contêm a combinação das mutações X1 e F328S (SPI, F309S SPE) nos fundos alterados de códon CS01, CS04 e CS23, respectivamente (Tabela 6). Os construtos vCS17 e vCS29 atingiram níveis de expressão muito elevados nos estudos com camundongos

(aumento de 115 a 246 vezes em relação ao controle vCS40). Notavelmente, no modelo de camundongo FVIII KO utilizado, a maioria dos camundongos tratados com o construto vCS17 não desenvolveu anticorpos neutralizantes ao longo do tempo, evidenciada por níveis crescentes de FVIII em pontos de tempo posteriores (por exemplo, dia 28 e dia 42; dados não apresentados). Este é um achado inesperado, porque em alguns outros construtos os níveis de expressão começaram a diminuir com o tempo devido à formação de anticorpos neutralizantes. O fundo CS01 combinado com as mutações de aumento de secreção F328S (SPI, F309S SPE) e X1 resultou em baixa indução de imunogenicidade.

[00382] **Vetores**vCS18, vCS27 e vCS35 contêm a combinação das mutações X1 e X5 nos planos de fundo alterados por códon CS01, CS04 e CS23, respectivamente. A combinação dessas duas mutações também foi muito eficiente. Um aumento de 145 vezes sobre o controle vCS40 poderia ser alcançado com vCS18, por exemplo (**Tabela 7**).

[00383] Os vetores vCS48 e vCS49 contêm a combinação das mutações X5 e F328S (SPI, F309S SPE) nos fundos alterados para o códon CS01 e CS04, respectivamente. A combinação dessas duas mutações também foi muito eficiente. Um dos maiores aumentos de todos os mutantes, um aumento de 239 vezes sobre o controle vCS40, pode ser alcançado com vCS49 confirmando o valor especial das combinações incluindo a mutação F328S (SPI, F309S SPE).

[00384] Outra observação surpreendente foi que os vetores AAV mutantes cresceram substancialmente melhor do que o construto vCS40 contendo os códons BDD-FVIII do tipo selvagem. A otimização da sequência resultou em um aumento de rendimento de várias vezes na produção vetorial. Em alguns dos melhores construtos expressando (por exemplo, vCS29, vCS17, vCS20 e vCS26), o aumento nos rendimentos devido à alteração do códon e/ou sequência mutante foi aproximadamente 3-5 vezes maior, em

comparação com o vetor do tipo selvagem. (**Tabela 8**).

[00385] A expressão de BDD-FVIII no plasma de camundongos nocaute de FVIII induzida pelos diferentes construtos de vetor AAV é mostrada em **Tabela 7**. Os construtos têm a mesma estrutura principal de vetor, no entanto, codificam diferentes tipos de FVIII mutado, incluindo diferentes origens de otimização de códons. Os níveis de expressão no dia 14 foram escolhidos porque neste momento não existe uma influência mínima de anticorpos inibitórios normalmente vistos em alguns animais no modelo de camundongo em tempos posteriores. N.d., não determinado.

Tabela 7 - Dados de biopotência in vivo de construtos de vCS.

| # | Vetor | Algoritmo, mutações | Expressão do Dia 14 [IU/ml] | SD | Número de camundongos [n] | Dobre expressão |
|----|-----------|----------------------|-----------------------------|-------|---------------------------|-----------------|
| 1 | vCS19 | CS01, X1 | 2,34 | 1,10 | 13 | 78 |
| 2 | vCS26 | CS04, X1 | 6,07 | 2,72 | 12 | 202 |
| 3 | vCS32 | CS23, X1 | n.d. | - | - | - |
| 4 | vCS16 | CS01, F328S | 1,35 | 0,88 | 6 | 45 |
| 5 | vCS28 | CS04, F328S | 2,78 | 0,92 | 7 | 93 |
| 6 | vCS34 | CS23, F328S | n.d. | - | - | - |
| 7 | vCS20 | CS01, X5 | 3,62 | 1,96 | 21 | 121 |
| 8 | vCS24 | CS04, X5 | 0,79 | 0,89 | 18 | 26 |
| 9 | vCS33 | CS23, X5 | n.d. | - | - | n.d. |
| 10 | vCS17 | CS01, X1, F328S | 3,44 | 1,92 | 20 | 115 |
| 11 | vCS29 | CS04, X1, F328S | 7,39 | 2,64 | 9 | 246 |
| 12 | vCS31 | CS23, X1, F328S | n.d. | | | n.d. |
| 13 | vCS18 | CS01, X1 + X5 (X6) | 4,34 | 2,50 | 6 | 145 |
| 14 | vCS27 | CS04, X1 + X5 (X6) | 8,03 | 3,97- | 6- | 268- |
| 15 | vCS35 | CS23, X1 + X5 (X6) | n.d. | - | - | - |
| 19 | vCS48 | CS01, X5, F328S | 2,54 | 0,72 | 8 | 85 |
| 20 | vCS49 | CS04, X5, F328S | 7,17 | 1,30 | 7 | 239 |
| | controles | | | | | |
| 16 | vCS40 | Tipo selvagem humano | 0,03 | 0,03 | 12 | 1 |
| 17 | vCh25 | Geneart | 0,13 | 0,12 | 18 | 4 |
| 18 | vCh111 | Geneart + X1 | 0,37 | 0,21 | 17 | 12 |

Tabela 8 - Produz a cultura de células por litro (eficiência de embalagem) obtida com as diferentes construtos de vetores AAV. Os vetores foram purificados a partir de péletes celulares; n.d., não determinado.

| | Construto | Algoritmo, mutações | Vetor conc. [vg/ml] $\times 10^{12}$ | Rendimentos [vg /litro] $\times 10^{12}$ | Aumento da Dobra vs p |
|---|-----------|---------------------|--------------------------------------|--|-----------------------|
| 1 | vCS19 | CS01, X1 | 9,71 | 36 | 3,22 |
| 2 | vCS26 | CS04, X1 | 5,93 | 32 | 2,87 |
| 3 | vCS32 | CS23, X1 | n.d. | n.d. | n.d. |
| 4 | vCS16 | CS01, F328S | 6,51 | 29 | 2,56 |
| 5 | vCS28 | CS04, F328S | 5,85 | 32 | 2,88 |
| 6 | vCS34 | CS23, F328S | n.d. | n.d. | n.d. |

| | | | | | |
|----|-------|----------------------|-------|------|------|
| 7 | vCS20 | CS01, X5 | 9,90 | 50 | 4,48 |
| 8 | vCS24 | CS04, X5 | 3,00 | 16 | 1,46 |
| 9 | vCS33 | CS23, X5 | n.d. | n.d. | n.d. |
| 10 | vCS17 | CS01, X1, F328S | 8,94 | 37 | 3,34 |
| 11 | vCS29 | CS04, X1, F328S | 7,42 | 53 | 4,72 |
| 12 | vCS31 | CS23, X1, F328S | n.d. | n.d. | n.d. |
| 13 | vCS18 | CS01, X1 + X5 (X6) | 21,20 | 53 | 4,75 |
| 14 | vCS27 | CS04, X 1 + X5 (X6) | 4,15 | 19 | 1,67 |
| 15 | vCS35 | CS23, X1 + X5 (X6) | n.d. | n.d. | n.d. |
| 16 | vCS48 | CS01, X5, F328S | 7,14 | 42,1 | 3,77 |
| 17 | vCS49 | CS04, X5, F328S | 8,27 | 37,2 | 3,33 |
| 18 | vCS40 | Tipo selvagem humano | 2,03 | 11 | 1,00 |

[00386] Entende-se que os exemplos e modalidades aqui descritos são apenas para fins ilustrativos, e que várias modificações ou alterações à luz dos mesmos serão sugeridas para pessoas versadas na técnica e devem ser incluídas dentro do espírito e alcance deste pedido e escopo das reivindicações anexas. Todas as publicações, patentes e pedidos de patentes citados aqui estão incorporados em sua totalidade por meio deste por referência para todos os efeitos.

REIVINDICAÇÕES

1. Polinucleotídeo, caracterizado pelo fato de que compreende uma sequência nucleotídica codificando um polipeptídeo de Fator VIII, o polipeptídeo de Fator VIII compreendendo uma cadeia leve, uma cadeia pesada e um ligante polipeptídico que une o C terminal da cadeia pesada ao N terminal da cadeia leve,

em que a cadeia pesada do polipeptídeo de Fator VIII é codificada por uma primeira sequência nucleotídica como estabelecido na SEQ ID NO: 3, e sequências degenerativas possuindo pelo menos 99% de identidade de sequência com a mesma, que codifica um polipeptídeo possuindo a sequência de aminoácidos dos aminoácidos 20-759 de SEQ ID NO: 2;

em que cadeia leve do polipeptídeo do Fator VIII é codificada por uma segunda sequência nucleotídica como estabelecido na SEQ ID NO: 4, e sequências degenerativas possuindo pelo menos 99% de identidade de sequência com a mesma, que codifica um polipeptídeo possuindo a sequência de aminoácidos dos aminoácidos 774-1457 de SEQ ID NO: 2; e

em que ligante polipeptídico compreende um sítio de clivagem de furina e um peptídeo de glicosilação, o peptídeo de glicosilação tendo uma sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 55, em que o ligante polipeptídico é codificado por uma terceira sequência de nucleotídeos, conforme estabelecido na SEQ ID NO: 38, e sequências degenerativas da mesma.

2. Polinucleotídeo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o ligante polipeptídico é codificado por uma terceira sequência nucleotídica sendo a SEQ ID NO: 38.

3. Polinucleotídeo de acordo com a reivindicação 1 ou 2, caracterizado pelo fato de que:

a primeira sequência nucleotídica é a SEQ ID NO: 3; e

a segunda sequência nucleotídica é a SEQ ID NO: 4.

4. Polinucleotídeo de acordo com a reivindicação 4, caracterizado pelo fato de que o ligante polipeptídico é codificado por uma terceira sequência nucleotídica sendo a SEQ ID NO: 38.

5. Polinucleotídeo, caracterizado pelo fato de que compreende uma sequência de ácido nucleico de SEQ ID NO: 94, e sequências degeneradas de pelo menos 99% de identidade com a mesma, que codifica um polipeptídeo de Fator VIII tendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 com as substituições de aminoácidos I105V, A127S, G151K, M166T e L171P.

6. Polinucleotídeo, caracterizado pelo fato de que compreende uma sequência de ácido nucleico de SEQ ID NO: 94, e sequências degeneradas tendo pelo menos 99% de identidade com as mesmas, que codifica um polipeptídeo de Fator VIII tendo a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 2 com as substituições de aminoácidos I105V, A127S, G151K, M166T e L171P, em que o polipeptídeo de Fator VIII compreende uma cadeia leve, uma cadeia pesada e um ligante polipeptídico que une o C terminal da cadeia pesada ao N terminal da cadeia leve, em que o ligante de polipeptídeo inclui um peptídeo de glicosilação tendo uma sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 55 inserido entre a cadeia pesada e a cadeia leve, em que o ligante polipeptídico é codificado pela sequência de ácido nucleico da SEQ ID NO: 54 e sequências degeneradas da mesma.

7. Polinucleotídeo de acordo com a reivindicação 6, caracterizado pelo fato de que compreende a sequência nucleotídica da SEQ ID NO: 94.

8. Polinucleotídeo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 7, caracterizado pelo fato de que compreende ainda um elemento promotor operacionalmente ligado ao polinucleotídeo que codifica o polipeptídeo de Fator VIII.

9. Polinucleotídeo de acordo com a reivindicação 8,

caracterizado pelo fato de que o elemento promotor é uma sequência promotora específica do fígado a montante da sequência nucleotídica que codifica o polipeptídeo de Fator VIII.

10. Polinucleotídeo de acordo com a reivindicação 9, caracterizado pelo fato de compreender ainda uma sequência de íntron posicionada entre a sequência promotora específica do fígado e a sequência nucleotídica que codifica o polipeptídeo de Fator VIII.

11. Vetor de vírus adeno-associado (AAV), caraterizado pelo fato de que compreende um polinucleotídeo como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 10.

12. Partícula de um vírus adeno-associado (AAV), caracterizada pelo fato de que compreende um polinucleotídeo como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 10.

13. Método para produzir uma partícula de vírus adeno-associado (AAV), caracterizado pelo fato de que compreende introdução de um polinucleotídeo como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 10 em uma célula hospedeira de mamífero, em que o polinucleotídeo é competente para replicação na célula hospedeira de mamífero.

14. Uso de uma partícula de vírus adeno-associado (AAV) como definida na reivindicação 12, caracterizado pelo fato de ser na manufatura de um medicamento para tratar hemofilia A.

15. Método para transduzir uma célula hospedeira, caracterizado pelo fato de que compreende colocar em contato uma célula hospedeira com uma partícula de vírus adeno-associado (AAV) como definida na reivindicação 12.

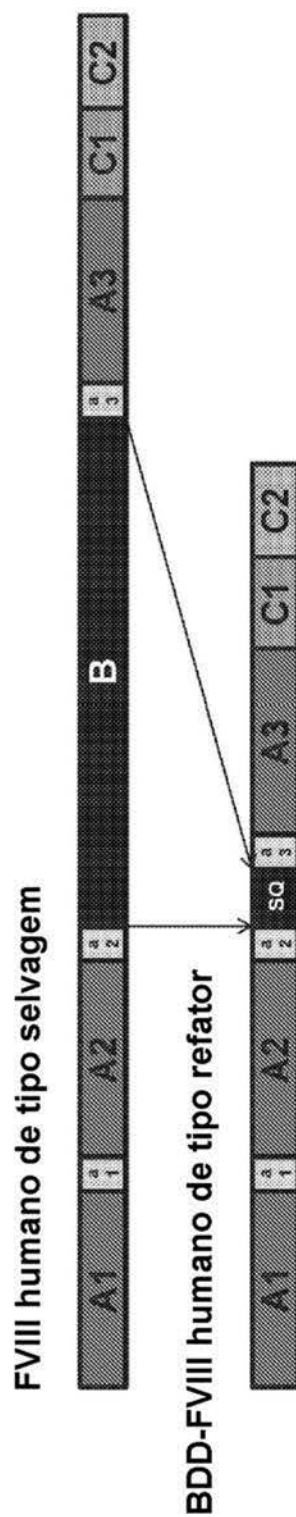


Figura 1

CS04-FL-NA

atgcagattgagctgagcacctgcttcttctgtgctgctgaggttctgcttcttctgccaccagga
gatactacctgggggctgtggagcttcttgggactacatgcagctctgacctgggggagctgctgt
ggatgccaggttcccacccagagtgcctcaaatcttccattcaacacctctgtggtctacaagaag
acctcttctgtggagttcactgaccacctgttcaacattgccaaaccaggccacctggatgggac
tcttgggaccaccattcaggctgaggtgtatgacactgtggtcatcacctcaagaacatggcctc
ccacctgtgagcctgcctgctgtgggggtcagctactggaaggcctctgagggggctgagtatgat
gaccagacctcccagaggagagaaggaggatgacaaagtgttccctgggggcagccacacctatgtgt
ggcaggtcctcaaggagaatggcccatggcctctgacctctgacctgacctactcctaccttct
tcatgtggacctggtcaaggacctcaactctggactgattggggccctgctggtgtgcaggaggggc
tccctggccaaagagaagaccagacctgcacaagtctcctgttctgctgtcttctgatgagg
gcaagagctggcactctgaaaccaagaactcctgatgcaggacagggatgctgcctctgcaggggc
ctggcccaagatgcacactgtgaatggctatgtgaacaggagcctgcctggactcattggctgccac
aggaaatctgtctactggcatgtgattggcatggggacaacccctgaggtgactccatttctctgg
agggccacaccttctgtgtcaggaaccacagacagggccagcctggagatcagccccatcaccttct
cactgccagacctgctgatggacctcggacagttctctgctgttctgccacateagctcccaccag
catgatggcatggaggcctatgtcaagggtggacagctgcctgaggagccacagctcaggatgaaga
acaatgaggaggctgaggactatgatgatgacctgactgactctgagatggatgtgttctcttga
tgatgacaacagcccatccttcatcagatcaggtctgtggccaagaaacaccccaagacctgggtg
cactacattgctgctgaggaggaggactgggactatgcccactggctcctggccctgatgacagga
gctacaagagccagctacctcaacaatggccacagaggattggacgcaagtacaagaaagtacaggt
catggcctacactgatgaaaccttcaagaccagggaggccattcagcatgagctctggcatcctgggc
ccactcctgtatggggaggtgggggacacctgctcatcatcttcaagaaccaggccctccaggccct
acaacatctacccacatggcatcactgatgtcaggccctgtacagccgcaggctgccaaagggggt
gaaacacctcaaggacttccccattctgctggggagatcttcaagtacaagtggactgtcactgtg
gaggatggaccaaccaaatctgacccaggtgcctcaccagatactactccagcttctgtgaacatgg
agagggacctggcctctggcctgattggccactgctcatctgctacaaggagtctgtggaccagag
gggaaaccagatcatgtctgacaagagggaatgtgattctgttctctgtcttctgatgagaacaggagc
tggtacctgactgagaacattcagcgttctctgcccacccctgctgggggtgcagctggaggacctg
agttccaggccagcaacatcatgcaactccatcaatggctatgtgtttgacagcctccagcttctgt
ctgctgcatgaggtggcctactggtacattcttcttattggggcccagactgaactccttctgtc
ttcttctctgtgctacaccttcaaacacaagatgggtgatgaggacacctgacctcttccattct
ctggggagactgtgttcatgagcatggagaacctggcctgtggattctgggatgccacaactctga
cttccgcaacaggggcatgactgcctgtcctcaagtctcctcctgtgacaagaacactggggactac
tatgaggacagctatgaggacatctctgctacctgctcagcaagaacaatgccattgagcccagga
gcttcagccagaatccacctgtcctgaaacgccaccagaggagatcaccaggaccacctccagtc
tgaccaggaggagattgactatgatgacaccatttctgtggagatgaagaaaggagactttgacatc
tatgacgaggacgagaaccagagcccaaggagcttccagaagaagaccaggcactacttcatgtctg
ctgtggagcgctgtgggactatggcatgagctccagcccccatgtcctcaggaacagggcccagtc
tggtctctgtgccacagttcaagaaagtggctcttccaagagttcactgatggcagcttccaccagccc
ctgtacagaggggagctgaatgagcacctgggactcctgggcccatacatcagggctgaggtggagg
acaacatcatgggtgaccttccgcaaccaggcctccaggccctacagcttctacagctcctcatcag
ctatgagGaggaccagaggcagggggctgagccacgcaagaactttgtgaaacccaatgaaccaag
acctacttctggaaagtccagcaccacatggcccccaccaaggatgagtttgactgcaaggcctggg

(Continuação)

Figura 2A

cctacttctctgatgtggacctggagaaggatgtgcactctggcctgattggcccactcctgggtctg
 ccacaccaacaccctgaaccctgcccattggaaggcaagtgactgtgcaggagtttgccctcttcttc
 accatctttgatgaaaccaagagctgggtacttcaactgagaacatggagcgcaactgcaggggcccat
 gcaacattcagatggaggacccccaccttcaaagagaactaccgcttccatgccatcaatggctacat
 catggacaccctgctgggcttgcctggcccaggaccagaggatcaggtggtaacctgctttctatg
 ggctccaatgagaacattcactccatccacttctctgggcatgtcttcaactgtgccaagaaggagg
 agtacaagatggccctgtacaacctctaccctggggctcttgagactgtggagatgctgcccctcaa
 agctggcatctggagggtggagtgccctcattggggagcacctgcctgctggcatgagcacctgttc
 ctggtctacagcaacaagtgccagacccccctgggaatggcctctggccacatcagggaacttccaga
 tcaactgctctggccagtatggccagtgggcccccaagctggccaggctccactactctggatccat
 caatgcctggagcaccaaggagccattcagctggatcaaagtggacctgctggcccccatgatcatc
 catggcatcaagaccaggggggccaggcagaagttctccagcctgtacatcagccagttcatcatca
 tgtacagcctggatggcaagaaatggcagacctacagaggcaactccactggaacactcatggtctt
 ctttggcaatgtggacagctctggcatcaagcacacatcttcaaccccccaatcatcgccagatac
 atcaggctgcacccccaccactacagcatccgcagcacccctcaggatggagctgatgggctgtgacc
 tgaactcctgcagcatgcccctgggcatggagagcaaggccatttctgatgccagatcactgcctc
 cagctacttcaccaacatgtttgccacctggagcccaagcaaggccaggctgcacctccagggaagg
 agcaatgcctggaggccccagggtcaacaacccaaaggagtggtgcagggtggacttccagaagacca
 tgaaggctcactggggtgaccacccagggggtcaagagcctgctcaccagcatgtatgtgaaggagtt
 cctgatcagctccagccaggatggccaccagtggacctcttcttccagaatggcaagggtcaagggtg
 ttccagggaaccaggacagcttcacCctgtggtgaacagcctggacccccccctcctgaccagat
 acctgaggattcacccccagagctgggtccaccagattgccctgaggatggagggtcctgggatgtga
 ggcccaggacctgtactga (SEQ ID NO:1)

Figura 2B

CS04-FL-AA

MQIELSTCFFLCCLLRFCFSATRRYYLGAVELSDYMQSDLGELPVDAR' FPPRVPKSFPFNTSVVYK
 KTLFVEFTDHLFNIAKPRPPWMGLLGPTIQAEVYDVTVITLKNMASHPVSLHAVGVSYWKASEGAEY
 DDQTSQREKEDDKVFPGGSHTYVWQVLKENGPMASDPLCLTYSYLSHVDLVKDLNSGLIGALLVCRE
 GSLAKEKTQTLHKFILLFAVFDEGKSWHSETKNSLMQDRDAASARAWPKMHTVNGYVNRSLPGLIGC
 HRKSVYWHVIGMGTTPEVHSIFLEGHTFLVRNHRQASLEISPITFLTAQTLLMDLGQFLLFCHISSH
 QHDGMEAYVKVDSCPEEPQLRMKNNEEAEDYDDDLTDSEMDVVRFDDDNSPSFIQIRSVAKKHPKTW
 VHIIAAEEEDWDYAPLVLPDDRYSYKSYLNNGPQRIGRKYKKVRFMAYTDETFKTREAIQHESGIL
 GPLLYGEVGDTLIIIFKNQASRPYNIYPHGITDVRPLYSRRLPKGVKHLKDFPILPGEIFKYKWTVT
 VEDGPTKSDPRCLTRYYSFVNMERDLASGLIGPLLYCYKESVDQGRNQIMSDKRNVLFSVFDENR
 SWYL TENIQRFLPNPAGVQLEDPEFQASNIMHSINGYVFDLSQLSVCLHEVAYWYILSIGAQTDFLS
 VFFSGYTFKHKMVYEDTLTLFPFSGETVFMSENPLGWILGCHNSDFRNRGMTALLKVSSCDKNTGD
 YYEDSYEDISAYLLSKNNAIEPRSFQNPVFLKRHQREITRTTLQSDQEEIDYDDTISVEMKKEDFD
 IYDEDENQSPRSFQKKTRHYFIAAVERLWDYGMSSSPHVLNRNRAQSGSVPOFKKVVFQEFDTGGSFTQ
 PLYRGELNEHLGLGPYIRAEVEDNIMVTFRNQASRPYSFYSSLISYEEDQRQGAEPKKNFVKPNET
 KTYFWKVQHMAPTKDEFDCKAWAYFSDVDLEKDVHSGLIGPLLVCHTNTLNPAHGRQVTVQEFALF
 FTIFDETKSWYFTENMERNCRAPCNIQMEDPTFKENYRFHAINGYIMDTLPGLVMAQDQQRIRWYLLS
 MGSNENIHSIHFGSHVFTVRKKEEYKMALYNLYPGVFETVEMLPKAGIWRVECLIGEHLHAGMSTL
 FLVYSNKCQTPLGMASGHIRDFQITASGQYQGWAPKLARLHYSGSINAWSTKEPFSWIKVDLLAPMI
 IHGIKTQGARQKFSSLYISQFIIMYSLDGKKWQTYRGNSTGTLMVFFGNVDSSGIKHNIENPPIIAR
 YIRLHPHYSISIRSTLRMELMGCDLNSCSMPLGMESKASDAQITASSYFTNMFATWSPSKARLHLQG
 RSNARWPQVNNPKEWLQVDFQKTMKVTGVTTQGVKSLTSMYVKEFLISSSQDGHQWTLFFQNGKVK
 VFQGNQDSFTPVVNSLDPPLLTRYLRIHPQSWVHQIALRMEVLGCEAQDLY (SEQ ID NO:2)

Figura 3

CS04-HC-NA

```

                                gcc
accaggagat actacctggg ggctgtggag ctttcttggg actacatgca gtctgacctg
ggggagctgc ctgtggatgc caggttccca cccagagtgc ccaaatecctt cccattcaac
acctctgtgg totacaagaa gacctctttt gtggagttca ctgaccacct gttcaacatt
gccaaacca ggccaccctg gatgggactc ctgggacca ccattcaggc tgaggtgtat
gacactgtgg tcatcaccct caagaacatg gcctcccacc ctgtgagcct gcatgctgtg
ggggtcagct actggaaggc ctctgagggg gctgagtatg atgaccagac ctcccagagg
gagaaggagg atgacaaagt gttccctggg ggcagccaca cctatgtgtg gcaggtcctc
aaggagaatg gccccatggc ctctgacca ctctgcctga cctactccta cttttctcat
gtggacctgg tcaaggacct caactctgga ctgattgggg cctgctggt gtgcaggagg
ggctccctgg ccaaagagaa gaccagacc ctgcacaagt tcattctcct gtttgcctgc
tttgatgagg gcaagagctg gcactctgaa accaagaact cctgatgca ggacagggat
gctgcctctg ccagggcctg gcccaagatg cacactgtga atggctatgt gaacaggagc
ctgcctggac tcattggctg ccacaggaaa tctgtctact ggcattgtgat tggcatgggg
acaacccttg aggtgcactc cattttcctg gagggccaca ccttctcgtt caggaaccac
agacaggcca gcctggagat cagccccatc accttctca ctgcccagac cctgctgatg
gacctcggac agttcctgct gttctgccac atcagctccc accagcatga tggcatggag
gcctatgtca aggtggacag ctgccctgag gagccacagc tcaggatgaa gaacaatgag
gaggctgagg actatgatga tgacctgact gactctgaga tggatgtggt ccgctttgat
gatgacaaca gcccatcctt cattcagatc aggtctgtgg ccaagaaaca cccaagacc
tgggtgcact acattgctgc tgaggaggag gactgggact atgccccact ggtcctggcc
cctgatgaca ggagctacaa gagccagtac ctcaacaatg gccacagag gattggacgc
aagtacaaga aagtcagggt catggcctac actgatgaaa ccttcaagac caggagggcc
attcagcatg agtctggcat cctgggcccc ctctgtatg gggaggtggg ggacacctg
ctcatcatct tcaagaacca ggctccagg ccctacaaca tctaccaca tggcatcact
gatgtcaggc cctgtacag ccgcaggctg ccaaaggggg tgaaacacct caaggacttc
cccattctgc ctggggagat cttcaagtac aagtggactg tcaactgtga ggatggacca
accaaactcg accccagggt cctcaccaga tactactcca gctttgtgaa catggagagg
gacctggcct ctggcctgat tggccactg ctcatctgct acaaggagtc tgtggaccag
aggggaaacc agatcatgtc tgacaagagg aatgtgattc tgttctctgt ctttgatgag
aacaggagct ggtacctgac tgagaacatt cagcgttcc tgcccaacc tgctggggtg
cagctggagg acctgagtt ccaggccagc aacatcatgc actccatcaa tggctatgtg
tttgacagcc tcagctttc tgtctgctg catgaggtgg cctactggta cattctttct
attggggccc agactgactt cttttctgtc ttcttctctg gctacacctt caaacacaag
atggtgtatg aggacacct gacctcttc ccattctctg gggagactgt gttcatgagc
atggagaacc ctggcctgtg gattctggga tgccacaact ctgacttccg caacaggggc
atgactgcc tgctcaaagt ctctcctgtg gacaagaaca ctggggacta ctatgaggac
agctatgagg acatctctgc ctacctgctc agcaagaaca atgccattga gccagg
(SEQ ID NO:3)

```

Figura 4

CS04-LC-NA

```

                                g agatcaccag gaccaccctc
cagtctgacc aggaggagat tgactatgat gacaccattt ctgtggagat gaagaaagag
gactttgaca tctatgacga ggacgagaac cagagcccaa ggagcttcca gaagaagacc
aggcactact tcattgctgc tgtggagcgc ctgtgggact atggcatgag ctccagcccc
catgtcctca ggaacagggc ccagtctggc tctgtgccac agttcaagaa agtggctctc
caagagttca ctgatggcag cttcaccag cccctgtaca gaggggagct gaatgagcac
ctgggactcc tgggcccata catcagggtt gaggtggagg acaacatcat ggtgaccttc
cgcaaccagg cctccaggcc ctacagcttc tacagctccc tcatcagcta tgaggaggac
cagaggcagg gggctgagcc acgcaagaac tttgtgaaac ccaatgaaac caagacctac
ttctggaaag tccagcacca catggccccc accaaggatg agtttgactg caaggcctgg
gcctacttct ctgatgtgga cctggagaag gatgtgcact ctggcctgat tggcccactc
ctggtctgcc acaccaacac cctgaaccct gcccatggaa ggcaagtgc tgtgcaggag
tttgccctct tcttcacat ctttgatgaa accaagagct ggtacttcac tgagaacatg
gagcgcaact gcaggggccc atgcaacatt cagatggagg accccacctt caaagagaac
taccgcttcc atgccatcaa tggctacatc atggacaccc tgccctgggt tgtcatggcc
caggaccaga ggatcaggtg gtacctgctt tctatgggct ccaatgagaa cattcactcc
atccacttct ctgggcatgt cttcactgtg cgcaagaagg aggagtacaa gatggccctg
tacaacctct accctgggggt ctttgagact gtggagatgc tgccctccaa agctggcatc
tggaggggtg agtgcctcat tggggagcac ctgcatgctg gcatgagcac cctgttctctg
gtctacagca acaagtgcc gacccccctg ggaatggcct ctggccacat cagggacttc
cagatcactg cctctggcca gtatggccag tgggccccca agctggccag gctccactac
tctggatcca tcaatgcctg gagcaccaag gagccattca gctggatcaa agtggacctg
ctggccccca tgatcatcca tggcatcaag acccaggggg ccaggcagaa gttctccagc
ctgtacatca gccagttcat catcatgtac agcctggatg gcaagaaatg gcagacctac
agaggcaact ccactggaac actcatggtc ttctttggca atgtggacag ctctggcatc
aagcacaaca tcttcaaccc cccaatcacc gccagataca tcaggctgca cccacccac
tacagcatcc gcagcacccct caggatggag ctgatgggct gtgacctgaa ctctgcagc
atgccccctg gcatggagag caaggccatt tctgatgccc agatcactgc ctccagctac
ttcaccaaca tgtttgccac ctggagccca agcaaggcca ggctgcacct ccagggaagg
agcaatgctt ggaggcccca ggtcaacaac ccaaaggagt ggctgcaggt ggacttccag
aagaccatga aggtcactgg ggtgaccacc caggggggtc agagcctgct caccagcatg
tatgtgaagg agttcctgat cagctccagc caggatggcc accagtggac cctcttcttc
cagaatggca aggtcaagggt gttccagggc aaccaggaca gcttcacccc tgtggtgaac
agcctggacc cccccctcct gaccagatac ctgaggattc acccccagag ctgggtccac
cagattgccc tgaggatgga ggtcctggga tgtgaggccc aggacctgta c
(SEQ ID NO: 4)

```

Figura 5

BDL001 - agc ttcttcaga atccacctgt cctgaagaga caccagaga (SEQ ID NO:5)
 BDL004 - agc ttcagccaga atccacctgt cctgaagcgc caccagagg (SEQ ID NO:6)
 BDL023 - agc ttcagccaga acccccogt gctgaagagg caccagagg (SEQ ID NO:7)
 BDLNG1 - agcttcagccagaatGTGAGCAACAATGTGAGCAACAATGCCACCAATAATGCTACCAACccacctgtcctgaaacgccaccagagg (SEQ ID NO:36)
 BDLNG4 - agcttcagccagaatGTGAGCAACAATGCCACCAACAATGTGAGCAACccacctgtcctgaaacgccaccagagg (SEQ ID NO:37)
 BDLNG5 - agcttcagccagaatGTGAGCAACAATGCCACCAACAATGctgaaacgccaccagagg (SEQ ID NO:38)
 BDLNG6 - agcttcagccagaatGTGAGCAACAATccacctgtcctgaaacgccaccagagg (SEQ ID NO:39)
 BDLNG9 - agcttcagccagaatAGGAGCCTGccacctgtcctgaaacgccaccagagg (SEQ ID NO:40)
 BDLNG10 - agcttcagccagaatGCCACTAATGTGTCTAACAACTCTGCTGACTCTGTGAGCCccacctgtcctgaaacgccaccagagg (SEQ ID NO:41)
 BDLNG16 - agcttcagccagaatGCCACCAACTATGTGAACAGGAGCCTGccacctgtcctgaaacgccaccagagg (SEQ ID NO:42)
 BDLNG17 - agcttcagccagaatGCCACCAACTATGTGAACAGGAGCCTGTCTGCCACCTCTGTGACTCTGTGTGAGCCAGAAATccacctgtcctgaaacgccaccagagg (SEQ ID NO:43)
 BDLNG18 - agcttcagccagaatGTGAGCAACAATGTGAGCAATGTGTGTCTGTGTCTGTGCTccacctgtcctgaaacgccaccagagg (SEQ ID NO:44)
 BDLNG19 - agcttcagccagaatATCAGCTGTGGCCTCTGCCACCTCTAACATCACTGTGGCCTCTGTGACccacctgtcctgaaacgccaccagagg (SEQ ID NO:45)
 BDLNG20 - agcttcagccagaatATCAGCTGTGACCAACAATCACTGTGACTGCCccacctgtcctgaaacgccaccagagg (SEQ ID NO:46)
 BDLNG21 - agcttcagccagaatCAGACTGTGACCAACAATCACTGTGACTGCCccacctgtcctgaaacgccaccagagg (SEQ ID NO:47)
 BDLNGV - agcttcagccagaatGCCACTAATGTGTCTAACAAACAGCAACACCAGCAATGTGCTccacctgtcctgaaacgccaccagagg (SEQ ID NO:48)

Figura 6

CS04-AV-NA

```

1      tcgcgcggttt cggatgatgac ggtgaaaacc tctgacacat gcagctcccc gagacgggtca
61     cagcttgtctt gtaagcggat gccgggagca gacaagcccg tcagggcgcg tcagcgggtg
121    ttggcgggtg  tcggggctgg cttaactatg cggcatcaga gcagattgta ctgagagtgc
181    accatatgcg  gtgtgaaata ccgcacagat gcgtaaggag aaaataccgc atcaggcgcc
241    attcgccatt  caggctgcg  aactgttggg aaggcgatc  ggtgcgggccc tcttcgctat
301    tacgccagct  ggcgaaagg  ggtgtgtctg caaggcgatt aagttgggta acgccagggt
361    tttccagtc  acgacgttgt aaaacgacgg ccagtgaatt cctcgagatt taaatgacgt
421    tggccactcc  ctctctgccc gctcgtcgcg tcactgaggc cgggcgacca aaggtcgccc
481    gacgcccggg  ctttgcccgg gggccctcag tgagcgagcg agcgcgaga gaggagtg
541    ccaactccat  cactaggggt tctgagttt  aaacttcgtc gacgattoga gcttgggctg
601    caggtcgagg  gcactgggag gatgttgagt aagatggaaa actactgatg acccttgag
661    agacagagta  ttaggacatg tttgaacagg gccggggcga tcagcaggta gctctagagg
721    atccccgtct  gtctgcacat ttctgtagag gagtgttcog atactctaata ctccctaggg
781    aaggttcata  tttgtgtagg ttacttatcc tcttttggtt gactaagtca ataatacaga
841    tcagcaggtt  ttgagtcagc ttggcaggga tcagcagcct gggttggaag gagggggtat
901    aaaagccct  tcaccaggag aagccgtcac acagactagg cgcgccaccg ccaccatgca
961    gattgagctg  agcacctgct tcttctgtgt cctgctgagg ttctgcttct ctgccaccag
1021   gagatactac  ctgggggctg ttgagctttc ttgggactac atgcagctctg acctggggga
1081   gctgcctgtg  gatgccagg  tcccaccag  agtgcccaa  tccttcccat tcaacacctc
1141   tgtggtctac  aagaagacc  tctttgtgga gttcactgac cactgttca  acattgccaa
1201   acccaggcca  cctggatgg  gactcctgg  acccaccatt caggctgagg tgtatgacac
1261   tgtggtcatc  accctcaaga acatggcctc ccaccctgtg agcctgcatg ctgtgggggt
1321   cagctactgg  aaggcctctg agggggctga gtatgatgac cagacctccc agaggagaa
1381   ggaggatgac  aaagtgttcc ctggggcag  ccacacctat gtgtggcagg tcctcaagga
1441   gaatggcccc  atggcctctg acccactctg cctgacctac tctaccttt  ctcatgtgga
1501   cctggtcaag  gacctcaact ctggactgat tggggcctg  ctggtgtgca gggagggtc
1561   cctggccaaa  gagaagacc  agacctgca  caagttcatt ctctgtttg  ctgtctttga
1621   tgagggaag  agctggcact ctgaaaccaa gaactcctg  atgcaggaca gggatgctgc
1681   ctctgccagg  gctggccca  agatgcacac tgtaatggc  tatgtgaaca ggagcctgcc
1741   tggactcatt  ggctgccaca ggaaatctgt ctactggcat gtgattggca tggggacaac
1801   cctgagggtg  cactccattt tctggaggg  ccacaccttc ctggtcagga accacagaca
1861   ggccagcctg  gagatcagcc ccatcacct  cctcactgcc cagacctgc  tgatggacct
1921   cggacagttc  ctgctgttct gccacatcag ctcccaccag catgatggca tggaggccta
1981   tgtcaagggtg  gacagctgcc ctgaggagcc acagctcagg atgaagaaca atgaggaggc
2041   tgaggactat  gatgatgacc tgactgactc tgagatggat gtggtccgct ttgatgatga
2101   caacagccca  tccttcattc agatcaggtc tgtggccaag aaacacccca agacctgggt
2161   gcactacatt  gctgctgagg aggaggactg ggactatgcc ccactggtcc tggccctga
2221   tgacaggagc  tacaagagcc agtacctcaa caatggccca cagaggattg gacgcaagta
2281   caagaaagtc  aggttcattg cctacactga tgaaaccttc aagaccaggg aggccattca
2341   gcatgagtct  ggcactcctg gccactcct  gtatggggag gtgggggaca cctgctcat
2401   catcttcaag  aaccaggcct ccaggcccta caacatctac ccacatggca tcactgatgt
2461   caggccctg  tacagccgca ggctgccaaa ggggtgaaa  cacctcaagg acttccccat

```

Figura 7A


```

2521 tctgcctggg gagatcttca agtacaagtg gactgtcact gtggaggatg gaccaaccaa
2581 atctgacccc aggtgcctca ccagatacta ctccagcttt gtgaacatgg agagggacct
2641 ggccctctggc ctgattggcc cactgctcat ctgctacaag gagtctgtgg accagagggg
2701 aaaccagatc atgtctgaca agaggaatgt gattctgttc tctgtctttg atgagaacag
2761 gagctggtac ctgactgaga acattcagcg cttcctgccc aaccctgctg ggggtgcagct
2821 ggaggacctt gagttccagg ccagcaacat catgcactcc atcaatggct atgtgtttga
2881 cagcctccag ctttctgtct gcoctgcata ggtggcctac tggtagatcc tttctattgg
2941 ggcccagact gacttccttt ctgtcttctt ctctggctac accttcaaac acaagatggg
3001 gtatgaggac accctgaccc tcttccatt ctctggggag actgtgttca tgagcatgga
3061 gaaccctggc ctgtggatcc tgggatgcca caactctgac ttccgcaaca ggggcatgac
3121 tgccctgctc aaagtctcct cctgtgacaa gaacactggg gactactatg aggacagcta
3181 tgaggacatc tctgcctacc tgctcagcaa gaacaatgcc attgagccca ggagcttcag
3241 ccagaatcca cctgtcctga aacgcacca gagggagatc accaggacca cctccagtc
3301 tgaccaggag gagattgact atgatgacac catttctgtg gagatgaaga aagaggactt
3361 tgacatctat gacgaggacg agaaccagag cccaaggagc ttccagaaga agaccaggca
3421 ctacttcatt gctgctgtgg agcgctgtg ggactatggc atgagctcca gccccatgt
3481 cctcaggaac agggcccagt ctggctctgt gccacagttc aagaaagtgg tcttccaaga
3541 gttcactgat ggcagcttca cccagccct gtacagaggg gagctgaatg agcacctggg
3601 actcctgggc ccatacatca gggctgaggt ggaggacaac atcatggtga ccttccgcaa
3661 ccaggcctcc aggcctaca gcttctacag ctccctcacc agctatgagg aggaccagag
3721 gcagggggct gagccacgca agaactttgt gaaaccaat gaaaccaaga cctacttctg
3781 gaaagtccag caccacatgg ccccccacaa ggatgagttt gactgcaagg cctgggccta
3841 cttctctgat gtggacctgg agaaggatgt gcactctggc ctgattggcc cactcctggg
3901 ctgccacacc aacaccctga accctgcca tggaaggcaa gtgactgtgc aggagtttgc
3961 cctcttcttc accatctttg atgaaaccaa gagctggtac ttcactgaga acatggagcg
4021 caactgcagg gcccctgca acattcagat ggaggacccc accttcaaa agaaactaccg
4081 cttccatgcc atcaatggct acatcatgga caccctgcct gggctgtca tggcccagga
4141 ccagaggatc aggtggtaac tgctttctat gggctccaat gagaacatc actccatcca
4201 cttctctggg catgtcttca ctgtgcgcaa gaaggaggag tacaagatgg cctgtacaa
4261 cctctacctt ggggtctttg agactgtgga gatgctgccc tccaaagctg gcactctggg
4321 ggtggagtgc ctcatgggg agcacctgca tgctggcatg agcacctgt tctgggtcta
4381 cagcaacaag tgccagaccc cctgggaat ggctctggc cacatcaggg acttccagat
4441 cactgcctct gccagtatg gccagtgggc cccaagctg gccaggctcc actactctgg
4501 atccatcaat gctggagca ccaaggagcc attcagctgg atcaaagtgg acctgctggc
4561 ccccatgac atccatggca tcaagaccca gggggccagg cagaagtctt ccagcctgta
4621 catcagccag ttcacatca tgtagacct ggatggcaag aaatggcaga cctacagagg
4681 caactccact ggaacactca tggctcttct tggcaatgtg gacagctctg gcacaaagca
4741 caacatcttc aaccccccaa tcatgcccag atacatcagg ctgcacccca cccactacag
4801 catccgcagc accctcagga tggagctgat gggctgtgac ctgaactcct gcagcatgcc
4861 cctgggcatg gagagcaagg ccatttctga tgcccagatc actgcctcca gctacttcac
4921 caacatgttt gccacctgga gccaagcaa ggccaggctg cacctccagg gaaggagcaa
4981 tgccctggag ccccaggta acaacccaaa ggagtggctg cagggtggact tccagaagac

```

Figura 7B

```

5041 catgaagggtc actgggggtga ccacccaggg ggtcaagagc ctgctcacca gcatgtatgt
5101 gaaggaggttc ctgatcagct ccagccagga tggccaccag tggaccctct tcttcagaa
5161 tggcaagggtc aaggtgttcc agggcaacca ggacagcttc acccctgtgg tgaacagcct
5221 ggaccccccc ctctgacca gatacctgag gattcacccc cagagctggg tccaccagat
5281 tgccctgagg atggagggtcc tgggatgtga ggcccaggac ctgtactgat gacgagcggc
5341 cgctcttagt agcagtatcg ataataaaag atctttatct tcattagatc tgtgtgttgg
5401 ttttttgtgt gtttaattaag ctgcggaagg aaccctagt gatggagttg gccactccct
5461 ctctgcgcgc tcgtcgcctc actgaggccg ggcgaccaa ggtcgcccga cggccgggct
5521 ttgcccgggc ggctcagtg agcgagcgag cgcgcagaga gggagtgggc aagacgattt
5581 aaatgacaag ctggcgtaa tcatggtcac agctgtttcc tgtgtgaaat tgttatccgc
5641 tcacaattcc acacaacata cgagccggaa gcataaagtg taaagcctgg ggtgcctaatt
5701 gagtgtgacta actcacatta attgcgttgc gctcactgcc cgtttccag tcgggaaacc
5761 tgtcgtgccca gctgcattaa tgaatcggcc aacgcgcggg gagaggcggg ttgctgtattg
5821 ggcgctcttc cgttccctcg ctactgact cgtcgcgtc ggtcgttcgg ctgcccagag
5881 cggtatcagc tcaactcaaag ggcgttaatac ggttatccac agaatacagg gataacgcag
5941 gaaagaacat gtgagcaaaa ggccagcaaa aggcagga ccgtaaaaag gccgcgttgc
6001 tggcgttttt ccataggctc cgtccccctg acgagcatca caaaaatcga cgtcaagtc
6061 agagggtggc aaacccgaca ggactataaa gataccaggc gtttccccct ggaagctccc
6121 tcgtgcgcgc tcctgttccg acctgcgcg ttaccggata cctgtccgc tttctccctt
6181 cgggaagcgt ggcgctttct catagctcac gctgtaggta tctcagttcg gtgtaggctg
6241 ttgcgtccaa gctgggctgt gtgcacgaac ccccgttca gcccgaccgc tgcgccttat
6301 ccggttaacta tcgtcttgag tccaacccgg taagacacga cttatcgcca ctggcagcag
6361 ccactggtaa caggattagc agagcgaggt atgtaggcgg tgotacagag ttcttgaagt
6421 ggtggccctaa ctacggctac actagaagaa cagtatttgg tatctgcgt ctgctgaagc
6481 cagttacctt cggaaaaaga gttggtagct cttgatccgg caaacaacc accgctggta
6541 gcggtggttt ttttgtttgc aagcagcaga ttacgcgcag aaaaaaggga tctcaagaag
6601 atcctttgat cttttctacg ggggtctgacg ctcagtggaa cgaaaactca cgttaaggga
6661 ttttggctcat gagattatca aaaaggatct tcacctagat ctttttaaat taaaaatgaa
6721 gttttaaatc aatctaaagt atatatgagt aaacttggtc tgacagttac caatgcttaa
6781 tcagtggaggc acctatctca gcgatctgtc tatttcgttc atccatagtt gccctgactcc
6841 ccgtcgtgta gataactacg atacgggagg gcttaccatc tggcccaggt gctgcaatga
6901 taccgcgaga ccacgcctca ccggctccag atttatcagc aataaaccag ccagccggaa
6961 gggccgagcg cagaagtggc cctgcaactt tatccgcctc catccagttc attaatgtt
7021 gccgggaagc tagagtaagt agttcgccag ttaatagttt gcgcaacggt gttgccattg
7081 ctacaggcat cgtggtgtca cgtcgtcgt ttggtatggc ttcattcagc tcgggtccc
7141 aacgatcaag gcgagttaca tgatcccca tgtgtgcaa aaaagcgggt agctccttcg
7201 gtccctccgat cgttgtcaga agtaagttgg ccgcagtgtt atcactcatg gttatggcag
7261 cactgcataa ttctcttact gtcattgccat ccgtaagatg cttttctgtg actggtgagt
7321 actcaaccaa gtcattctga gaatagtgtg tgcggcgacc gagttgctct tgcggcgt
7381 caatacggga taataccgcg ccacatagca gaactttaaa agtgcctcatc attggaaaac
7441 gttcttcggg gcgaaaaactc tcaaggatct taccgctgtt gagatccagt tcgatgtaac
7501 ccactcgtgc acccaactga tcttcagcat cttttacttt caccagcgtt tctgggtgag
7561 caaaaacagg aaggcaaaat gccgcaaaaa agggaataag ggcgacacgg aaatgttgaa
7621 tactcatact cttccttttt caatattatt gaagcattta tcagggttat tgtctcatga
7681 gcgatacatc atttgaatgt atttagaaaa ataaacaaat aggggttcgc cgcacatttc
7741 cccgaaaagt gccacctgac gtctaagaaa ccattattat catgacatta acctataaaa
7801 ataggcgtat cacgagggcc tttcgtc (SEQ ID NO:8)

```

Figura 7C

CS01m1-FL-NA

ATGCAGATTGAGCTGTCCACCTGCTTCTTTCTGTGCCTGCTGAGATTCTGCTTCTCTGCCACCAGGA
 GATACTACCTGGGGGCTGTGGAACTTTCTTGGGACTACATGCAGTCTGACCTGGGAGAGCTGCCTGT
 GGATGCCAGGTTCCCACCCAGAGTGCCCAAGTCCTTCCCATTCAACACCTCTGTGGTCTACAAGAAG
 ACACTCTTTGTGGAATTCAGTACCACCTGTTCAACATTGCAAAACCCAGACCACCTGGATGGGAC
 TCCTGGGACCCACCATTTCAGGCTGAGGTGTATGACACTGTGGTCATCACCTCAAGAACATGGCATC
 CCACCTGTGTCTCTGCATGCTGTGGGAGTCTCATACTGGAAAGCCTCTGAAGGGGCTGAGTATGAT
 GACCAGACATCCCAGAGAGAGAAAGAGGATGACAAGGTGTTCCCTGGGGGATCTCACACCTATGTGT
 GGCAAGTCCTCAAGGAGAATGGACCCATGGCATCTGACCCACTCTGCCTGACATACTCCTACCTTTC
 TCATGTGGACCTGGTCAAGGACCTCAACTCTGGACTGATTGGGGCACTGCTGGTGTGCAGGGAAGGA
 TCCCTGGCCAAGGAGAAAACCCAGACACTGCACAAGTTCATTCTCCTGTTTGTGTCTTTGATGAGG
 GCAAGTCTTGGCACTCTGAAACAAAGAACTCCCTGATGCAAGACAGGGATGCTGCCTCTGCCAGGGC
 ATGGCCCAAGATGCACACTGTGAATGGCTATGTGAACAGATCACTGCCTGGACTCATTGGCTGCCAC
 AGGAAATCTGTCTACTGGCATGTGATTGGCATGGGGACAACCCCTGAAGTGCCTCCATTTTCCCTGG
 AGGGACACACCTTCCCTGGTCAGGAACCCAGACAAGCCTCTCTGGAGATCTCTCCCATCACCTTCCCT
 CACTGCACAGACACTGCTGATGGACCTTGGACAGTTCCTGCTGTCTGCTGCCACATCTCTTCCCACCAG
 CATGATGGCATGGAAGCCTATGTCAAGGTGGACTCATGCCCTGAGGAACCCAGCTCAGGATGAAGA
 ACAATGAGGAGGCTGAGGACTATGATGATGACCTGACTGACTCTGAGATGGATGTGGTCAGATTTGA
 TGATGACAACCTCTCCATCCTTCATTTCAGATCAGGTCTGTGGCAAAGAAACACCCCAAGACATGGGTG
 CACTACATTGCTGCTGAGGAAGAGGACTGGGACTATGCACCACTGGTCCTGGCCCCCTGATGACAGGA
 GCTACAAGTCTCAGTACCTCAACAATGGCCCAAGAAATTTGGAAGAAAGTACAAGAAAGTCAGATT
 CATGGCCTACACTGATGAAACCTTCAAGACAAGAGAAGCCATTTCAGCATGAGTCTGGCATCTTGGGA
 CCACTCCTGTATGGGGAAGTGGGAGACACCTGCTCATCATCTTCAAGAACCAGGCCTCCAGGCCCC
 ACAACATCTACCCACATGGCATCACTGATGTGAGGCCCTGTACAGCAGGAGACTGCCAAAAGGGGT
 GAAACACCTCAAGGACTTCCCCATTCTGCCTGGAGAGATCTTCAAGTACAAGTGGACTGTCACTGTG
 GAGGATGGACCAACAAAGTCTGACCCAGGTGCCTCACCAGATACTACTCCTCTTTTGTGAACATGG
 AGAGAGACCTGGCATCTGGACTGATTGGACCACTGCTCATCTGCTACAAGGAGTCTGTGGACCAGAG
 AGGCAACCAGATCATGTCTGACAAGAGAAATGTGATTCTGTTCTCTGTCTTTGATGAGAACAGATCA
 TGGTACCTGACTGAGAACATTTCAGAGATTCCCTGCCCAACCCCTGCTGGGGTGCAACTGGAAGACCCTG
 AGTTCCAGGCAAGCAACATCATGCACTCCATCAATGGCTATGTGTTTGACTCTCTCCAGCTTTCTGT
 CTGCCTGCATGAGGTGGCCTACTGGTACATTCTTTCTATTGGGGCACAACTGACTTCCTTTCTGTCT
 TTCTTCTCTGGATACACCTTCAAGCACAAAGATGGTGTATGAGGACACCCTGACACTCTTCCCATTCT
 CTGGGGAACTGTGTTTCATGAGCATGGAGAACCCTGGACTGTGGATTCTGGGATGCCACAACCTCTGA
 CTTTCAGAAACAGGGGAATGACTGCACTGCTCAAAGTCTCCTCCTGTGACAAGAACTGGGGACTAC
 TATGAGGACTCTTATGAGGACATCTCTGCCTACCTGCTCAGCAAGAACAATGCCATTGAGCCCAGAA
 GCTTCTCTCAGAATCCACCTGTCTTGAAGAGACACCAGAGAGAGATCACCAGGACAACCCCTCCAGTC
 TGACCAGGAAGAGATTGACTATGATGACACCATTTCTGTGGAGATGAAGAAGGAGGACTTTGACATC
 TATGATGAGGACGAGAACCAGTCTCCAAGATCATTCAGAAGAAGACAAGACACTACTTCATTGCTG
 CTGTGGAAAGACTGTGGGACTATGGCATGTCTTCCCTCTCCCCTAGGAACAGGGGCACAGTC
 TGGCTCTGTGCCACAGTTCAAGAAAGTGGTCTTCCAGGAGTTCACTGATGGCTCATTACCCAGCCC
 CTGTACAGAGGGGAACCTGAATGAGCACCTGGGACTCCTGGGACCATACATCAGGGCTGAGGTGGAAG
 ACAACATCATGGTGACATTTCAGAAACCAGGCCTCCAGGCCCTACAGCTTCTACTCTTCCCTCATCAG
 CTATGAGGAAGACCAGAGACAAGGGGCTGAGCCAAGAAAGAACTTTGTGAAACCCAATGAAACCAAG
 ACCTACTTCTGGAAAGTCCAGCACCATGGCACCCACCAAGGATGAGTTTGACTGCAAGGCCCTGGG

(Continuação)

Figura 8A

CATACTTCTCTGATGTGGACCTGGAGAAAGATGTGCACTCTGGCCTGATTGGCCCACTCCTGGTCTG
 CCACACCAACACCCTGAACCCTGCACATGGAAGGCAAGTGAAGTGTGCAGGAGTTTGCCCTCTTCTTC
 ACCATCTTTGATGAAACCAAGTCATGGTACTTCACTGAGAACATGGAGAGAACTGCAGAGCACCAT
 GCAACATTTCAGATGGAAGACCCACCTTCAAGGAGAACTACAGGTTCCATGCCATCAATGGCTACAT
 CATGGACACCCTGCCTGGGCTTGTTCATGGCACAGGACCAGAGAATCAGATGGTACCTGCTTCTATG
 GGATCCAATGAGAACATTCCTCCATCCACTTCTCTGGGCATGTCTTCACTGTGAGAAAGAAGGAGG
 AATACAAGATGGCCCTGTACAACCTCTACCCTGGGGTCTTTGAGACTGTGGAGATGCTGCCCTCCAA
 AGCTGGCATCTGGAGGGTGGAAATGCCCTCATTTGGGGAGCACCTGCATGCTGGCATGTCAACCCTGTTTC
 CTGGTCTACAGCAACAAGTGCCAGACACCCCTGGGAATGGCCTCTGGCCACATCAGGGACTTCCAGA
 TCACTGCCCTCTGGCCAGTATGGCCAGTGGGCACCCAACTGGCCAGGCTCCACTACTCTGGCTCCAT
 CAATGCATGGTCAACCAAGGAGCCATTCTCTTGGATCAAGGTGGACCTGCTGGCACCCATGATCATT
 CATGGCATCAAGACACAGGGGGCAAGACAGAAATTCTCCTCTCTGTACATCTCACAGTTCATCATCA
 TGTACTCTCTGGATGGCAAGAAGTGGCAGACATACAGAGGCAACTCCACTGGCACCCCTCATGGTCTT
 CTTTGGCAATGTGGACAGCTCTGGCATCAAGCACAAACATCTTCAACCCTCCCATCATTGCCAGATAC
 ATCAGGCTGCACCCCACTACTCAATCAGATCAACCCTCAGGATGGAAGTGTGGATGTGACC
 TGAAGTCCCTGCTCAATGCCCCCTGGGAATGGAGAGCAAGGCCATTTCTGATGCCCAGATCACTGCATC
 CTCTTACTTCACCAACATGTTTGCCACCTGGTCACCATCAAAAGCCAGGCTGCACCTCCAGGGGAAGA
 AGCAATGCCTGGAGACCCCAAGTCAACAACCCAAAGGAATGGCTGCAAGTGGACTTCCAGAAGACAA
 TGAAAGTCACTGGGGTGACAACCCAGGGGGTCAAGTCTCTGCTCACCTCAATGTATGTGAAGGAGTT
 CCTGATCTCTTCTCACAGGATGGCCACCAGTGGACACTCTTCTTCCAGAATGGCAAAGTCAAGGTG
 TTCCAGGGCAACCAGGACTCTTTCACACCTGTGGTGAAGTCACTGGACCCCCCCTCCTGACAAGAT
 ACCTGAGAATTCAACCCCAAGTCTTGGGTCCACCAGATTGCCCTGAGAATGGAAGTCTGGGATGTGA
 GGCACAAGACCTGTACTGA (SEQ ID NO:49)

Figura 8B

CS04Δ(760-1667) - CS04-SC1-NA

ATGCAGATTGAGCTGAGCACCTGCTTCTTCTGTGCCTGCTGAGGTTCTGCTTCTCTGCCACCAGGAGATAC
TACCTGGGGGCTGTGGAGCTTCTTGGGACTACATGCAGTCTGACCTGGGGGAGCTGCCTGTGGATGCCAGG
TTCCACCCAGAGTGGCCAAATCCTTCCCATTCAACACCTCTGTGGTCTACAAGAAGACCCCTCTTTGTGGAG
TTCACTGACCACCTGTTCAACATTGCCAAACCCAGGCCACCCCTGGATGGGACTCCTGGGACCCACCATTGAG
GCTGAGGTGTATGACACTGTGGTCATCACCTCAAGAACATGGCCTCCCACCCCTGTGAGCCTGCATGCTGTG
GGGGTCAGCTACTGGAAGGCCTCTGAGGGGGCTGAGTATGATGACCAGACCTCCCAGAGGGAGAAGGAGGAT
GACAAAGTGTTCCTGGGGGAGCCACACCTATGTGTGGCAGGTCCTCAAGGAGAATGGCCCCATGGCCTCT
GACCCACTCTGCCTGACCTACTCCTACCTTTCTCATGTGGACCTGGTCAAGGACCTCAACTCTGGACTGATT
GGGGCCCTGCTGGTGTGCAGGGAGGGCTCCCTGGCCAAAGAGAAGACCCAGACCCCTGCACAAGTTTATTCTC
CTGTTTGTCTTGTGATGAGGGCAAGAGCTGGCACTCTGAAACCAAGAACTCCCTGATGCAGGACAGGGAT
GCTGCCTCTGCCAGGGCCTGGCCCAAGATGCACACTGTGAATGGCTATGTGAACAGGAGCCTGCCTGGACTC
ATTGGCTGCCACAGGAAATCTGTCTACTGGCATGTGATTGGCATGGGGACAACCCCTGAGGTGCACTCCATT
TTCCTGGAGGGCCACACCTTCTGGTCAGGAACACAGACAGGCCAGCCTGGAGATCAGCCCCATCACCTTC
CTCACTGCCCAGACCCCTGCTGATGGACCTCGGACAGTTTCTGCTGTTCTGCCACATCAGCTCCCACCAGCAT
GATGGCATGGAGGCCTATGTCAAGGTGGACAGCTGCCCTGAGGAGCCACAGCTCAGGATGAAGAACAATGAG
GAGGCTGAGGACTATGATGATGACCTGACTGACTCTGAGATGGATGTGGTCCGCTTTGATGATGACAACAGC
CCATCCTTCATTGATCAGGTCTGTGGCCAAGAAACACCCCAAGACCTGGGTGCACTACATTGCTGCTGAG
GAGGAGGACTGGGACTATGCCCCACTGGTCTGGCCCTGATGACAGGAGCTACAAGAGCCAGTACCTCAAC
AATGGCCACAGAGGATTGGACGCAAGTACAAGAAAGTCAGGTTTATGGCCTACACTGATGAAACCTTCAAG
ACCAGGGAGGCCATTTCAGCATGAGTCTGGCATCCTGGGCCACTCCTGTATGGGGAGGTGGGGGACACCCCTG
CTCATCATCTTCAAGAACCAGGCCTCCAGGCCCTACAACATCTACCCACATGGCATCACTGATGTCAGGCC
CTGTACAGCCGCAGGCTGCCAAAGGGGGTGAACACCTCAAGGACTTCCCCATTCTGCCTGGGGAGATCTTC
AAGTACAAGTGGACTGTCACTGTGGAGGATGGACCAACCAATCTGACCCAGGTGCCTCACCAGATACTAC
TCCAGCTTTGTGAACATGGAGAGGGACCTGGCCTCTGGCCTGATTGGCCCACTGCTCATCTGCTACAAGGAG
TCTGTGGACCAGAGGGGAAACCAGATCATGTCTGACAAGAGGAATGTGATTCTGTCTCTGTCTTTGATGAG
AACAGGAGCTGGTACCTGACTGAGAACATTGAGCGCTTCTGCCCAACCCCTGCTGGGGTGCAGCTGGAGGAC
CCTGAGTTCCAGGCCAGCAACATCATGCACTCCATCAATGGCTATGTGTTGACAGCCTCCAGCTTTCTGTC
TGCCTGCATGAGGTGGCCTACTGGTACATTCTTTCTATTGGGGCCAGACTGACTTCCTTTCTGTCTTCTTC
TCTGGCTACACCTTCAAACACAAGATGGTGTATGAGGACACCCCTGACCTCTTCCCATTCTCTGGGGAGACT
GTGTTTATGAGCATGGAGAACCCCTGGCCTGTGGATTCTGGGATGCCACAACCTGACTTCCGCAACAGGGGC
ATGACTGCCCTGCTCAAAGTCTCCTCCTGTGACAAGAACACTGGGGACTACTATGAGGACAGCTATGAGGAC
ATCTCTGCCTACCTGCTCAGCAAGAACAATGCCATTGAGCCAGGGAGATCACCAGGACCACCCCTCCAGTCT
GACCAGGAGGAGATTGACTATGATGACACCATTTCTGTGGAGATGAAGAAAGAGGACTTTGACATCTATGAC
GAGGACGAGAACCAGAGCCCAAGGAGCTTCCAGAAGAAGACCAGGCCTACTTCACTGCTGTGTGGAGCGC
CTGTGGGACTATGGCATGAGCTCCAGCCCCCATGTCTCAGGAACAGGGCCCACTGCTGGCTCTGTGCCACAG
TTCAAGAAAGTGGTCTTCCAAGAGTTCACTGATGGCAGCTTCAACCCAGCCCTGTACAGAGGGGAGCTGAAT
GAGCACCTGGGACTCCTGGGCCCATACATCAGGGCTGAGGTGGAGGACAACATCATGGTGACCTTCCGCAAC
CAGGCCTCCAGGCCCTACAGCTTCTACAGCTCCCTCATCAGCTATGAGGAGGACCAGAGGCAGGGGGCTGAG
CCACGCAAGAACCTTTGTGAAACCAATGAAACCAAGACCTACTTCTGGAAAGTCCAGCACCACATGGCCCC

(Continuação)

Figura 9A

ACCAAGGATGAGTTTGACTGCAAGGCCTGGGCCTACTTCTCTGATGTGGACCTGGAGAAGGATGTGCACTCT
 GGCCTGATTTGGCCCACTCCTGGTCTGCCACACCAACACCCTGAACCCTGCCCATGGAAGGCAAGTGACTGTG
 CAGGAGTTTGCCCTCTTCTTCACCATCTTTGATGAAACCAAGAGCTGGTACTTCACTGAGAACATGGAGCGC
 AACTGCAGGGCCCCATGCAACATTCAGATGGAGGACCCACCTTCAAAGAGAACTACCGCTTCCATGCCATC
 AATGGCTACATCATGGACACCCTGCCTGGGCTTGTCTATGGCCCAGGACCAGAGGATCAGGTGGTACCTGCTT
 TCTATGGGCTCCAATGAGAACATTCATCCATCCACTTCTCTGGGCATGTCTTCACTGTGCGCAAGAAGGAG
 GAGTACAAGATGGCCCTGTACAACCTCTACCCTGGGGTCTTTGAGACTGTGGAGATGCTGCCCTCCAAAGCT
 GGCATCTGGAGGGTGGAGTGCCTCATTGGGGAGCACCTGCATGCTGGCATGAGCACCCCTGTTCTCTGGTCTAC
 AGCAACAAGTGCCAGACCCCCCTGGGAATGGCCTCTGGCCACATCAGGGACTTCCAGATCACTGCCTCTGGC
 CAGTATGGCCAGTGGGCCCCCAAGCTGGCCAGGCTCCACTACTCTGGATCCATCAATGCCTGGAGCACCAAG
 GAGCCATTTCAGCTGGATCAAAGTGGACCTGCTGGCCCCCATGATCATCCATGGCATCAAGACCCAGGGGGCC
 AGGCAGAAGTTCTCCAGCCTGTACATCAGCCAGTTCATCATCATGTACAGCCTGGATGGCAAGAAATGGCAG
 ACCTACAGAGGCAACTCCACTGGAACACTCATGGTCTTCTTTGGCAATGTGGACAGCTCTGGCATCAAGCAC
 AACATCTTCAACCCCCCAATCATCGCCAGATACATCAGGCTGCACCCCACTACAGCATCCGCAGCACC
 CTCAGGATGGAGCTGATGGGCTGTGACCTGAACTCCTGCAGCATGCCCCCTGGGCATGGAGAGCAAGGCCATT
 TCTGATGCCCAGATCACTGCCTCCAGCTACTTCACCAACATGTTTGCCACCTGGAGCCCAAGCAAGGCCAGG
 CTGCACCTCCAGGGAAGGAGCAATGCCTGGAGGCCCCAGGTCAACAACCCAAAGGAGTGGCTGCAGGTGGAC
 TTCCAGAAGACCATGAAGGTCACTGGGGTGACCACCCAGGGGGTCAAGAGCCTGCTCACCAGCATGTATGTG
 AAGGAGTTCTGATCAGCTCCAGCCAGGATGGCCACCAGTGGACCCTCTTCTTCCAGAATGGCAAGGTCAAG
 GTGTTCCAGGGCAACCAGGACAGCTTCACCCCTGTGGTGAACAGCCTGGACCCCCCTCTGACCAGATAC
 CTGAGGATTACCCCCAGAGCTGGGTCCACCAGATTGCCCTGAGGATGGAGGTCTCTGGGATGTGAGGCCAG
 GACCTGTACTGA (SEQ ID NO:9)

Figura 9B

CS04Δ(760-1667) - CS04-SC1-AA

MQIELSTCFFLCLLRFCFSATRRYYLGAVELSWDYMQSDLGELPVDARFPFPRVPKSFPPFNTSVVYKK
 TLFVEFTDHLFNIAKPRPPWMGLLGPTIQAEVYDTVVITLKNMASHPVSLHAVGVSYWKASEGAEYD
 DQTSQREKEDDKVFPGGSHTYVWQVLKENGPMASDPLCLTYSYLSHVDLVKDLNSGLIGALLVCREG
 SLAKEKTQTLHKFILLFAVFEDEGKSWHSETKNSLMQDRDAASARAWPKMHTVNGYVNRSLPGLIGCH
 RKSVMYWHVIGMGTTPFVHSTIFLEGHTFLVRNHRQASLEISPIITFLTAQTLMDLGQFLLFCHISSHQ
 HDGMEAYVKVDSCEEPQLRMKNNEEAEDYDDDLTDSEMDVVRFDNNSPSFIQIRSVAKKHPKTWV
 HYIAAEEEDWDYAPLV LAPDDRSYKSQYLNNGPQRIGRKYKKVRFMAYTDETFKTREAIQHESGILG
 PLLYGEVGD TLLIIFKNQASRPYNIYPHGITDVRPLYSRRLPKGVKHLKDFPILPGEIFKYKWTVTV
 EDGPTKSDPRCLTRYSSFEVNMERDLASGLIGPLLCYKESVDQQRGNQIMSDKRNVILESVFDENRS
 WYLTENIQRFPLNPAGVQLEDPEFQASNIMHSINGYVFDLSQLSVCLHEVAYWYILSIGAQTDFLSV
 FFSGYTFKHKMVEYEDTLTLFPFSGETVFMSENPGLWLILGCHNSDFRNRGMTALLKVSSCDKNTGDY
 YEDSYEDISAYLLSKNNAIEPREITRTTLQSDQEEIDYDDTISVEMKKEDFDIYDEDENQSPRSFQK
 KTRHYFTAAVERLWDYGMSSSPHVLNRNAQSGSVPQFKKVVFQEFQDGSFTQPLYRGELNEHLGLLG
 PYIRAEVEDNIMVTFRNQASRPYSFYSSLSIYEEDQROGAEPKKNFVKPNETKTYFWKVQHMAPTK
 DEFDCAWAYFSDVDLEKDVHSGLIGPLLVCHTNTLNPAHGRQVTVQEFALFTTIFDETKSWYFTEN
 MERNCRAPCNIQMEDPTFKENYRFHAINGYIMDTLPGLVMAQDQRIRWYLLSMGSNENIHSIHFSGH
 VFTVRKKEEYKMALYNLYPGVFETVEMLPKAGIWRVECLIGEHLHAGMSTLFLVYSNKCQTPLGMA
 SGHIRDFQITASGQYQWAPKLARLHYSGSINAWSTKEPFSWIKVDLLAPMIIHGKIQGARQKFSS
 LYISQFIIMYSLDGKKWQTYRGNSTGTLMVFFGNVDSSGIKHNI FNPPIIARYIRLHPHTHYSIRSTL
 RMELMGCDLNSCSMPLGMESKAISDAQITASSYFTNMFATWSPSKARLHLQGRSNAWRPQVNNPKEW
 LQVDFQKTMKVTGVTQGVKSLTSMYVKEFLISSSQDGHQWTLFFQNGKVVFQGNQDSFTPVVNS
 LDPPLLTRYLRHPQSWVHQIALRMEVLGCEAQDLY (SEQ ID NO:10)

Figura 10

CS04Δ(772-1667) - CS04-SC2-NA

ATGCAGATTGAGCTGAGCACCTGCTTCTTCTGTGCCTGCTGAGGTTCTGCTTCTCTGCCACCAGG
AGATACTACCTGGGGGCTGTGGAGCTTTCTTGGGACTACATGCAGTCTGACCTGGGGGAGCTGCCT
GTGGATGCCAGGTTCCCACCCAGAGTGCCCAAATCCTTCCCATTCAACACCTCTGTGGTCTACAAG
AAGACCCCTCTTTGTGGAGTTCACTGACCACCTGTTCAACATTGCCAAACCCAGGCCACCCTGGATG
GGACTCCTGGGACCCACCATTCAAGGCTGAGGTGTATGACACTGTGGTCATCACCTCAAGAACATG
GCCTCCCACCCTGTGAGCCTGCATGCTGTGGGGGTGAGCTACTGGAAGGCCTCTGAGGGGGCTGAG
TATGATGACCAGACCTCCCAGAGGGAGAAGGAGGATGACAAAGTGTTCCCTGGGGGCAGCCACACC
TATGTGTGGCAGGTCCTCAAGGAGAATGGCCCCATGGCCTCTGACCCACTCTGCCTGACCTACTCC
TACCTTTCTCATGTGGACCTGGTCAAGGACCTCAACTCTGGACTGATTGGGGCCCTGCTGGTGTGC
AGGGAGGGCTCCCTGGCCAAAGAGAAGACCCAGACCCTGCACAAGTTCATTCTCTGTGTTGCTGTC
TTTGATGAGGGCAAGAGCTGGCACTCTGAAACCAAGAAGTCCCTGATGCAGGACAGGGATGCTGCC
TCTGCCAGGGCCTGGCCCAAGATGCACACTGTGAATGGCTATGTGAACAGGAGCCTGCCTGGACTC
ATTGGCTGCCACAGGAAATCTGTCTACTGGCATGTGATTGGCATGGGGACAACCCCTGAGGTGCAC
TCCATTTTCTGGAGGGCCACACCTTCCCTGGTCAGGAACACAGACAGGCCAGCCTGGAGATCAGC
CCCATCACCTTCTCACTGCCCAGACCCTGCTGATGGACCTCGGACAGTTCCTGCTGTTCTGCCAC
ATCAGCTCCCACCAGCATGATGGCATGGAGGCCTATGTCAAGGTGGACAGCTGCCCTGAGGAGCCA
CAGCTCAGGATGAAGAACAATGAGGAGGCTGAGGACTATGATGATGACCTGACTGACTCTGAGATG
GATGTGGTCCGCTTTGATGATGACAACAGCCCATCCTTCATTTCAGATCAGGTCTGTGGCCAAGAAA
CACCCCAAGACCTGGGTGCACTACATTGCTGCTGAGGAGGAGGACTGGGACTATGCCCCACTGGTC
CTGGCCCCCTGATGACAGGAGCTACAAGAGCCAGTACCTCAACAATGGCCACAGAGGATTGGACGC
AAGTACAAGAAAGTCAGGTTTCATGGCCTACACTGATGAAACCTTCAAGACCAGGGAGGCCATTTCAG
CATGAGTCTGGCATCCTGGGCCCCACTCCTGTATGGGGAGGTGGGGGACACCCTGCTCATCATCTTC
AAGAACCAGGCCTCCAGGCCCTACAACATCTACCCACATGCCATCACTGATGTGAGGCCCTGTAC
AGCCGCAGGCTGCCAAAGGGGGTGAAACACCTCAAGGACTTCCCCATTCTGCCTGGGGAGATCTTC
AAGTACAAGTGGACTGTCACTGTGGAGGATGGACCAACCAATCTGACCCAGGTGCCTCACCAGA
TACTACTCCAGCTTTGTGAACATGGAGAGGGACCTGGCCTCTGGCCTGATTGGCCCACTGCTCATC
TGCTACAAGGAGTCTGTGGACCAGAGGGGAAACCAGATCATGTCTGACAAGAGGAATGTGATTCTG
TTCTCTGTCTTTGATGAGAACAGGAGCTGGTACCTGACTGAGAACATTTCAGCGCTTCTGCCCCAAC
CCTGCTGGGGTGCAGCTGGAGGACCCTGAGTTCAGGCCAGCAACATCATGCACTCCATCAATGGC
TATGTGTTTGACAGCCTCCAGCTTTCTGTCTGCCTGCATGAGGTGGCCTACTGGTACATTCTTTCT
ATTGGGGCCCAGACTGACTTCCCTTTCTGTCTTCTTCTCTGGCTACACCTTCAAACACAAGATGGTG
TATGAGGACACCCTGACCCTCTTCCCATTCTCTGGGGAGACTGTGTTTCATGAGCATGGAGAACCCT
GGCCTGTGGATTCTGGGATGCCACAACCTCTGACTTCCGCAACAGGGGCATGACTGCCCTGCTCAA
GTCTCCTCCTGTGACAAGAACAACCTGGGGACTACTATGAGGACAGCTATGAGGACATCTCTGCCTAC
CTGCTCAGCAAGAACAATGCCATTGAGCCCAGGAGCTTCAGCCAGAATTCCAGACACCCAGCACC
AGGGAGATCACCAGGACCACCCTCCAGTCTGACCAGGAGGAGATTGACTATGATGACACCATTTCT
GTGGAGATGAAGAAAGAGGACTTTGACATCTATGACGAGGACGAGAACCAGAGCCCAAGGAGCTTC

(Continuação)

Figura 11A

CAGAAGAAGACCAGGCACTACTTCATTGCTGCTGTGGAGCGCCTGTGGGACTATGGCATGAGCTCC
 AGCCCCCATGTCTCAGGAACAGGGCCCAGTCTGGCTCTGTGCCACAGTTCAAGAAAGTGGTCTTC
 CAAGAGTTCACTGATGGCAGCTTCACCCAGCCCCGTGTACAGAGGGGAGCTGAATGAGCACCTGGGA
 CTCTTGGGCCCATACATCAGGGCTGAGGTGGAGGACAACATCATGGTGACCTTCCGCAACCAGGCC
 TCCAGGCCCTACAGCTTCTACAGCTCCCTCATCAGCTATGAGGAGGACCAGAGGCAGGGGGCTGAG
 CCACGCAAGAACTTTGTGAAACCCAATGAAACCAAGACCTACTTCTGGAAAGTCCAGCACCATG
 GCCCCACCAAGGATGAGTTTGACTGCAAGGCCTGGGCCTACTTCTCTGATGTGGACCTGGAGAAG
 GATGTGCACTCTGGCCTGATTGGCCCACTCCTGGTCTGCCACACCAACACCCTGAACCTGCCCAT
 GGAAGGCAAGTGACTGTGCAGGAGTTTGCCCTCTTCTTCACCATCTTTGATGAAACCAAGAGCTGG
 TACTTCACTGAGAACATGGAGCGCAACTGCAGGGCCCCATGCAACATTCAGATGGAGGACCCACC
 TTCAAAGAGAACTACCGCTTCCATGCCATCAATGGCTACATCATGGACACCCTGCCTGGGCTTGTC
 ATGGCCCAGGACCAGAGGATCAGGTGGTACCTGCTTTCTATGGGCTCCAATGAGAACATTCACCTCC
 ATCCACTTCTCTGGGCATGTCTTCACTGTGCGCAAGAAGGAGGAGTACAAGATGGCCCTGTACAAC
 CTCTACCCCTGGGGTCTTTGAGACTGTGGAGATGCTGCCCTCCAAAGCTGGCATCTGGAGGGTGGAG
 TGCCCTCATTTGGGGAGCACCTGCATGCTGGCATGAGCACCTGTTCTTGGTCTACAGCAACAAGTGC
 CAGACCCCCCTGGGAATGGCCTCTGGCCACATCAGGGACTTCCAGATCACTGCCTCTGGCCAGTAT
 GGCCAGTGGGCCCCCAAGCTGGCCAGGCTCCACTACTCTGGATCCATCAATGCCTGGAGCACCAAG
 GAGCCATTCAGCTGGATCAAAGTGGACCTGCTGGCCCCCATGATCATCCATGGCATCAAGACCCAG
 GGGGCCAGGCAGAAGTTCTCCAGCCTGTACATCAGCCAGTTCATCATCATGTACAGCCTGGATGGC
 AAGAAATGGCAGACCTACAGAGGCAACTCCACTGGAACACTCATGGTCTTCTTTGGCAATGTGGAC
 AGCTCTGGCATCAAGCACAACATCTTCAACCCCCCAATCATCGCCAGATACATCAGGCTGCACCCC
 ACCCACTACAGCATCCGCAGCACCTCAGGATGGAGCTGATGGGCTGTGACCTGAACTCCTGCAGC
 ATGCCCCCTGGGCATGGAGAGCAAGGCCATTTCTGATGCCCAGATCACTGCCTCCAGCTACTTCACC
 AACATGTTTGCCACCTGGAGCCCCAAGCAAGGCCAGGCTGCACCTCCAGGGAAGGAGCAATGCCTGG
 AGGCCCCAGGTCAACAACCCAAAGGAGTGGCTGCAGGTGGACTTCCAGAAGACCATGAAGGTCACT
 GGGGTGACCACCCAGGGGGTCAAGAGCCTGCTCACCAGCATGTATGTGAAGGAGTTCTTGATCAGC
 TCCAGCCAGGATGGCCACCAGTGGACCTCTTCTTCCAGAATGGCAAGGTCAAGGTGTTCCAGGGC
 AACCAGGACAGCTTACCCCTGTGGTGAACAGCCTGGACCCCCCCTCCTGACCAGATACCTGAGG
 ATTACCCCCAGAGCTGGGTCCACCAGATTGCCCTGAGGATGGAGGTCCTGGGATGTGAGGCCCAG
 GACCTGTACTGA (SEQ ID NO:11)

Figura 11B

CS04Δ(772-1667) - CS04-SC2-AA

MQIELSTCFLLCLLRFCSATRRYYLGAVELSWDYMQSDLGELPVDARFPFPRVPKSFNFNTSVVYKKTLEVEF
 TDHLEFNIAPRPPWMGLLGPTIQAEVYDTVVITLKNMASHFVSLHAVGVSYWKASEGAEYDDQTSQREKEDDK
 VFPGGSHTYVWQVLKENGPMASDPLCLTYSYLSHVDLVKDLNSGLIGALLVCREGSLAKEKTQTLHKFILLFA
 VFDEGKSWHSETKNSLMQDRDAASARAWPKMHTVNGYVNRSLPGLIGCHRKSVYWHVIGMGTTPEVHSIFLEG
 HTFLVRNHRQASLEISPITFLTAQTLLMDLGQFLLFCHISSHQHDGMEAYVKVDSCPEEPQLRMKNNEEAEDY
 DDDLTDSEMDVVRFDNNSPSFIQIRSVAKKHPKTWVHYIAAEEDWDYAPLVLAAPDDRSYKSQYLNNGPQRI
 GRKYKKVRFMAYTDETFKTREAIQHESGILGPLYGEVGDITLLIIFKNQASRPYNIYPHGITDVRPLYSRRLP
 KGVKHLKDFPILPGEIFKYKWTVTVEDGPTKSDPRCLTRYSSSFVNMERDLASGLIGPLLYCYKESVDQRGNO
 IMSDKRNVILFSVFENRSWYLTENIQRFLEPNPAGVQLEDPEFQASNIMHSINGYVFDLSQLSVCLHEVAYWY
 ILSIGAQTDFLSVFFSGYTFKHKMVYEDTITLFPFSGETVFMSENPGLWILGCHNSDFNRNRMGTALLKVSSC
 DKNTGDYEDSYEDISAYLLSKNNAIEPRSFQNSRHPSTREITRTTLQSDQEEIDYDDTISVEMKKEDFDIY
 DEDENQSPRSFQKKTRHYFIAAVERLWDYGMSSSPHVLNRNAQSGSVQFQKVVQFEFTDGSFTQPLYRGELN
 EHLGLLGPYIRAEVEDNIMVTFRNQASRPYSFYSSLISYEEDQRQGAEPKNEFKPNETKTYFWKVQHMAPT
 KDEFDCKAWAYFSDVDLEKDVHSGLIGPLLVCHTNTLNPAHGRQVTVQEFALFFTIFDETKSWYFTENMERN
 RAPCNIQMEDPTFKENYRFHAINGYIMDTLPGLVMAQDQRIRWYLLSMGSNENIHSIHFSGHVFTVRKKEEYK
 MALYNLYPGVFETVEMLPSKAGIWRVECLIGEHLHAGMSTLFLVYSNKCQTPLGMASGHIRDQITASGQYGO
 WAPKLARLHYSGSINAWSTKEPFSWIKVDLLAPMIIHGIKTQGARQKFSSLYISQFIIMYSLDGKKWQTYRGN
 STGTLMVFFGNVDSSGIKHNIENPPIIARYIRLHPHTHYSIRSTLRMELMGCDLNSCSMPLGMESKAISDAQIT
 ASSYFTNMFATWSPSKARLHLQGRSNAWRPQVNNPKEWLQVDFQKTMKVTGVTQGVKSLTSMYVKEFLISS
 SQDGHQWTLFFQNGKVKVFQGNQDSFTPVVNSLDPPLLTRYLRIHPQSWVHQIALRMEVLGCEAQDLY
 (SEQ ID NO:12)

Figura 12

NG1: V S N N V S N N A T N N A T N (SEQ ID NO:51)
GTG AGC AAC AAT GTG AGC AAC AAT GCC ACC AAT AAT GCT ACC AAC (SEQ ID NO:50)

NG4: V S N N A T N N V S N (SEQ ID NO:53)
GTG AGC AAC AAT GCC ACC AAC AAT GTG AGC AAC (SEQ ID NO:52)

NG5: V S N N A T N (SEQ ID NO:55)
GTG AGC AAT AAT GCC ACC AAC (SEQ ID NO:54)

NG6: V S N N (SEQ ID NO:57)
GTG AGC AAT AAT (SEQ ID NO:56)

NG9: R S L (SEQ ID NO:59)
AGG AGC CTG (SEQ ID NO:58)

NG10: A T N V S N N S A T S A D S A V S (SEQ ID NO:61)
GCC ACT AAT GTG TCT AAC AAC TCT GCT ACC TCT GCT GAC TCT GCT GTG AGC (SEQ ID NO:60)

NG16: A T N Y V N R S L (SEQ ID NO:63)
GCC ACC AAC TAT GTG AAC AGG AGC CTG (SEQ ID NO:62)

Figura 13A

NG17: A T N Y V N R S L S A T S A D S A V S Q N (SEQ ID NO:65)
GCC ACC AAC TAT GTG AAC AGG AGC CTG TCT TCT GCC ACC TCT GCT GAC TCT GTG AGC CAG AAT (SEQ ID NO:64)

NG18: V S N N V S N A V S A V S A (SEQ ID NO:67)
GTG AGC AAC AAT GTG AGC AAT GCT GTG TCT GCT GTG TCT GCT (SEQ ID NO:66)

NG19: I T V A S A T S N I T V A S A D (SEQ ID NO:69)
ATC ACT GTG GCC TCT GCC ACC TCT AAC ATC ACT GTG GCC TCT GCT GAC (SEQ ID NO:68)

NG20: I T V T N I T V T A (SEQ ID NO:71)
ATC ACT GTG ACC AAC ATC ACT GTG ACT GCC (SEQ ID NO:70)

NG21: Q T V T N I T V T A (SEQ ID NO:73)
CAG ACT GTG ACC AAC ATC ACT GTG ACT GCC (SEQ ID NO:72)

NGV: A T N V S N N S N T S N D S N V S (SEQ ID NO:75)
GCC ACT AAT GTG TCT AAC AAC AGC AAC ACC AGC AAT GAC AGC AAT GTG TCT (SEQ ID NO:74)

Figura 13B

* Previsões para sítios de N-Glicosilação em 1 sequência

Nome: **CBO_HUMAN** Comprimento: 405

(Sequências)

Sequências Asn-Xaa-Ser/Thr (inclusive Asn-Pro-Ser/Thr) são mostradas em azul.

Asparaginas previstas para serem N-glicosiladas são mostradas em vermelho.

Observe que nem todas as sequências são previstas para serem glicosiladas.

```

MPLLLYTCILNLEPTSGINTVQAMDFMAAYVSSNNHNGLASANVDFAFSLYKELVALSPGQNIIFISFVISMALAMLSLG      80
TCQNTAQLLQGLQFNLTERTSETEINQOFQSLNQLPAKSDTSLKNTGNALFIDQSLLELLESFADIKSYTSEVLAIRF      160
QDNATASRQINSYVNETTQKIVDLFGOLDSPAILVLVNYIIPFRTWTQPPDLASTREENTVVDETTAVKVMQLQSTI      240
SYLNDSELFCQLVYNNYVGNQTVFTPLPKDDEHTVIAALSRETINRMSAGLTSSQVDLYTPFTTISQVYDLQGVLEKQ      320
IADLPNQNANFSRITQDAQLKSEVVKAVLQLNKSGVDTAGSTGVTLNLTSEPIILRPWQPFLLIMIFDHPWSSSLFIAR      400
VSNFV
  
```

(Linha de anotação)

"N" representa um sítio de N-glicosilação previsto.

"n" representa um Asn com um escore positivo, mas que não ocorre em uma sequência Asn-Xaa-Ser/Thr

```

.....N.....      80
.....N.....      160
.....N.....      240
.....N.....      320
.....N.....      400
  
```

(Limiar = 0,5)

| Nome de seq. | Posição | Potencial | Acordo de "júri" | Resultado de NGlyc |
|--------------|----------|-----------|------------------|--|
| CBO_HUMAN | 31 NNSN | 0.7166 | (9/9) | ++ Premeditado como N-glicosilato (++) |
| CBO_HUMAN | 96 NLYS | 0.6356 | (8/9) | + Premeditado como N-glicosilato (+) |
| CBO_HUMAN | 176 NKTQ | 0.3941 | (7/9) | - Um sítio negativo |
| CBO_HUMAN | 260 NQTV | 0.7400 | (9/9) | ++ ver abaixo para mais |
| CBO_HUMAN | 330 NPSR | 0.4223 | (7/9) | - |
| CBO_HUMAN | 369 NLYS | 0.6684 | (9/9) | ++ informações |

Figura 14

Nome: Sequência

Comprimento: 41

LSKNNAIEPRFSQNA TNVSNNSNTSND SNVSPV LKRHQR

.....N..N.....

(Limiar = 0,5)

| Nome de Seq. | Posição | Potencial | Acordo de "Júri" | Resultado de N-Glicose |
|--------------|---------|-----------|------------------|------------------------|
| Sequência | 15 NATN | 0.6224 | (8/9) | + |
| Sequência | 18 NVSN | 0.6453 | (9/9) | ++ |
| Sequência | 21 NNSN | 0.4158 | (8/9) | - |
| Sequência | 24 NTSN | 0.4158 | (8/9) | - |
| Sequência | 27 NDSN | 0.3619 | (8/9) | - |
| Sequência | 30 NVSP | 0.1149 | (9/9) | --- |

Figura 15

CS01-FL-NA

ATGCAGATTGAGCTGTCCACCTGCTTCTTTCTGTGCCTGCTGAGATTCTGCTTCTCTGCCACCAGG
 AGATACTACCTGGGGGCTGTGGAACCTTTCTTGGGACTACATGCAGTCTGACCTGGGAGAGCTGCCT
 GTGGATGCCAGGTTCCCAACCCAGAGTGCCCAAGTCCTTCCCATTC AACACCTCTGTGGTCTACAAG
 AAGACACTCTTTGTGGAATTCAGTACCACCTGTTCAACATTGCAAAACCCAGACCACCTGGATG
 GGACTCCTGGGACCCACCATTCAAGGCTGAGGTGTATGACACTGTGGTCATCACCTCAAGAACATG
 GCATCCCAACCTGTGTCTCTGCATGCTGTGGGAGTCTCATACTGGAAAGCCTCTGAAGGGGCTGAG
 TATGATGACCAGACATCCAGAGAGAGAAAGAGGATGACAAGGTGTTCCCTGGGGGATCTCACACC
 TATGTGTGGCAAGTCCTCAAGGAGAATGGACCCATGGCATCTGACCCACTCTGCCTGACATACTCC
 TACCTTTCTCATGTGGACCTGGTCAAGGACCTCAACTCTGGACTGATTGGGGCACTGCTGGTGTGC
 AGGGAAGGATCCCTGGCCAAGGAGAAAACCCAGACACTGCACAAGTTTATTCTCCTGTTTGTGTCT
 TTTGATGAGGGCAAGTCTTGGCACTCTGAAACAAAGAACTCCCTGATGCAAGACAGGGATGCTGCC
 TCTGCCAGGGCATGGCCCAAGATGCACACTGTGAATGGCTATGTGAACAGATCACTGCCTGGACTC
 ATTGGCTGCCACAGGAAATCTGTCTACTGGCATGTGATTGGCATGGGGACAACCCCTGAAGTGCAC
 TCCATTTTCTGGAGGGACACACCTTCCCTGGTCAGGAACACAGACAAGCCTCTCTGGAGATCTCT
 CCCATCACCTTCCCTCACTGCACAGACACTGCTGATGGACCTGGACAGTTCTCTGCTGTCTGCCAC
 ATCTCTTCCCACCAGCATGATGGCATGGAAGCCTATGTCAAGGTGGACTCATGCCCTGAGGAACCA
 CAGCTCAGGATGAAGAACAATGAGGAGGCTGAGGACTATGATGATGACCTGACTGACTCTGAGATG
 GATGTGGTCAGATTTGATGATGACAACTCTCCATCCTTCATTGATCAGGTCTGTGGCAAAGAAA
 CACCCCAAGACATGGGTGCACTACATTGCTGCTGAGGAAGAGGACTGGGACTATGCACCACTGGTC
 CTGGCCCCCTGATGACAGGAGCTACAAGTCTCAGTACCTCAACAATGGCCCACAAAGAATTGGAAGA
 AAGTACAAGAAAGTCAGATTTCATGGCCTACACTGATGAAACCTTCAAGACAAGAGAAGCCATTGAG
 CATGAGTCTGGCATTCTGGGACCACTCCTGTATGGGGAAGTGGGAGACACCCTGCTCATCATCTTC
 AAGAACCAGGCCTCCAGGCCCTACAACATCTACCCACATGGCATCACTGATGTCAGGCCCTGTAC
 AGCAGGAGACTGCCAAAAGGGGTGAAACACCTCAAGGACTTCCCCATTCTGCCTGGAGAGATCTTC
 AAGTACAAGTGGACTGTCACTGTGGAGGATGGACCAACAAAGTCTGACCCAGGTGCCTCACCAGA
 TACTACTCCTCTTTGTGAACATGGAGAGAGACCTGGCATCTGGACTGATTGGACCACTGCTCATC
 TGCTACAAGGAGTCTGTGGACCAGAGAGGCAACCAGATCATGTCTGACAAGAGAAATGTGATTCTG
 TTCTCTGTCTTTGATGAGAACAGATCATGGTACCTGACTGAGAACATTGAGAGATTCTTGCCCAAC
 CCTGCTGGGGTGCAACTGGAAGACCTGAGTTCCAGGCAAGCAACATCATGCACTCCATCAATGGC
 TATGTGTTTGGACTCTCTCCAGCTTTCTGTCTGCCTGCATGAGGTGGCCTACTGGTACATTCTTTCT
 ATTGGGGCACAACTGACTTCCTTTCTGTCTTCTTCTCTGGATACACCTTCAAGCACAAAGATGGTG
 TATGAGGACACCCTGACACTCTTCCCATCTCTGGGGAACTGTGTTTATGAGCATGGAGAACCCT
 GGACTGTGGATTCTGGGATGCCACAACCTGACTTCAGAAACAGGGGAATGACTGCACTGCTCAAA
 GTCTCCTCCTGTGACAAGAACAACACTGGGGACTACTATGAGGACTCTTATGAGGACATCTCTGCCTAC
 CTGCTCAGCAAGAACAATGCCATTGAGCCCAGAAGCTTCTCTCAGAATCCACCTGTCTCTGAAGAGA
 CACCAGAGAGAGATCACCAGGACAACCTCCAGTCTGACCAGGAAGAGATTGACTATGATGACACC
 ATTTCTGTGGAGATGAAGAAGGAGGACTTTGACATCTATGATGAGGACGAGAACCAGTCTCCAAGA
 TCATTCAGAAAGAAGACAAGACACTACTTCATTGCTGCTGTGGAAAGACTGTGGGACTATGGCATG
 TCTTCTCTCCCCATGTCTCAGGAACAGGGCACAGTCTGGCTCTGTGCCACAGTTCAAGAAAGTG
 GTCTTCCAGGAGTTCACTGATGGCTCATTCACCCAGCCCCCTGTACAGAGGGGAACCTGAATGAGCAC

(Continuação)

Figura 16A

CTGGGACTCCTGGGACCATAACATCAGGGCTGAGGTGGAAGACAACATCATGGTGACATTTCAGAAAC
 CAGGCCCTCCAGGCCCTACAGCTTCTACTCTTCCCTCATCAGCTATGAGGAAGACCAGAGACAAGGG
 GCTGAGCCAAGAAAGAACTTTGTGAAACCCAATGAAACCAAGACCTACTTCTGGAAAGTCCAGCAC
 CACATGGCACCCACCAAGGATGAGTTTGACTGCAAGGCCTGGGCATACTTCTCTGATGTGGACCTG
 GAGAAAGATGTGCACTCTGGCCTGATTGGCCCACTCCTGGTCTGCCACACCAACACCCTGAACCCT
 GCACATGGAAGGCAAGTGACTGTGCAGGAGTTTGCCCTCTTCTTCACCATCTTTGATGAAACCAAG
 TCATGGTACTTCACTGAGAACATGGAGAGAACTGCAGAGCACCATGCAACATTTCAGATGGAAGAC
 CCCACCTTCAAGGAGAACTACAGGTTCCATGCCATCAATGGCTACATCATGGACACCCTGCCTGGG
 CTTGTTCATGGCACAGGACCAGAGAATCAGATGGTACCTGCTTTCTATGGGATCCAATGAGAACATT
 CACTCCATCCACTTCTCTGGGCATGTCTTCACTGTGAGAAAGAAGGAGGAATACAAGATGGCCCTG
 TACAACCTCTACCCTGGGGTCTTTGAGACTGTGGAGATGCTGCCCTCCAAAGCTGGCATCTGGAGG
 GTGGAATGCCTCATTGGGGAGCACCTGCATGCTGGCATGTCAACCCCTGTTCTGGTCTACAGCAAC
 AAGTGCCAGACACCCCTGGGAATGGCCTCTGGCCACATCAGGGACTTCCAGATCACTGCCTCTGGC
 CAGTATGGCCAGTGGGCACCCAACTGGCCAGGCTCCACTACTCTGGCTCCATCAATGCATGGTCA
 ACCAAGGAGCCATTCTCTTGGATCAAGGTGGACCTGCTGGCACCCATGATCATTCATGGCATCAAG
 ACACAGGGGGCAAGACAGAAATTCTCCTCTCTGTACATCTCACAGTTCATCATCATGTACTCTCTG
 GATGGCAAGAAGTGGCAGACATACAGAGGCAACTCCACTGGCACCCCTCATGGTCTTCTTTGGCAAT
 GTGGACAGCTCTGGCATCAAGCACACATCTTCAACCCCTCCCATCATTGCCAGATACATCAGGCTG
 CACCCACCCACTACTCAATCAGATCAACCCTCAGGATGGAAGTATGGGATGTGACCTGAACTCC
 TGCTCAATGCCCCCTGGGAATGGAGAGCAAGGCCATTTCTGATGCCAGATCACTGCATCCTCTTAC
 TTCACCAACATGTTTGCCACCTGGTCACCATCAAAAGCCAGGCTGCACCTCCAGGGAAGAAGCAAT
 GCCTGGAGACCCAGGTCAACAACCCAAAGGAATGGCTGCAAGTGGACTTCCAGAAGACAATGAAA
 GTCATGGGGTGACAACCCAGGGGGTCAAGTCTCTGCTCACCTCAATGTATGTGAAGGAGTTCCTG
 ATCTCTTCCTCACAGGATGGCCACCAAGTGGACACTCTTCTTCCAGAATGGCAAAGTCAAGGTGTTT
 CAGGGCAACCAGGACTCTTTACACCTGTGGTGAACCTCACTGGACCCCCCCTCCTGACAAGATAC
 CTGAGAATTACCCCCAGTCTTGGGTCCACCAGATTGCCCTGAGAATGGAAGTCTTGGGATGTGAG
 GCACAAGACCTGTACTGA (SEQ ID NO:13)

Figura 16B

CS08-FL-NA

ATGCAGATCGAACTGAGCACTTGCTTCTTCTGTGTCTCCTGCGCTTTTGCTTCTCCGCCACAAGG
 AGATACTATCTCGGTGCCGTGGAGCTCAGCTGGGACTACATGCAGAGCGACTTGGGTGAACTGCCT
 GTGGACGCCAGGTTTCCACCCCGCGTGCCCAAGAGTTTCCCGTTCAACACCAGTGTCTGTGTACAAG
 AAAACCTCTTCTCGTGGAAATTCACCGACCACCTGTTCAACATCGCCAAACCGCGCCCTCCCTGGATG
 GGGCTGCTCGGCCCGACGATCCAGGCTGAGGTCTATGACACGGTGGTGATTACCCTCAAGAACATG
 GCTAGCCACCCGGTGAGCCTGCACGCCGTGGGCGTGTCTATTGGAAAGCGTCCGAGGGTGCGGAG
 TACGATGACCAGACTTCACAGCGGGAGAAGGAAGACGACAAAGTGTTCCTCCGGGGGTTCACACACC
 TATGTCTGGCAGGTCTGAAGGAGAATGGTCTATGGCCTCCGACCCATTGTGCCTCACCTACTCT
 TACCTAAGCCATGTGGATCTCGTCAAGGACCTGAACTCGGGGCTGATCGGCGCCCTGCTCGTGTGC
 CGGGAGGGCTCACTGGCCAAGGAGAAGACCCAAACTCTGCACAAGTTTATCTGCTGTTTCGCGGTA
 TTCGACGAGGGGAAGTCTGGCACTCCGAGACCAAGAACAGCCTGATGCAGGACCGCGACGCAGCC
 TCGGCCCGTGCCTGGCCAAAGATGCACACCGTGAACGGCTACGTTAACAGGAGCCTACCCGGCCTG
 ATCGGCTGCCACCGCAAATCGGTCTACTGGCATGTGATCGGAATGGGCACAACGCCCGAGGTCCAC
 AGTATCTTCTCGAGGGCCACACTTCTGCTGGTCCGGAATCACCGCCAGGCCAGCCTGGAGATCAGC
 CCCATAACCTTTCTGACGGCGCAGACCTTACTCATGGATCTCGGCCAGTTCTCTCTGTCTGCCAC
 ATTTCTGTCACCAGCAGCATGGGATGGAAGCATATGTGAAAGTGGACTCCTGCCCCGAGGAACCC
 CAGCTTAGGATGAAGAACAATGAGGAGGCCGAGGACTACGACGATGACCTTACCGATTTCAGAAATG
 GACGTAGTACGCTTTGACGACGACAACCTCTCCATCCTTCATACAGATTCTGCTCCGTTCGCCAAGAAG
 CACCTAAGACTTGGGTGCACTACATCGCGGCCGAGGAGGAGGACTGGGATTATGCTCCCCTGGTG
 CTGGCCCCCGACGACCGCAGCTACAAGAGCCAGTACCTGAATAACGGGGCCCCAGCGCATCGGGCCG
 AAGTACAAGAAAGTGCGGTTTCATGGCTTACACGGACGAGACCTTCAAGACCCGGGAGGCTATCCAG
 CATGAGAGCGGCATCTTGGGGCCCCCTCCTGTACGGCGAAGTTGGAGACACACTGCTGATCATCTTC
 AAGAACCAGGCGAGCAGGCCCTACAACATCTACCCCCACGGCATTACCGATGTCCGGCCGTTGTAC
 AGCCGACGGCTGCCAAGGGCGTGAAGCACCTGAAGGACTTTCGGATCCTGCCGGGCGAGATCTTC
 AAGTACAAGTGGACTGTGACCGTGGAGGATGGGCCGACCAAGAGCGATCCGCGCTGCCTGACCCGT
 TACTACTCCAGCTTTGTCAATATGGAGCGCGACCTCGCTAGCGGCTTGATTGGCCCTCTGCTGATC
 TGCTACAAGGAGTCCGTGGACCAGAGGGGGAATCAGATCATGAGTGACAAGAGGAACGTGATCCTG
 TTCTCCGTGTTTCGACGAAAACCGCAGCTGGTATCTCACCGAGAATATCCAGCGCTTCTTGCCCAAC
 CCGGCCGGTGTGCAGCTGGAGGACCCCGAGTTTCAGGCCAGCAACATCATGCATTCTATCAACGGA
 TATGTGTTTGATTCCCTGCAGCTCTCAGTGTGTCTGCACGAGGTCGCCTACTGGTATATCCTCAGC
 ATTTGGGGCACAGACCGACTTCTGAGCGTGTCTTCTCCGGGTATACCTTCAAGCACAAGATGGTG
 TACGAGGATACCCTGACCCTGTTCCCTTTAGCGGCGAAACCGTGTATTATGTCTATGGAGAACCCC
 GGGCTCTGGATCCTTGGCTGCCATAACTCCGACTTCCGCAACCGCGGAATGACCGCGCTCCTGAAA
 GTGTCGAGTTGTGACAAGAACACCGCGCACTATTACGAGGACAGTTACGAGGACATCTCTGCGTAC
 CTCCTTAGCAAGAATAACGCCATCGAGCCAAGATCCTTCAGCCAGAACCCCCAGTGCTGAAGAGG
 CATCAGCGGGAGATCACCCGCACGACCTGCAGTCCGATCAGGAGGAGATTGATTACGACGACACG
 ATCAGTGTGGAGATGAAGAAGGAGGACTTCGACATCTACGACGAAGATGAAAACAGTCCCCTCGG
 TCCTTCCAAAAGAAGACCCGGCACTACTTCATCGCCGCTGTGGAACGCCTGTGGGACTATGGAATG

(Continuação)

Figura 17A

TCTTCTAGCCCTCACGTTTTGAGGAACCGCGCCAGTCGGGCAGCGTGCCCCAGTTCAAGAAAGTG
 GTGTTCCAGGAGTTCACCGACGGCTCCTTCACCCAGCCACTTTACCGGGCGAGCTCAATGAACAT
 CTGGGCCTGCTGGGACCCTACATCAGGGCTGAGGTGGAGGACAACATCATGGTGACATTCCGGAAT
 CAGGCCAGCAGACCATAACAGTTTCTACAGTTCACTCATCTCCTACGAGGAGGACCAGCGCCAGGGG
 GCTGAACCCCGTAAGAACTTCGTGAAGCCAAACGAAACAAAGACCTACTTCTGGAAGGTCCAGCAC
 CACATGGCACCTACCAAGGACGAGTTCGATTGCAAGGCCTGGGCCTACTTCTCCGACGTGGACCTG
 GAGAAAGATGTGCACAGCGGCCTGATTGGCCCTCTGCTGGTGTGTACACGAACACACTCAACCCT
 GCACACGGGCGGCAGGTCACTGTGCAGGAATTCGCCCTGTTCTTTACCATCTTTGATGAGACGAAG
 TCCTGGTATTTACCGAAAACATGGAGAGGAAGTCCCGCGCACCCCTGCAACATCCAGATGGAAGAT
 CCGACATTCAAGGAGAACTACCGGTTCCATGCCATCAATGGCTACATCATGGACACCCTGCCTGGC
 CTCGTGATGGCCCAAGACCAGCGTATCCGCTGGTATCTGCTGTGATGGGCTCCAACGAGAACATC
 CATAGTATCCACTTCAGCGGGCATGTCTTCACGGTGAGGAAAAAGGAGGAGTACAAGATGGCACTG
 TACAACCTCTATCCCGGCGTGTTCGAGACCGTGGAGATGCTGCCCTCCAAGGCCGGCATCTGGAGA
 GTGGAATGCCTGATCGGCGAGCACCTCCACGCTGGGATGTCCACGCTGTTCTCTGTTTACAGCAAT
 AAGTGCCAGACCCCTCTGGGCATGGCGAGCGGCCACATCCGCGACTTCCAGATTACAGCCAGCGGC
 CAGTACGGTCAGTGGGCTCCAAAGCTGGCCCGTCTGCACTACTCCGGATCCATCAACGCCTGGTCC
 ACCAAGGAACCGTTCTCCTGGATCAAAGTAGACCTGCTAGCCCCCATGATCATTCACGGCATCAAG
 ACACAAGGCGCCCGACAGAAGTTCTCGAGCCTCTATATCTCCAGTTCATCATCATGTATAGCCTG
 GACGGAAAGAAGTGGCAGACTTACCGCGGAACTCGACAGGGACCCTGATGGTATTCTTCGGTAAC
 GTGGACAGCTCCGGAATCAAGCACAAACATCTTCAACCCACCCATTATCGCCCGCTACATCCGCCTG
 CACCCCACTCACTATAGCATTAGGTCCACCCTGCGAATGGAGCTCATGGGCTGTGACCTGAACAGC
 TGTAGCATGCCCCCTCGGCATGGAGTCTAAGGCGATCTCCGACGCACAGATAACGGCATCATCCTAC
 TTTACCAACATGTTTCGCTACCTGGTCCCCCTCCAAGGCCCGACTCCACCTGCAAGGGAGATCCAAC
 GCCTGGCGGCCACAGGTCAACAATCCAAGGAGTGGCTGCAAGTGGACTTTCAGAAAACATATGAAA
 GTCACCGGAGTGACCACACAGGGAGTGAAGTCTCTGCTGACCAGCATGTACGTGAAGGAGTTCCTC
 ATCTCCAGTTCGCAGGATGGCCACCAGTGGACGTTGTTCTTCCAAAACGGTAAAGTCAAAGTCTTC
 CAAGGGAACCAGGACAGCTTTACACCCGTCGTGAACTCCCTGGACCCCCCGCTTCTCACTAGATAC
 CTCCGCATCCACCCCTCAGAGCTGGGTGCACCAGATTGCCCTGCGCATGGAGGTTCTGGGGTGTGAA
 GCCCAGGACCTGTACTAA (SEQ ID NO:14)

Figura 17B

CS10-FL-NA

ATGCAGATTGAGCTCTCCACCTGCTTCTTTCTCTGCCTTCTTCGCTTCTGCTTTTCTGCCACACGC
 AGGTACTATTTGGGAGCAGTGGAAGTGAAGCTGGGATTACATGCAGAGTGACCTTGGTGAAGTTCCT
 GTGGACGCTCGTTTTCCACCTAGAGTTCCCAAGTCCTTCCCCTTCAACACCTCAGTGGTCTACAAG
 AAAACGCTGTTTGTGGAGTTCACTGACCACCTCTTCAACATTGCCAAACCAAGACCCCCCTGGATG
 GGATTGCTGGGACCCACAATAACAAGCAGAAGTCTACGACACGGTGGTGATTACCCTGAAGAACATG
 GCGTCACACCCTGTTTCACTTCACGCTGTTGGGGTCAGTTATTGGAAAGCCTCAGAGGGTGCGGAA
 TACGATGATCAAACCAGCCAGAGGGGAGAAGGAAGATGACAAGGTCTTCTGCGGGGTAGCCATACC
 TATGTTTGGCAGGTGCTGAAAGAGAATGGGCCTATGGCCTCTGATCCCTTGTGCCTCACATACTCT
 TACCTGAGTCACGTCGACCTGGTGAAAGACCTGAATAGCGGTCTGATTGGTGCAGTCTGTTTGT
 AGAGAGGGGAGTTTGGCCAAGGAGAAAAGTCAAGTCTCCACAAGTTTATCCTCCTGTTTGTCTGTG
 TTCGACGAGGGCAAGTCTTGGCACTCTGAAACAAAGAAGTCCCTGATGCAGGACAGAGATGCTGCA
 TCTGCAAGGGCTTGGCCAAAAATGCACACAGTGAACGGCTATGTGAATCGATCACTGCCAGGACTG
 ATAGGCTGTCATCGCAAGTCAGTGTATTGGCACGTTATCGGGATGGGAACAAGTCCAGAAAGTGCAC
 AGCATCTTCTTGAGGGCCACACTTTCCTGGTTTCGGAATCATAGACAGGCCAGCCTTGAGATCAGC
 CCAATCACCTTTCTGACTGCCCAAACCTTGCTGATGGATCTGGGACAGTTCTCTCCTGTTTGTCTAC
 ATCTCCTCCCACCAACATGACGGGATGGAGGCTTATGTGAAGGTCGATAGCTGTCCGGAGGAACCA
 CAAGTGAAGGATGAAGAACAACGAAGAGGACAGAGGACTATGACGACGATCTGACTGACAGTGAAATG
 GACGTGGTTCGGTTCGACGATGACAATTCTCCTTCATTTATCCAGATCCGTTCCGTGGCCAAGAAG
 CACCCCAAGACTTGGGTTTATTACATCGCTGCTGAGGAGGAGGATTGGGACTACGCGCCCTTGGTG
 TTGGCCCCAGACGATCGCTCATACAAGAGCCAGTACCTTAACAATGGTCCACAAAGGATCGGGCCGG
 AAGTACAAGAAGGTTAGATTTATGGCTTATACCGACGAGACTTTTAAAGTGAAGCAATTCAG
 CATGAAAGTGGCAATTCTTGGACCCCTGCTGTATGGCGAGGTTGGCGACACCCTGCTGATTATCTTT
 AAGAACCAGGCAAGCCGGCCCTACAACATCTACCCGCACGGCATAACCGATGTACGACCCCTGTAC
 AGTCGCAGACTTCTTAAAGGGGTGAAACACCTGAAGGACTTCCCAATTCTGCCCCGGGAGATCTTC
 AAGTATAAATGGACCGTGACGGTTGAGGATGGTCCACAAAGTCCGATCCGAGATGCCTTACCCGA
 TATTATTCCAGCTTCGTGAACATGGAAAGGGACCTGGCCAGCGGGCTGATTGGCCCACTGCTGATT
 TGTTACAAGGAGTCTGTGATCAAAAGAGGAAACCAATAATGAGCGACAAACGTAACGTCATCCTG
 TTCAGCGTCTTTGATGAGAATAGAAGCTGGTACCTCACAGAAAATATTAGCGGTTTCTGCCTAAC
 CCCGACGGCGTCAGCTGGAAGATCCCGAGTTCCAAGCCTCAAACATCATGCATAGCATCAACGGA
 TACGTATTGATAGCCTGCAGCTGTCCGTCTGTCTCCATGAAGTGGCATATTGGTACATCCTGAGT
 ATCGGGGCGCAGACCGACTTCTGAGCGTGTCTTTTCTGGATACACGTTCAAACACAAAATGGTC
 TATGAAGATACCCTGACTCTGTTTCCATTCTCAGGAGAGACAGTCTTTATGAGTATGGAAAATCCT
 GGACTGTGGATCCTGGGCTGTCACAATTCTGATTTTCGGAACAGAGGCATGACAGCCCTGCTTAA
 GTGAGCTCATGCGACAAGAACACCGGTGATTACTACGAAGATAGCTATGAGGACATCAGTGCGTAT
 TTGCTCTCCAAGAACAACGCTATCGAGCCACGGTCTTTCAGTCAGAATCCTCCCGTTCTGAAGCGG
 CATCAGCGCGAAATAACACGCACAACCTTCAGTCAGACCAAGAGGAAATCGACTACGATGATACT
 ATCTCTGTGGAGATGAAGAAGGAGGATTCGACATTTACGACGAGGACGAGAATCAGTCCCCAAGG
 AGCTTTCAGAAGAAAACAAGACACTATTTTATTGCGCGCGTGGAGCGACTGTGGGACTACGGCATG

(Continuação)

Figura 18A

TCTAGCTCTCCGCATGTACTTAGAAATAGGGCACAAAGCGGATCCGTGCCTCAGTTTAAGAAAGTT
 GTCTTTCAGGAGTTTACAGATGGCTCCTTCACCCAGCCCTTGTATCGCGGGGAACCTCAATGAACAC
 CTGGGCCTCCTGGGTCCCTTATATTAGGGCCGAAGTCGAGGACAATATCATGGTGACCTTTAGGAAC
 CAGGCATCTAGACCTTACTCTTTCTACTCCTCCCTGATATCCTATGAGGAGGACCAGCGGCAAGGC
 GCTGAGCCTCGGAAGAACTTTGTGAAGCCAAATGAAACCAAAACATACTTTTGGAAAGTTCAGCAC
 CACATGGCTCCACGAAGGACGAATTTGACTGTAAAGCCTGGGCCTACTTCTCAGATGTAGATCTC
 GAGAAAGACGTGCACTCAGGGCTCATTGGTCCCCTCCTGGTCTGTCATACTAATACCCTCAATCCA
 GCACACGGACGTGAGGTAACCGTCCAGGAATTTGCCCTGTTCTTTACCATTTTCGATGAGACTAAA
 TCCTGGTACTTTACCGAAAACATGGAGAGGAATTCAGAGCCCCATGCAACATCCAGATGGAGGAC
 CCTACCTTCAAAGAGAACTATCGCTTCCATGCCATTAACGGTTACATTATGGATACTCTCCCAGGA
 CTTGTGATGGCACAGGATCAGCGGATAAGATGGTATCTGTTGAGCATGGGCTCCAACGAGAATATT
 CACAGCATCCATTTCTCCGGTCACGTGTTTACAGTGAGAAAGAAAGAGTACAAGATGGCTCTG
 TATAATCTCTATCCAGGCGTATTTCGAAACGGTGGAGATGTTGCCTAGCAAGGCCGGCATTGCGGA
 GTAGAATGCCTTATCGGGGAACATCTGCATGCCGGAATGAGCACGCTCTTCCTGGTGTATAGTAAC
 AAGTGCCAGACTCCGCTGGGCATGGCATCTGGCCATATACGGGACTTTCAGATTACGGCTAGCGGG
 CAGTATGGGCAGTGGGCACCCAAACTTGC GCGACTGCACTATTCAGGCTCTATCAATGCATGGTCC
 ACCAAGGAACCCCTTCTCTTGGATTAAAGGTGGACCTTTTGGCGCCCATGATAATCCATGGGATCAAA
 ACCCAGGGCGCTCGTCAGAAATTCTCATCACTCTACATCTCTCAGTTCATAATAATGTATTCACTG
 GATGGGAAGAAATGGCAGACTTACAGAGGAAACAGCACCGGGACGCTGATGGTGTCTTTGGCAAC
 GTGGACAGCAGCGGCATCAAACACAACATCTTCAATCCTCCATTATTGCCCGTTATATTAGACTG
 CATCCCACTCACTACTCTATACGCAGCACACTTAGGATGGAGCTCATGGGATGCGACCTGAACAGT
 TGTAGTATGCCCTTGGGGATGGAGTCCAAAGCTATAAGCGACGCACAAATTACAGCTAGCTCTTAC
 TTTACGAATATGTTGCGCCACGTGGAGCCCAAGCAAAGCCCGCTGCATTTGCAGGGTCGGAGTAAT
 GCTTGGCGCCACAGGTGAATAACCCTAAGGAATGGTTGCAAGTAGATTTCAGAAAACATGAAG
 GTAACCGGCGTCACTACACAGGGAGTCAAGTCCCTCTTGACCTCTATGTACGTCAAGGAGTTCCTG
 ATTAGCAGCAGTCAGGATGGGCACCAATGGACACTGTTCTTCCAGAATGGGAAAGTTAAAGTATTT
 CAGGGTAACCAGGACTCCTTTACACCTGTGGTGAATAGCCTCGACCCACCCCTGCTGACACGATAC
 CTCCGCATCCACCCCTCAGTCTTGGGTGCATCAAATTGCCCTGCGAATGGAGGTGTTGGGATGCGAA
 GCTCAGGACCTCTACTGA (SEQ ID NO:15)

Figura 18B

CS11-FL-NA

ATGCAGATCGAACTCTCTACTTGCTTCTTCCTGTGCCTTCTGAGGTTCTGCTTCTCTGCCACTCGC
 CGATATTACCTCGGGGCGGTGGAGTTGAGTTGGGACTACATGCAATCAGATCTGGGCGAACTCCCT
 GTGGATGCCCCGATTCCCACCGCGCGTGGCCAAGTCTTTCCCATTTAATACTTCTGTGGTGTACAAG
 AAGACATTGTTTGTGGAGTTTACCGATCACCTGTTCAACATCGCCAAACCGCGGGCCCCCATGGATG
 GGTCTGCTTGGGCCCACCATTCAAGCGGAGGTCTATGATACAGTGGTGATAACGCTTAAGAACATG
 GCGAGCCACCCAGTGTCTCTGCATGCCGTTGGTGTATCATATTGGAAGGCCAGCGAAGGAGCGGAG
 TACGATGACCAGACCTCTCAGAGAGAGAAGGAAGACGATAAGGTTTTCTTGGCGGAAGTCATACA
 TATGTATGGCAGGTCTTGAAAGAGAAATGGGCGGATGGCTTCTGACCCCTTTGTCTTACCTATAGT
 TATCTGAGCCACGTGGACCTGGTCAAGGACCTCAACAGTGGTCTGATTGGGGCTCTGCTTGTGTTGT
 AGAGAGGGTAGCTTGGCTAAGGAGAAAACCCAAACACTCCATAAGTTCATTTTGCTGTTGCGGGTG
 TTCGACGAGGGAAAGAGTTGGCACAGCGAAACAAAGAATTCAGTGATGCAAGACAGGGACGCCGCT
 TCCGCAAGGGCTTGGCCTAAGATGCATACGGTGAATGGGTATGTGAACCGGAGCCTCCCGGGGCTG
 ATCGGGTGCCATCGCAAGTCTGTTTACTGGCACGTCATTGGAATGGGGACAACGCCAGAGGTACAT
 AGTATATTTCTTGAAGGCCACACGTTCTCGTACGGAACACCGACAGGCTTCCCTGGAGATAAGC
 CCCATTACCTTTCTGACCGCTCAGACTCTGCTGATGGACCTTGGCCAGTTTCTCCTGTTCTGCCAT
 ATTAGCAGCCACCAGCACGACGGTATGGAAGCATACGTGAAAGTCGATAGCTGTCTGAGGAGCCT
 CAGCTCAGAATGAAGAACAACGAGGAGGCCGAAGACTATGACGATGACCTTACAGATTCCGAGATG
 GACGTGGTGGCTTTGACGACGATAACAGTCTAGTTTCATTCAAATCAGATCCGTAGCCAAAAAG
 CATCCAAAGACATGGGTGCATTACATTGCAGCCGAAGAGGAGGATTGGGATTATGCGCCCCCTTGTT
 CTGGCTCCAGATGACAGGAGCTATAAGTCCCAGTACTTGAACAACGGGGCCACAGCGAATCGGTAGA
 AAATATAAGAAGGTAAGATTTCATGGCCTACACTGACGAAACATTTAAAACAGGGAAGCTATCCAA
 CACGAATCTGGAATTCTCGGCCCTCTGCTCTACGGTGAGGTGGGGGACACCTTGCTGATCATTTTC
 AAAAATCAGGCATCCAGGCCTTACAACATATAACCCCATGGCATCACCGATGTCCGCCCCGCTGTAT
 TCCAGAAGACTCCCCAAGGGAGTGAAACATCTGAAAGATTTCCCATCCTGCCGGGCGAGATCTTT
 AAATACAAATGGACTGTGACTGTAGAGGACGGGCCTACAAAATCAGACCCACGGTGCCGACAAGG
 TATTACAGTAGCTTCGTCAACATGGAACGCGACCTCGCCAGCGGACTCATTGGCCCACTGTTGATC
 TGTTACAAAGAGTCAGTGGATCAGAGGGGAAATCAGATCATGAGCGATAAGAGAAACGTTATCCTG
 TTTAGTGTCTTCGACGAGAACCGGTCTTGGTACCTTACTGAGAACATCCAGAGGTTCTTGCCGAAT
 CCGGCTGGCGTTCAGCTCGAGGACCCAGAGTTCCAGGCCAGTAATATAATGCACTCAATCAACGGT
 TATGTGTTTCGATAGCCTGCAGCTGAGCGTCTGCCTCCACGAGGTAGCCTATTGGTACATATTGTCC
 ATCGGGGCTCAGACCGATTTTCTGTCCGTGTTCTTTAGCGGGTATACCTTTAAACATAAAATGGTC
 TATGAAGACACCCTGACCCTGTTCCCATTTCTCCGGTGAGACTGTGTTTCATGTCCATGGAGAACCCA
 GGGCTGTGGATCCTGGGGTGTCACAATAGTGACTTTAGGAATCGGGGAATGACGGCACTGCTGAAG
 GTGAGTTCTTGCGATAAAAAATACAGGAGATTACTATGAGGATAGTTACGAGGATATCAGTGCCTAT
 CTGCTTTCAAAAACAACGCAATTGAGCCCCGCTCTTTCTCACAAAACCCCCGGTGCTGAAGCGC
 CACCAGCGCGAAATTACCCGGACAACCTTGCACTCCGACCAGGAGGAAATCGATTATGACGATACT
 ATCAGTGTAGAAATGAAAAAGGAGGATTTTGATATTTACGACGAAGACGAGAACCAGTCTCCGCGA

(Continuação)

Figura 19A

AGTTTTTCAGAAGAAAACGCGACACTACTTTATAGCTGCCGTGGAACGACTCTGGGATTATGGCATG
 TCCTCCAGCCCTCATGTCCTTAGGAATCGAGCGCAGAGTGGCTCTGTGCCTCAGTTCAAAAAGGTT
 GTGTTCCAGGAATTCACCGACGGCTCATTTACCCAGCCGCTGTACAGAGGCGAACTCAACGAACAC
 CTTGGGCTGCTTGGGCCATATATTCGAGCAGAGGTGGAAGATAATATCATGGTAACCTTTAGAAAC
 CAGGCGTCAAGACCCATTTCCTTCTACAGTTCTCTGATCAGCTACGAGGAGGACCAAAGACAGGGA
 GCTGAACCCAGGAAGAACTTTGTGAAACCTAATGAGACCAAGACCTACTTCTGGAAGGTCCAGCAC
 CATATGGCCCCAACTAAAGATGAATTCGATTGCAAGGCCTGGGCTTATTTACAGCGACGTGGATCTC
 GAAAAGGATGTGCACAGCGGGTTGATCGGACCGCTTTTGGTGTGCCACACAAATACCCTCAATCCT
 GCCACGGGGCGGCAGGTCACAGTTCAAGAGTTGCACTCTTCTTTACAATATTTGACGAGACAAAG
 TCATGGTATTTTACAGAGAATATGGAGAGAAATGTGCGCGACCTTGCAACATTCAGATGGAGGAC
 CCCACATTTAAGGAGAATTACAGATTTTCATGCTATCAATGGGTACATTATGGATACTCTGCCTGGT
 CTGGTCATGGCCCAGGATCAGCGCATAAGGTGGTACTTGCTGAGCATGGGATCTAATGAGAATATA
 CACAGCATTCACCTCAGTGGCCACGTTTTTACTGTTAGAAAGAAGGAGGAGTACAAAATGGCGCTC
 TACAACCTTTACCCGGGTGTGTTTGAGACAGTGGAGATGCTGCCAAGCAAGGCAGGCATCTGGAGG
 GTTGAGTGTCTTATTGGGGAGCATCTGCATGCTGGAATGTCCACCCTCTTTCTTGTGTACAGCAAT
 AAGTGCCAGACACCGCTTGGCATGGCCAGCGGCCACATTAGGGACTTTTACAGATAACTGCCAGTGGA
 CAGTACGGCCAGTGGGCTCCCAAGCTTGCAAGACTCCACTACTCCGGAAGCATAAACGCATGGAGC
 ACCAAGGAACCCCTTCTCTTGGATTAAGGTGGACCTGCTGGCGCCAATGATCATTACCGGCATAAAA
 ACCCAAGGGGCACGACAGAAATTTTCATCTTTGTATATTAGTCAGTTTATCATCATGTACAGCTTG
 GATGGAAAGAAGTGGCAGACGTACAGGGGCAATTCTACAGGAACACTTATGGTGTTTTTTGGGAAT
 GTCGATTCCAGCGGGATCAAACATAACATCTTCAATCCTCCTATTATCGCCCGATATATCCGCCTG
 CACCCTACGCATTACTCCATCAGGTCCACATTGAGAATGGAAGTATGGGGTGCGACCTGAATAGT
 TGTAGTATGCCACTGGGCATGGAGTCTAAAGCCATCAGCGATGCACAGATCACTGCCAGCTCTTAC
 TTCACCAACATGTTTGCAACTTGGTCCCCCTCTAAAGCTCGCCTGCATCTGCAGGGACGCTCAAAT
 GCATGGCGACCACAGGTGAACAATCCAAAAGAGTGGCTCCAGGTGCACTTTTACAGAAGACAATGAAG
 GTAACAGGAGTGACAACCCAGGGTGTAAGAAAGCCCTCCTTACGAGTATGTACGTTAAGGAGTTTCTG
 ATTTCTAGCTCCCAGGACGGACACCAGTGGACTCTGTTCTTCCAGAACGGCAAAGTGAAGGTATTT
 CAGGGAAACCAGGATTCTTTTACCCCGGTAGTGAATAGCCTGGATCCACCGTTGCTGACCCGCTAT
 CTGAGAATTTCATCCACAATCCTGGGTGCATCAGATTGCCCTCCGGATGGAAGTGTCTCGGCTGTGAA
 GCTCAGGATCTGTATTAG (SEQ ID NO:16)

Figura 19B

CS40-FL-NA

ATGCAAATAGAGCTCTCCACCTGCTTCTTTCTGTGCCTTTTGGCGATTCTGCTTTAGTGCCACCAGA
 AGATACTACCTGGGTGCAGTGGAAGTGTGATGGGACTATATGCAAAGTGATCTCGGTGAGCTGCCT
 GTGGACGCAAGATTTCTCTAGAGTGCCAAAATCTTTTCCATTCAACACCTCAGTCGTGTACAAA
 AAGACTCTGTTTGTAGAATTACGGGATCACCTTTTCAACATCGCTAAGCCAAGGCCACCCTGGATG
 GGTCTGCTAGGTCTACCATCCAGGCTGAGGTTTATGATACAGTGGTCATTACACTTAAGAACATG
 GCTTCCCATCCTGTGAGTCTTCATGCTGTTGGTGTATCCTACTGGAAAGCTTCTGAGGGAGCTGAA
 TATGATGATCAGACCAGTCAAAGGGAGAAAGAAGATGATAAAGTCTTCCCTGGTGGAAAGCCATACA
 TATGCTGCGCAGGTCTGAAAGAGAATGGTCCAATGGCCTCTGACCCACTGTGCCTTACCTACTCA
 TATCTTTCTCATGTGGACCTGGTAAAAGACTTGAATTCAGGCCTCATTGGAGCCCTACTAGTATGT
 AGAGAAGGGAGTCTGGCCAAGGAAAAGACACAGACCTTGACAAAATTTATACTACTTTTGTCTGTA
 TTTGATGAAGGGAAAAGTTGGCACTCAGAAACAAAGAAGTCTTGTATGCAGGATAGGGATGCTGCA
 TCTGCTCGGGCCTGGCCTAAAATGCACACAGTCAATGGTTATGTAAACAGGTCTCTGCCAGGTCTG
 ATTGGATGCCACAGGAAATCAGTCTATTGGCATGTGATTGGAATGGGCACCACTCCTGAAGTGCAC
 TCAATATTCTCGAAGGTACACATTTCTTGTGAGGAACCATCGCCAGGCGTCTTGGAAATCTCG
 CCAATAACTTTCTTACTGCTCAAACACTCTTGATGGACCTTGGACAGTTTCTACTGTTTGTGTCAT
 ATCTCTTCCCACCAACATGATGGCATGGAAGCTTATGTCAAAGTAGACAGCTGTCCAGAGGAACCC
 CAACTACGAATGAAAAATAATGAAGAAGCGGAAGACTATGATGATGATCTTACTGATTCTGAAATG
 GATGTGGTCAGGTTTGTATGATGACAACTCTCCTTCTTATCCAAATTCGCTCAGTTGCCAAGAAG
 CATCTAAAACCTTGGGTACATTACATTGCTGCTGAAGAGGAGGACTGGGACTATGCTCCCTTAGTC
 CTCGCCCCCGATGACAGAAGTTATAAAAGTCAATATTTGAACAATGGCCCTCAGCGGATTGGTAGG
 AAGTACAAAAAAGTCCGATTTATGGCATAACACAGATGAAACCTTTAAGACTCGTGAAGCTATTTCAG
 CATGAATCAGGAATCTTGGGACCTTTACTTTATGGGGAAGTTGGAGACACACTGTTGATTATATTT
 AAGAATCAAGCAAGCAGACCATATAACATCTACCCTCACGGAATCACTGATGTCCGTCTTTGTAT
 TCAAGGAGATTACCAAAAGGTGTAAAACATTTGAAGGATTTTCCAATTCTGCCAGGAGAAATATTC
 AAATATAAATGGACAGTGACTGTAGAAGATGGGCCAACTAAATCAGATCCTCGGTGCCTGACCCGC
 TATTACTCTAGTTTCGTTAATATGGAGAGAGATCTAGCTTCAGGACTCATTGGCCCTCTCCTCATC
 TGCTACAAAGAATCTGTAGATCAAAGAGGAAACCAGATAATGTCAGACAAGAGGAATGTCATCCTG
 TTTTCTGTATTTGATGAGAACCGAAGCTGGTACCTCACAGAGAATATACAACGCTTTCTCCCCAAT
 CCAGCTGGAGTGCAGCTTGAGGATCCAGAGTTCCAAGCCTCCAACATCATGCACAGCATCAATGGC
 TATGTTTTTGTATAGTTTGCAGTTGTCAGTTTGTGTCATGAGGTGGCATACTGGTACATTCTAAGC
 ATTGGAGCACAGACTGACTTCTTTCTGTCTTCTTCTCTGGATATACCTTCAAACACAAAATGGTC
 TATGAAGACACACTCACCTTATTTCCATTTCTCAGGAGAAACTGTCTTCATGTGATGGAAAACCCA
 GGTCTATGGATTCTGGGGTGCCCAACTCAGACTTTTGGAAACAGAGGCATGACCGCCTTACTGAAG
 GTTCTAGTTGTGACAAGAACACTGGTGATTATTACGAGGACAGTTATGAAGATATTTACGCATAC
 TTGCTGAGTAAAAACAATGCCATTGAACCAAGAAGCTTCTCCAGAATCCACCAGTCTTGAAACGC
 CATCAACGGGAAATAACTCGTACTACTCTTCAGTCAGATCAAGAGGAAATTGACTATGATGATACC
 ATATCAGTTGAAATGAAGAAGGAAGATTTTGACATTTATGATGAGGATGAAAATCAGAGCCCCCGC
 AGCTTTCAAAAGAAAACACGACACTATTTTATTGCTGCAGTGGAGAGGCTCTGGGATTATGGGATG

(Continuação)

Figura 20A

AGTAGCTCCCCACATGTTCTAAGAAACAGGGCTCAGAGTGGCAGTGTCCCTCAGTTCAAGAAAGTT
 GTTTTCCAGGAATTTACTGATGGCTCCTTTACTCAGCCCTTATACCGTGGAGAACTAAATGAACAT
 TTGGGACTCCTGGGGCCATATATAAGAGCAGAAGTTGAAGATAATATCATGGTAACTTTCAGAAAT
 CAGGCCCTCTCGTCCCTATTCTTCTATTCTAGCCTTATTTCTTATGAGGAAGATCAGAGGCAAGGA
 GCAGAACCTAGAAAAAACTTTGTCAAGCCTAATGAAACCAAACTTACTTTTGGAAAGTGCAACAT
 CATATGGCACCCTACTAAAGATGAGTTTGACTGCAAAGCCTGGGCTTATTTCTCTGATGTTGACCTG
 GAAAAAGATGTGCACTCAGGCCTGATTGGACCCCTTCTGGTCTGCCACACTAACACACTGAACCCT
 GCTCATGGGAGACAAGTGACAGTACAGGAATTTGCTCTGTTTTTACCATCTTTGATGAGACCAA
 AGCTGGTACTTCACTGAAAATATGGAAAGAACTGCAGGGCTCCCTGCAATATCCAGATGGAAGAT
 CCCACTTTTAAAGAGAATTATCGCTTCCATGCAATCAATGGCTACATAATGGATACACTACCTGGC
 TTAGTAATGGCTCAGGATCAAAGGATTCGATGGTATCTGCTCAGCATGGGCAGCAATGAAAACATC
 CATTCATTTCATTTCACTGGACATGTGTTCACTGTACGAAAAAAGAGGAGTATAAAATGGCACTG
 TACAACTCTATCCAGGTGTTTTTGAGACAGTGGAAATGTTACCATCCAAAGCTGGAATTTGGCGG
 GTGGAATGCCTTATTGGCGAGCATCTACATGCTGGGATGAGCACACTTTTTCTGGTGTACAGCAAT
 AAGTGTGCACTCCCCTGGGAATGGCTTCTGGACACATTAGAGATTTTCAGATTACAGCTTCAGGA
 CAATATGGACAGTGGGCCCCAAAGCTGGCCAGACTTCATTATTCCGGATCAATCAATGCCTGGAGC
 ACCAAGGAGCCCTTTTCTTGATCAAGGTGGATCTGTTGGCACCAATGATTATTCACGGCATCAAG
 ACCCAGGGTGCCCGTCAGAAGTTCTCCAGCCTCTACATCTCTCAGTTTATCATCATGTATAGTCTT
 GATGGGAAGAAGTGGCAGACTTATCGAGGAAATCCACTGGAACCTTAATGGTCTTCTTTGGCAAT
 GTGGATTTCATCTGGGATAAAACACAATATTTTTAACCCCTCCAATTATTGCTCGATACATCCGTTTG
 CACCCAACCTATTATAGCATTCGCAGCACTCTTCGCATGGAGTTGATGGGCTGTGATTTAAATAGT
 TGCAGCATGCCATTGGGAATGGAGAGTAAAGCAATATCAGATGCACAGATTACTGCTTCATCCTAC
 TTTACCAATATGTTTGCCACCTGGTCTCCTTCAAAGCTCGACTTCACCTCCAAGGGAGGAGTAAT
 GCCTGGAGACCTCAGGTGAATAATCCAAAAGAGTGGCTGCAAGTGGACTTCCAGAAGACAATGAAA
 GTCACAGGAGTAACCTACTCAGGGAGTAAAATCTCTGCTTACCAGCATGTATGTGAAGGAGTTCCTC
 ATCTCCAGCAGTCAAGATGGCCATCAGTGGACTCTCTTTTTTTCAGAATGGCAAAGTAAAGGTTTTT
 CAGGGAAATCAAGACTCCTTCACACCTGTGGTGAACCTCTCTAGACCCACCGTTACTGACTCGCTAC
 CTTTGAATTCACCCCCAGAGTTGGGTGCACCAGATTGCCCTGAGGATGGAGGTTCTGGGCTGCGAG
 GCACAGGACCTCTACTGA (SEQ ID NO:17)

Figura 20B

CH25-FL-NA

ATGCAGATCGAGCTGTCCACATGCTTTTTTCTGTGCCTGCTGCGGTTCTGCTTCAGCGCCACCCGG
 CGGTACTACCTGGGCGCCGTGGAGCTGTCTGGGACTACATGCAGAGCGACCTGGGCGAGCTGCCC
 GTGGACGCCCCGGTTCCCCCCCAGAGTGGCCAAGAGCTTCCCCTTCAACACCAGCGTGGTGTACAAG
 AAAACCCCTGTTTCGTGGAGTTCACCGACCACCTGTTCAACATCGCCAAGCCCAGGCCCCCTGGATG
 GGCCTGCTGGGCCCCACCATCCAGGCCGAGGTGTACGACACCGTGGTGTATCACCCTGAAGAACATG
 GCCAGCCACCCCGTGGCCTGCACGCCGTGGGCGTGGAGTACTGGAAGGCCTCCGAGGGCGCCGAG
 TACGACGACCAGACCAGCCAGCGGGAGAAAGAGGACGACAAAGTCTTCTGCGGCGAGCCACACC
 TACGTGTGGCAGGTCTGAAAGAAAACGGCCCCATGGCCTCCGACCCCCCTGTGCCTGACCTACAGC
 TACCTGAGCCACGTGGACCTGGTGAAGGACCTGAACAGCGGGCTGATTGGGGCCCTGCTGGTCTGC
 CGGGAGGGCAGCCTGGCCAAAGAGAAAACCCAGACCCTGCACAAGTTCATCCTGCTGTTTCGCCGTG
 TTCGACGAGGGCAAGAGCTGGCACAGCGAGACCAAGAACAGCCTGATGCAGGACCGGGACGCCGCC
 TCTGCCAGAGCCTGGCCCAAGATGCACACCGTGAACGGCTACGTGAACAGAAGCCTGCCCGGCCGTG
 ATTGGCTGCCACCGGAAGAGCGTGTACTGGCACGTGATCGGCATGGGCACACACCCGAGGTGCAC
 AGCATCTTTCTGGAAGGGCACACCTTTCTGGTGCAGAACCCGGCAGGCCAGCCTGGAAATCAGC
 CCTATCACCTTCTGACCGCCCAGACACTGCTGATGGACCTGGGCCAGTTCTCTGCTGTTTTGCCAC
 ATCAGCTCTCACCAGCAGCAGCGCATGGAAGCCTACGTGAAGGTGGACTCCTGCCCCGAGGAACCC
 CAGCTGCGGATGAAGAACAACGAGGAAGCCGAGGACTACGACGACGACCTGACCGACAGCGAGATG
 GACGTGGTGCAGTTCGACGACGACAACAGCCCCAGCTTCATCCAGATCAGAAGCGTGGCCAAGAAG
 CACCCCAAGACCTGGGTGCACTACATCGCCGCCGAGGAAGAGGACTGGGACTACGCCCCCTGGTG
 CTGGCCCCCGACGACAGAAGCTACAAGAGCCAGTACCTGAACAATGGCCCCCAGCGGATCGGGCCGG
 AAGTACAAGAAAGTGCGGTTTCATGGCCTACACCGACGAGACCTTCAAGACCCGGGAGGCCATCCAG
 CACGAGAGCGGCATCCTGGGCCCCCTGCTGTACGGCGAAGTGGGCGACACACTGCTGATCATCTTC
 AAGAACCAGGCCAGCCGGCCCTACAACATCTACCCCCACGGCATCACCGACGTGCGGCCCTGTAC
 AGCAGGCGGCTGCCCAAGGGCGTGAAGCACCTGAAGGACTTCCCCATCCTGCCCCGGCGAGATCTTC
 AAGTACAAGTGGACCGTGACCGTGGAGGACGGCCCCACCAAGAGCGACCCAGATGCCTGACCCGG
 TACTACAGCAGCTTCGTGAACATGGAACGGGACCTGGCCTCCGGGCTGATCGGACCTCTGCTGATC
 TGCTACAAAGAAAGCGTGGACCAGCGGGGCAACCAGATCATGAGCGACAAGCGGAACGTGATCCTG
 TTCAGCGTGTTCGATGAGAACCGGTCCTGGTATCTGACCGAGAACATCCAGCGGTTTCTGCCCAAC
 CCTGCCGGGGTGCAGCTGGAAGATCCCGAGTTCCAGGCCAGCAACATCATGCACTCCATCAATGGC
 TACGTGTTTCGACAGCCTGCAGCTGTCCGTGTGTCTGCACGAGGTGGCCTACTGGTACATCCTGAGC
 ATCGGCGCCCAGACCGACTTCTGAGCGTGTCTTTCAGCGGCTACACCTTCAAGCACAAGATGGTG
 TACGAGGACACCCTGACCCTGTTCCCTTTTCAGCGGCGAGACCGTGTTCATGAGCATGGAAAACCCC
 GGCCTGTGGATCCTGGGCTGCCACAACAGCGACTTCCGGAACCGGGCATGACCGCCCTGCTGAAG
 GTGTCCAGCTGCGACAAGAACACCGGCGACTACTACGAGGACAGCTACGAGGATATCAGCGCCTAC
 CTGCTGTCCAAGAACAACGCCATCGAGCCCAGAAGCTTCAGCCAGAACCCCCCTGTGCTGAAGCGG
 CACCAGAGAGAGATCACCCGGACCACCTGTCAGTCCGACCAGGAAGAGATCGATTACGACGACACC

(Continuação)

Figura 21A

ATCAGCGTGGAGATGAAAAAAGAAGATTTTCGACATCTACGACGAGGACGAGAACCAGAGCCCCCGG
 TCCTTCCAGAAGAAAACCCGGCACTACTTTATCGCCGCGGTGGAGCGGCTGTGGGACTACGGCATG
 AGCAGCAGCCCCACGTGCTGCGGAACCGGGCCAGAGCGGCAGCGTGCCCCAGTTCAAGAAAGTG
 GTGTTCCAGGAATTACCGACGGCAGCTTCACCCAGCCCCGTGTACCGGGGCGAGCTGAACGAGCAC
 CTGGGGCTGCTGGGGCCCTACATCAGGGCCGAAGTGGAGGACAACATCATGGTGACCTTCCGGAAT
 CAGGCCAGCAGACCCTACTCCTTCTACAGCAGCCTGATCAGCTACGAAGAGGACCAGCGGCAGGGC
 GCTGAACCCCGGAAGAAGTTCGTGAAGCCCAATGAGACCAAGACCTACTTCTGGAAAGTGCAGCAC
 CACATGGCCCCCACCAGGACGAGTTCGACTGCAAGGCCTGGGCCTACTTCAGCGACGTGGATCTG
 GAAAAGGACGTGCACTCTGGACTGATTGGCCCTCTGCTGGTGTGCCACACCAACACCCTGAACCC
 GCCCAGGCCGGCAGGTGACCGTGAGGAATTGCCCCCTGTTCTTACCATCTTCGACGAGACCAAG
 TCCTGGTACTTCACCGAGAATATGGAACGGAAGTGCAGAGCCCCCTGCAACATCCAGATGGAAGAT
 CCTACCTTCAAAGAGAACTACCGGTTCCACGCCATCAACGGCTACATCATGGACACCCTGCCTGGC
 CTGGTGATGGCCAGGACCAGAGGATCCGGTGGTATCTGCTGTCCATGGGCAGCAACGAGAATATC
 CACAGCATCCACTTCAGCGGCCACGTGTTACCGTGAGGAAGAAAGAAGAGTACAAGATGGCCCTG
 TACAACCTGTACCCCGGCGTGTTCGAGACCGTGAGATGCTGCCCAGCAAGGCCGGCATCTGGCGG
 GTGGAGTGTCTGATCGGCGAGCACCTGCATGCCGGGATGAGCACCTGTTTCTGGTGTACAGCAAC
 AAGTGCCAGACCCCCCTGGGCATGGCCAGCGGCCACATCCGGGACTTCCAGATCACCGCCTCCGGC
 CAGTACGGCCAGTGGGCCCCCAAGCTGGCCCGGCTGCACTACAGCGGCAGCATCAACGCCTGGTCC
 ACCAAAGAGCCCTTCAGCTGGATCAAGGTGGACCTGCTGGCCCCCTATGATCATCCACGGCATTAA
 ACCCAGGGCGCCAGGCAGAAGTTCAGCAGCCTGTACATCAGCCAGTTCATCATCATGTACAGCCTG
 GACGGCAAGAAGTGGCAGACCTACCGGGGCAACAGCACCGGCACCCCTGATGGTGTCTTCGGCAAC
 GTGGACAGCAGCGGCATCAAGCACAAACATCTTCAACCCCCCATCATCGCCCGGTACATCCGGCTG
 CACCCACCCACTACAGCATCAGATCCACCCTGCGGATGGAAGTGTGGGCTGCGACCTGAACTCC
 TGCAGCATGCCTCTGGGCATGGAAAGCAAGGCCATCAGCGACGCCCAGATCACAGCCAGCAGCTAC
 TTCACCAACATGTTGCGCACCTGGTCCCCCTCCAAGGCCAGGCTGCACCTGCAGGGCCGGTCCAAC
 GCCTGGCGGCCTCAGGTGAACAACCCCAAAGAATGGCTGCAGGTGGACTTTTCAAAAACCATGAAG
 GTGACCGGCGTGACCACCCAGGGCGTGAAAAGCCTGCTGACCAGCATGTACGTGAAAGAGTTTCTG
 ATCAGCAGCAGCCAGGACGGCCACCAGTGACCCCTGTTCTTTCAGAACGGCAAGGTGAAAGTGTTC
 CAGGGCAACCAGGACTCCTTCACCCCCGTGGTGAAGTCCCTGGACCCCCCCTGCTGACCCGCTAC
 CTGCGGATCCACCCCAAGTCTTGGGTGCACCAGATCGCCCTGAGGATGGAAGTGTGGGATGTGAG
 GCCCAGGATCTGTACTGA (SEQ ID NO:18)

Figura 21B

FVIII-FL-AA

```

mqielstcfff lc1lrfcfsa trryylgave lswdymqsdl gelpvdarfp prvpksfpfn
tsvvykktlf veftdhlfnl akprppwmgf lgptigaevy dtvvitlknm ashpvslhav
gvsywkaseg aeyddqtsqr ekeddkvfpg gshtyvwqvl kengpmasdp lcltysylsh
vdlvkdlnsg ligallvcre gslakektgt lkhfillfav fdegkswhse tknslmqdrd
aasarawpkm htvngyvnrsl pgligchrk svywhvigmg ttpevhsifl egthflvrnh
rgasleispi tfltaqtllm dlqgflfchfch isshqhdgme aykvvdscpe epqlrmknne
eaedydddlf dsemdvvrfd ddnspsfiqi rsvakkhpkf wvhyiaaeed dwdyaplvlv
pddrsyksqy lnngpqrigr kykkvrfmay tdetfktrea iqhesgilgp llygevgdtl
liifknqasr pyniypggit dvrplysrll pkgvkhkdf pilpgeifky kwtvtvedgp
tksdprcltr yyssfvnmer dlasgligpl licykesvdq rgnqimsdkr nvilfsvfde
nrswylteni qrfllpnagv qledpefqas nimhsingyv fdslqlsvcl hevaywyils
igaqtdflsv ffsgytfkhk mvyedtltlf pfsgetvfms menpglwilg chnsdfrnrg
mtallkvssc dkntgdyved syedisayll sknnaieprs fsqnsrhpst rqqkfnatti
pendiektdp wfahrtmpmk iqnvsssdll mllrqsptph glslsdlqea kyetfsddps
pgaidsnnsf semthfrpql hhsqdmvftp esglqlrlne klgttaatel kklfdkvsst
snnlistips dnlaagtdnt sslgppsmvp hydsgldtll fgkksplte sggplslsee
nndskllesg lmsqesswg knvsstesgr lfkqkrahgp alltkdnalf kvsislktn
ktsnnsatnr kthidgpsll ienspsvwqn ilesdtefkk vtplihdrml mdknatalrl
nhmsnktts kmemvqqkk egpipdaqn pdmsffkmlf lpesarwiqr thgknslnsg
qgppskqlvs lgpeksvegq nflsekknkv vqkgeftkdv glkemvfpss rnlfltnldn
lhenntnqe kkiqeeiekk etliqenvvl pqihtvtgtk nfmknlflls trqnvegsyd
gayapvlqdf rslndstnrt kkhtahfskk geeenleglg nqtkgiveky acttrispnt
sqqnfvtrrs kralkqfrlp leetelekri ivddtstqws knmkhltpst ltqidyneke
kgaitqspls dcltrshsip qanrsplpia kvssfpsirp iyltrvlfdq nsshlpaasy
rkkdsgvqes shflqgakkn nlsailtle mtgdqrevgs lgtsatnsvt ykkventvlp
kpdlpktsgk vellpkvhiy qkdflptets ngspghldlv egslqgteg aikwneanrp
gkvpflrvat essaktpskl ldplawdnhy gtqipkeewk sqekspekta fkkkdtlsl
nacesnhaia ainegqnkpe ievtwakqr terlcsgnpp vlkrhqreit rttlqsdqee
idyddtisve mkkedfdiyd edenqsprsf qkkrthyfia averlwdygm sssphvlrnr
aqsgsvpqfk kvvfqeftdg sftqplyrge lnehlgllgp yiraevedni mvtfrnqasr
pysfysslis yeedqrqgae prknfvkpne tktyfwkvqh hmaptkdefd ckawayfsdv
dlekdvhsgl igpllvchn tlnpahgrqv tvqefalfft ifdetkswyf tenmerncra
pcniqmedpt fkenyrfhai ngyimdtlpg lvmaqddrir wyllsmgsne nihsihfsg
vftvrkkeey kmalynlypg vfetvemlps kagiwrvecl igehlhagms tflflvysnkc
qtplgmasgh irdfqitasg qygqwapkla rlhysgsina wstkepfswi kvdlapmii
hgiktqgarq kfsslyisqf iimysldgkk wqtyrgnstg tlmvffgnvd ssgikhnifn
ppiiaryirl hpthysirst lrmelmgcdl nscsmplgme skaisdaqit assyftnmfa
twspskarlh lqgrsnawrp qvnnpkewlq vdfqktmkvt gvtqgkksl ltsmyvkefl
issqdghqgw tlffqngkvk vfqgnqdsft pvvnslppl ltrylrihpq swvhqialrm
evlgceaql y (SEQ ID NO:19)

```

Figura 22

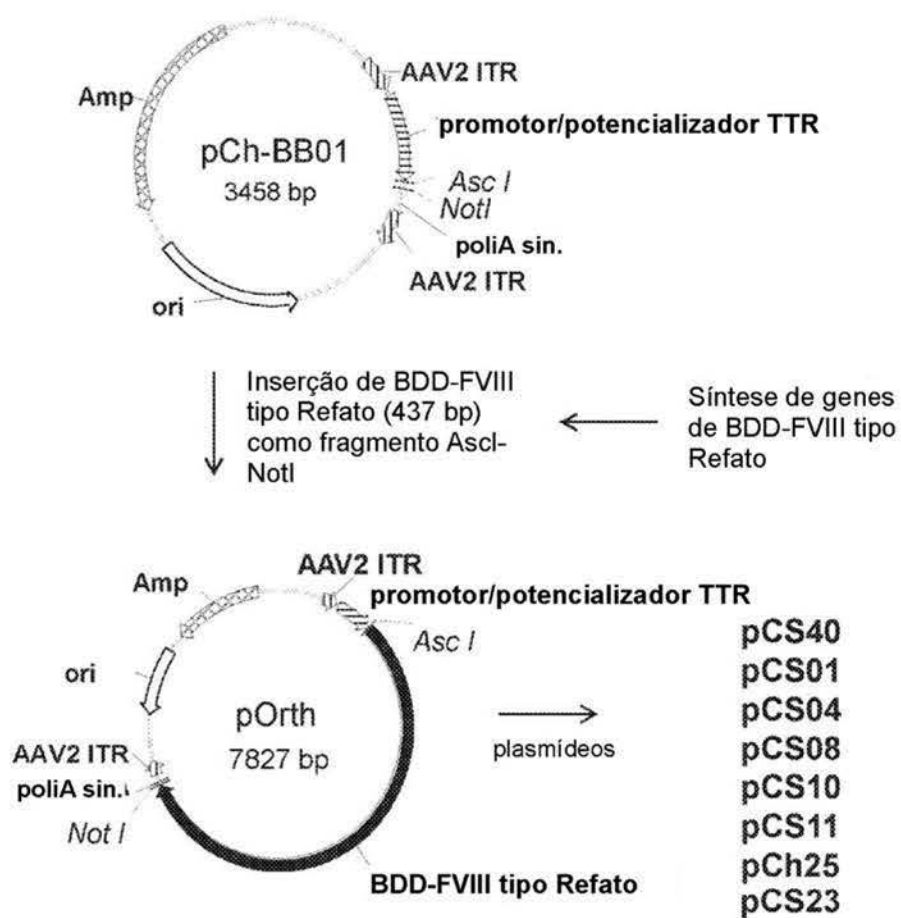
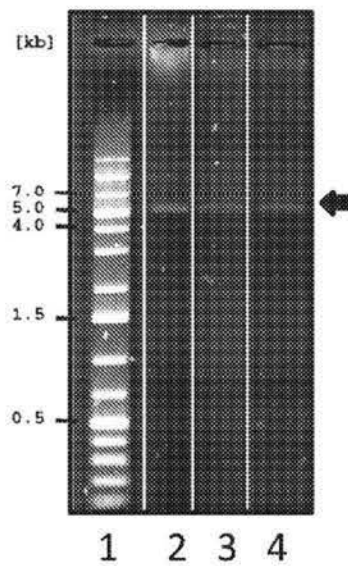
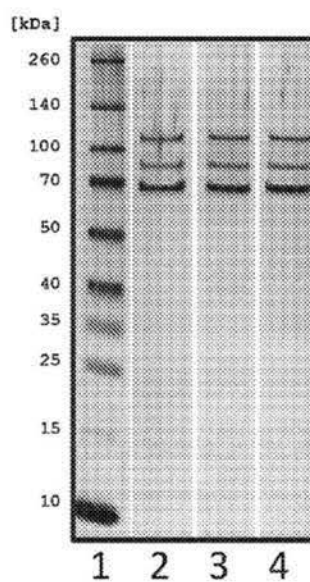


Figura 23

**Figura 24****Figura 25**

CS23-FL-NA

atgcagattgagctgagcacctgcttcttctctgtgctgctgaggttctgcttcttctgccaccagg
 agatactacctggggcgccgtggagctgagctgggactacatgcagctctgacctggggcgagctgctt
 gtggacgccaggttcccccccagagtggccaagagcttcccccttcaacacctcagtggtgtacaag
 aagacctgttctgtggagttcaccgaccacctgttcaacatcgccaagcccaggccccctggatg
 ggctgtgtggggccccaccatccaggccgaggtgtacgacacctggtgatccacctgaagaacatg
 gccagccacccccgtgagcctgcacgacctggggctgagctactggaaggcctctgaggcgccgag
 tatgacgaccagaccagccagaggagaggagagacgacaagggtgttccccggggcgagccacacc
 tacgtgtggcaggtgctgaaggagaaaggccccatggccagcgacccccctgtgctgacctacagc
 tacctgagccacgtggacctggtgaaggacctgaactctggcctgatcgggcgccctgctggtgtgc
 agggagggcagcctggccaaggagaagaccagacctgcacaagttcatcctgctgttccgctgtg
 ttgatgaggggcaagagctggcacagcgagaccaagaacagcctgatgcaggacagggatgccgc
 tctgccagggctggccccagatgcacacctggaacggctacgtgaacaggagcctgccccggcctg
 atcggtgtccacaggaagtctgtgtactggcacgtgatcggcacatgggcaccacccccgaggtgcac
 agcatcttcttggagggccacaccttctggtgaggaaccacagggcaggccagcctggagatcagc
 cccatcaccttcttgcacgcccagacctgctgatggacctggggcagttcctgctgttctgccac
 atcagcagccaccagcagcagcgcatggaggcctacgtgaagggtggacagctgccccgaggagccc
 cagctgaggatgaagaacaacgaggaggccgaggactatgatgatgacctgacagactctgagatg
 gacgtggtgaggtttgatgatgacaacagccccagcttcatccagatcaggtctgtggccaagaag
 caccccaagacctgggtgcactacatcgccgcccaggaggaggactgggactacgccccctggtg
 ctggcccccgacgacaggagctacaagagccagtaacctgaacaacggccccccagaggatcggcagg
 aagtacaagaaggtcagattcatggcctacaccgacgagaccttcaagaccaggaggccatccag
 cacgagtctggcatcctggggccccctgctgtacggcgaggtgggacacacctgctgatcatcttc
 aagaaccaggccagcagggccctacaacatctacccccacggcatcaccgatgtgaggccccctgtac
 agcaggaggtgccccaggggcgtgaagcacctgaaggacttccccatcctgccccggcgagatcttc
 aagtacaagtggaacctgacctggaggatggccccaccaagtctgacccaggtgacctgaccagg
 tactacagcagcttctgtgaacatggagagggacctggcctctggcctgatcgccccctgctgatc
 tgctacaaggagagcgtggaccagaggggcaaccagatcatgtctgacaagaggaacgtgatcctg
 ttctctgtgttcgatgagaacaggagctggtatctgaccgagaacatccagaggttcttgcaccaac
 cccgcccggcgtgcagctggaggacccccaggttccaggccagcaacatcatgcacagcatcaacggc
 tacgtgttcgacagcctgcagctgtctgtgtgctgacagaggtggcctactggtacatcctgagc
 atcgggccccagaccgacttctgtctgtgttcttctctgtgctacaccttcaagcacaagatggtg
 taogaggacacctgacctgttcccccttcagcgggagagacctgttcatgagcatggagaacccc
 ggctgtggtatcctgggctgccacaacagcgacttcaggaacaggggcatgaccgccccctgctgaaa
 gtcagcagctgcgacaagaacacccggcgactactacgaggacagctacgaggacatcagcgccctac
 ctgctgagcaagaacaacgccatcgagcccaggagcttcagccagaacccccctgctgaagagg
 caccagaggagatcaccaggaccacctgacagagcgaccaggaggagatcgactatgatgacacc

(Continuação)

Figura 26A.

atcagcgtggagatgaagaaggaggacttcgacatctacgacgaggacgagaaccagagccccagg
 agcttccagaagaagaccaggcactacttcacgcgcgcgtggagaggctgtgggactatggcatg
 agcagcagccccacgtgctgaggaacagggcccagagcggcagcgtgccccagttcaagaagggtg
 gtgttccaggagttcaccgacggcagcttcacccagccccctgtacagaggcgagctgaacgagcac
 ctggggcctgctggggcccctacatcagggccgaggtggaggacaacatcatggtgaccttcaggaac
 caggccagcagggccctacagcttctacagcagcctgatcagctacgaggaggaccagaggcagggc
 gccgagcccaggaagaacttcgtgaagcccaacgagaccaagacctaacttctggaagggtgcagcac
 cacatggccccaccaaggacgagttcgactgcaaggcctgggcctaacttctctgatgtggacctg
 gagaaggacgtgcacagcggcctgatcggccccctgctgggtgtgccacaccaacacctgaacccc
 gccacggcagggcaggtgacctgacaggagttcgccctgttcttcaccatcttcgacgagaccaag
 agctggtaacttcaccgagaacatggagaggaactgcagggccccctgcaacatccagatggaggac
 cccaccttcaaggagaactacaggttccacgccatcaacggctacatcatggacacctgccccggc
 ctgggtgatggcccaggaccagaggatcaggtggtatctgctgagcatgggcagcaacgagaacatc
 cacagcatccacttcagcggccacgtgttcacccgtgaggaagaaggaggagtacaagatggccctg
 tacaacctgtacccccggcgtgttcgagaccgtggagatgctgccagcaaggccggcatctggagg
 gtggagtgcctgatcggcgagcacctgcacgcggcagatgagcacctgttctctgggtgtacagcaac
 aagtgccagacccccctgggcagtgccagcggccacatcagggacttccagatcacccgctctggc
 cagtacggccagtggggcccccaagctggccaggctgcactacagcggcagcatcaacgcctggagc
 accaaggagcccttcagctggatcaaggtggacctgctggcccccatgatcatccacggcatcaag
 acccagggcgccaggcagaagttcagcagcctgtacatcagccagttcatcatcatgtacagcctg
 gacggcaagaagtggcagacctacaggggcaacagcacccggcacctgatgggtgttcttcggcaac
 gtggacagcagcggcatcaagcacaacatcttcaacccccccatcatcgccagggtacatcaggctg
 caccaccactacagcatcaggagcacctgcccagtggaactgatgggctgcgacctgaacagc
 tgcagcatgccccctgggcagtgagagcaaggccatctctgacgcccagatcacccgccagcagctac
 ttcaccaacatgttcgccacctggagccccagcaaggccaggctgcacctgcagggcaggagcaac
 gcctggaggccccaggtgaacaacccccaggagtggtgcaggtggacttccagaagaccatgaag
 gtgaccggcgtgaccacccaggcggtgaagagcctgctgaccagcatgtacgtgaaggagttcctg
 atcagcagcagccaggacggccaccagtggaccctgttcttccagaacggcgaagtgaagggtgttc
 cagggcaaccaggacagcttcacCcccgtgggtgaacagcctggacccccccctgctgaccaggtat
 ctgaggatccacccccagagctgggtgcaccagatcgccctgagaatggaagtgctgggatgcgag
 gcccaggacctgtactga (SEQ ID NO:20)

Figura 26B

CS23-FL-AA

MQIELSTCFFLCCLLRFCSATTRYYLGAVELSWDYMQSDLGELPVDAR' FPPRVPKSFPFNTSVVYK
 KTLFVEFTDHLFNIAPRPPWMGLLGPTIQAEVYDTVVITLKNMASHPVSLHAVGVSYWKASEGAEY
 DDQTSQREKEDDKVFPGGSHTYVWQVLKENGPMASDPLCLTYSYLSHVLDLVDLNSGLIGALLVCRE
 GSLAKEKTQTLHKFILLFAVFDEGKSWHSETKNLSMQDRDAASARAWPKMHTVNGYVNRSLPGLIGC
 HRKSVYWHVIGMGTTPEVHSIFLEGHTFLVRNHRQASLEISPITFLTAQTLLMDLGQFLLFCHISSH
 QHDGMEAYVKVDSCPEEPQLRMKNNEEAEDYDDDLTDSEMDVVRFDNNSPSFIQIRSVAKKHPKTW
 VHYIAAEEDWDYAPLV LAPDDRSYKSQYLNNGPQRIGRKYKKVRFMAYTDETFKTREAIQHESGIL
 GPLLYGEVGD TLLIIFKNQASRPYNIYPHGITDVRPLYSRRLPKG VKHLKDFPILPGEIFKYKWTVT
 VEDGPTKSDPRCLTRYYSFVNMERDLASGLIGPLLCYKESVDQRGNQIMSDKRN VILFSVFDENR
 SWYLTENIQRF LNPAGVQLEDPEFQASNIMHSINGYVFD SLQLSVCLHEVAYWYILSIGAQTDFLS
 VFFSGYTFKHKMVYEDTTLTLPFSGETVFM MENPGLWILGCHNSDFRNRGMTALLKVSSCDKNTGD
 YYEDSYEDISAYLLSKNNAIEPRSFQNPV LKRHQREITRTTLQSDQEEIDYDDTISVEMKKEDFD
 IYDEDENQSPRSFQKTRHYFIAAVERLWDYGMSSSPHVLNRNAQSGSV PQFKKVVFQEFTDGSFTQ
 PLYRGELNEHLGLLGPYIRAEVEDNIMVTFRNQASRPYSFYSSLISYEEDQRQGAEPKRFVKNET
 KTYFWKVQHMAPTKDEFDCKAWAYFSDVDLEKDVHSGLIGPLLVCHTNTLNPAHGRQVTVQEFALF
 FTIFDET KSWYFTENMERNCRAPCNIQMEDPTFKENYRFHAINGYIMDTLPGLVMAQDQIRRWYLLS
 MGSNENIHSIHFSGHVFTVRKKEEYKMALYNLYPGVFETVEMLP SKAGIWRVECLIGEHLHAGMSTL
 FLVYSNKCQTPLGMASGHIRDFQITASGQYQWAPKLARLHYSGSINAWSTKEPFSWIKVDLLAPMI
 IHGIKTQGARQKFSSLYISQFIIMYSLDGKKWQTYRGNSTGTLMVFFGNVDSSGIKHNIENPPIIAR
 YIRLHPTHYSIRSTLRMELMGCDLNSCSMPLGMESKAISDAQITASSYFTNM FATWSPSKARLHLQG
 RSNAWRPQVNNPKEWLQVDFQKTMKVTGVTTQGVKSLLTSMYVKEFLISSSQDGHQWTLFFQNGKVK
 VFQGNQDSFTPVVNSLDPPLLTRYLRTHPQSWVHQIALRMEVLGCEAQDLY (SEQ ID NO:21)

Figura 27

CS23-HC-NA

```

                                gcc
accaggagat actacctggg cgccgtggag ctgagctggg actacatgca gtctgacctg
ggcgagctgc ctgtggacgc caggttcccc cccagagtgc ccaagagctt ccccttcaac
acctcagtgg tgtacaagaa gacctgttc gtggagttca ccgaccacct gttcaacatc
gccaagccca gggccccctg gatgggectg ctgggccccca ccatccaggc cgaggtgtac
gacaccgtgg tgatcacccct gaagaacatg gccagccacc ccgtgagcct gcacgccgtg
ggcgtgagct actggaaggc ctctgagggc gccgagtatg acgaccagac cagccagagg
gagaaggagg acgacaaggt gttccccggc ggcagccaca cctacgtgtg gcaggtgctg
aaggagaacg gccccatggc cagcgacccc ctgtgcctga cctacagcta cctgagccac
gtggacctgg tgaaggacct gaactctggc ctgatcggcg ccctgctggt gtgcaggag
ggcagcctgg ccaaggagaa gaccagacc ctgcacaagt tcactcctgt gttcggcgtg
ttcgatgagg gcaagagctg gcacagcgag accaagaaca gcctgatgca ggacagggat
gccgcctctg ccagggcctg gcccaagatg cacaccgtga acggctacgt gaacaggagc
ctgccgggcc tgatcggctg ccacaggaag tctgtgtact ggcacgtgat cggcatgggc
accacccccg aggtgcacag catcttcctg gagggccaca ccttcctggt gaggaaccac
aggcaggcca gcctggagat cagccccatc accttcctga ccgcccagac cctgctgatg
gacctgggcc agttcctgct gttctgccac atcagcagcc accagcacga cggcatggag
gcctacgtga aggtggacag ctgccccgag gagccccagc tgaggatgaa gaacaacgag
gaggccgagg actatgatga tgacctgacc gactctgaga tggacgtggt gaggtttgat
gatgacaaca gccccagctt catccagatc aggtctgtgg ccaagaagca cccaagacc
tgggtgcact acatcgccgc cgaggaggag gactgggact acgccccctt ggtgctggcc
cccgacgaca ggagctacaa gagccagtac ctgaacaacg gccccagag gatcggcagg
aagtacaaga aggtcagatt catggcctac accgacgaga ccttcaagac caggagggcc
atccagcacg agtctggcat cctgggcccc ctgctgtacg gcgaggtggg cgacaccctg
ctgatcatct tcaagaacca ggccagcagg ccctacaaca tctacccccca cggcatcacc
gatgtgaggg ccctgtacag caggaggctg cccaagggcg tgaagcacct gaaggacttc
cccatcctgc ccggcgagat cttcaagtac aagtggaccg tgaccgtgga ggatggcccc
accaagtctg accccagggt cctgaccagg tactacagca gcttcgtgaa catggagagg
gacctggcct ctggcctgat cggccccctg ctgatctgct acaaggagag cgtggaccag
aggggcaacc agatcatgtc tgacaagagg aacgtgatcc tgttctctgt gttcgatgag
aacaggagct ggtatctgac cgagaacatc cagaggttcc tgcccaaccc cgccggcgtg
cagctggagg accccgagtt ccaggccagc aacatcatgc acagcatcaa cggctacgtg
ttcgacagcc tgcagctgtc tgtgtgcctg cacgaggtgg cctactggta catcctgagc
atcggcgccc agaccgactt cctgtctgtg ttcttctctg gctacacctt caagcacaag
atggtgtacg aggacaccct gacctgttc cccttcagcg gcgagaccgt gttcatgagc
atggagaacc ccggcctgtg gatcctgggc tgccacaaca gcgacttcag gaacaggggc
atgaccgccc tgctgaaagt cagcagctgc gacaagaaca ccggcgacta ctacgaggac
agctacgagg acatcagcgc ctacctgctg agcaagaaca acgccatcga gcccagg
(SEQ ID NO:22)

```

Figura 28

CS23-LC-NA

```

cagagcgacc aggaggagat cgactatgat gacaccatca g agatcaccag gaccaccctg
gacttcgaca tctacgacga ggacgagaac cagagcccca g cgtggagat gaagaaggag
aggcactact tcatcgccgc cgtggagagg ctgtgggact atggcatgag cagcagcccc
cacgtgctga ggaacagggc ccagagcggc agcgtgcccc agttcaagaa ggtggtgttc
caggagtica ccgacggcag cttcaccag cccctgtaca gaggcgagct gaacgagcac
ctgggcctgc tgggccccta catcagggcc gaggtggagg acaacatcat ggtgaccttc
aggaaccagg ccagcaggcc ctacagcttc tacagcagcc tgatcagcta cgaggaggac
cagaggcagg gcgcccagcc caggaagaac ttcgtgaagc ccaacgagac caagacctac
ttctggaagg tgcagcacca catggccccc accaaggacg agttcgactg caaggcctgg
gectacttct ctgatgtgga cctggagaag gacgtgcaca gcggcctgat cggccccctg
ctggtgtgcc acaccaaac cctgaacccc gccacggca ggcaggtgac cgtgcaggag
ttcgccctgt tcttcacat cttcgacgag accaagagct ggtacttcac cgagaacatg
gagaggaact gcagggcccc ctgcaacatc cagatggagg accccacctt caaggagaac
tacaggttcc acgccatcaa cggctacatc atggacaccc tgcccggcct ggtgatggcc
caggaccaga ggatcagggt gtatctgctg agcatgggca gcaacgagaa catccacagc
atccacttca gcggccacgt gttcacctgt aggaagaagg aggagtacaa gatggccctg
tacaacctgt accccggcgt gttcgagacc gtggagatgc tgcccagcaa ggccggcatc
tgagggtgg agtgccctgat cggcgagcac ctgcacgcgc gcatgagcac cctgttctctg
gtgtacagca acaagtgcc gacccccctg ggcattggcca gcggccacat cagggacttc
cagatcaccg cctctggcca gtacggccag tgggccccca agctggccag gctgcactac
agcggcagca tcaacgcctg gagcaccaag gagcccttca gctggatcaa ggtggacctg
ctggccccc tcatcatcca cggcatcaag acccaggcg ccaggcagaa gttcagcagc
ctgtacatca gccagttcat catcatgtac agcctggacg gcaagaagtg gcagacctac
aggggcaaca gcaccggcac cctgatggtg ttcttcggca acgtggacag cagcggcatc
aagcacaaca tcttcaacct ccccatcctc gccaggtaca tcaggctgca cccacccac
tacagcatca ggagcacctt gcggatggaa ctgatgggct gcgacctgaa cagctgcagc
atgccccctg gcatggagag caaggccatc tctgacgccc agatcaccgc cagcagctac
ttaccaaca tgttcgccac ctggagcccc agcaaggcca ggctgcacct gcagggcagg
agcaacgcct ggaggcccca ggtgaacaac cccaaggagt ggctgcagggt ggacttccag
aagaccatga aggtgaccgg cgtgaccacc cagggcgtga agagcctgct gaccagcatg
tacgtgaagg agttcctgat cagcagcagc caggacggcc accagtggac cctgttcttc
cagaacggca aagtgaagggt gttccagggc aaccaggaca gcttcacccc cgtggtgaac
agcctggacc cccccctgct gaccaggtat ctgaggatcc acccccagag ctgggtgcac
cagatcgccc tgagaatgga agtgctggga tgcgaggccc aggacctgta c
(SEQ ID NO:23)

```

Figura 29

CS01m13-FL-NA

ATGCAGATTGAGCTGTCCACCTGCTTCTTTCTGTGCCTGCTGAGATTCTGCTTCTCTGCCACCAGG
 AGATACTACCTGGGGGCTGTGGAACCTTTCTTGGGACTACATGCAGTCTGACCTGGGAGAGCTGCCT
 GTGGATGCCAGGTTCCCAACCAGAGTGGCCAAGTCCTTCCATTCAACACCTCTGTGGTCTACAAG
 AAGACACTCTTTGTGGAATTCAGTACCACCTGTTCAACATTGCAAAACCCAGACCACCTGGATG
 GGAATCCTGGGACCCACCATTGAGGCTGAGGTGTATGACACTGTGGTCATCACCTCAAGAACATG
 GCATCCACCTGTGTCTCTGCATGCTGTGGGAGTCTCATACTGGAAAGCCTCTGAAGGGGCTGAG
 TATGATGACCAGACATCCAGAGAGAGAAAGAGGATGACAAGGTGTTCCCTGGGGGATCTCACACC
 TATGTGTGGCAAGTCTCAAGGAGAATGGACCCATGGCATCTGACCCACTCTGCCTGACATACTCC
 TACCTTTCTCATGTGGACCTGGTCAAGGACCTCAACTCTGGACTGATTGGGGCACTGCTGGTGTGC
 AGGGAAGGATCCCTGGCCAAGGAGAAAACCCAGACACTGCACAAGTTTATTCTCCTGTTTGTCTGTC
 TTTGATGAGGGCAAGTCTTGGCACTCTGAAACAAAGAACTCCCTGATGCAAGACAGGGATGCTGCC
 TCTGCCAGGGCATGGCCCAAGATGCACACTGTGAATGGCTATGTGAACAGATCACTGCCTGGACTC
 ATTGGCTGCCACAGGAAATCTGTCTACTGGCATGTGATTGGCATGGGGACAACCCCTGAAGTGCAC
 TCCATTTTCTGGAGGGACACACCTTCCTGGTCAGGAACACAGACAAGCCTCTCTGGAGATCTCT
 CCCATCACCTTCCTCACTGCACAGACACTGCTGATGGACCTTGGACAGTTCTCTGCTGTCTGCCAC
 ATCTCTTCCCACCAGCATGATGGCATGGAAGCCTATGTCAAGGTGGACTCATGCCCTGAGGAACCA
 CAGCTCAGGATGAAGAACAATGAGGAGGCTGAGGACTATGATGATGACCTGACTGACTCTGAGATG
 GATGTGGTCAGATTTGATGATGACAACCTCTCCATCCTTCATTTCAGATCAGGTCTGTGGCAAAGAAA
 CACCCCAAGACATGGGTGCACTACATTGCTGCTGAGGAAGAGGACTGGGACTATGCACCACTGGTC
 CTGGCCCCCTGATGACAGGAGCTACAAGTCTCAGTACCTCAACAATGGCCCACAAAGAATTGGAAGA
 AAGTACAAGAAAGTCAGATTCATGGCCTACACTGATGAAACCTTCAAGACAAGAGAAGCCATTTCAG
 CATGAGTCTGGCATTCTGGGACCACTCCTGTATGGGGAAGTGGGAGACACCCTGCTCATCATCTTC
 AAGAACCAGGCCTCCAGGCCCTACAACATCTACCCACATGGCATCACTGATGTCAGGCCCTGTAC
 AGCAGGAGACTGCCAAAAGGGGTGAAACACCTCAAGGACTTCCCCATTCTGCCTGGAGAGATCTTC
 AAGTACAAGTGGACTGTCACTGTGGAGGATGGACCAACAAAGTCTGACCCAGGTGCCCTCACCAGA
 TACTACTCCTCTTTTGTGAACATGGAGAGAGACCTGGCATCTGGACTGATTGGACCACTGCTCATC
 TGCTACAAGGAGTCTGTGGACCAGAGAGGCAACCAGATCATGTCTGACAAGAGAAATGTGATTCTG
 TTCTCTGTCTTTGATGAGAACAGATCATGGTACCTGACTGAGAACATTTCAGAGATTCTTGCCCAAC
 CCTGCTGGGGTGCAACTGGAAGACCCCTGAGTTCCAGGCAAGCAACATCATGCACTCCATCAATGGC
 TATGTGTTTGAATCTCTCCAGCTTTCTGTCTGCCTGCATGAGGTGGCCTACTGGTACATTCTTTCT
 ATTGGGGCACAACTGACTTCCTTTCTGTCTTCTTCTCTGGATACACCTTCAAGCACAAAGATGGTG
 TATGAGGACACCCTGACACTCTTCCCATTCTCTGGGGAACTGTGTTTCATGAGCATGGAGAACCCT
 GGACTGTGGATTCTGGGATGCCACAACCTCTGACTTCAGAAACAGGGGAATGACTGCACTGCTCAAA
 GTCTCCTCCTGTGACAAGAACACTGGGGACTACTATGAGGACTCTTATGAGGACATCTCTGCCTAC
 CTGCTCAGCAAGAACAATACCACCTACGTGAACCGCTCCCTGTCTCAGAATCCACCTGTCTGAAG
 AGACACCAGAGAGAGATCACCAGGACAACCCTCCAGTCTGACCAGGAAGAGATTGACTATGATGAC
 ACCATTTCTGTGGAGATGAAGAAGGAGGACTTTGACATCTATGATGAGGACGAGAACCAGTCTCCA
 AGATCATTCCAGAAGAAGACAAGACACTACTTCATTGCTGCTGTGGAAAGACTGTGGGACTATGGC
 ATGTCTTCTCTCCCCATGTCTCAGGAACAGGGCACAGTCTGGCTCTGTGCCACAGTTCAAGAAA

(Continuação)

Figura 30A

GTGGTCTTCCAGGAGTTCACTGATGGCTCATTACCCAGCCCCTGTACAGAGGGGAACCTGAATGAG
 CACCTGGGACTCCTGGGACCATACATCAGGGCTGAGGTGGAAGACAACATCATGGTGACATTCAGA
 AACCCAGGCCTCCAGGCCCTACAGCTTCTACTCTTCCCTCATCAGCTATGAGGAAGACCAGAGACAA
 GGGGCTGAGCCAAGAAAGAACTTTGTGAAACCCAATGAAACCAAGACCTACTTCTGGAAAAGTCCAG
 CACCACATGGCACCCACCAAGGATGAGTTTGACTGCAAGGCCTGGGCATACCTTCTCTGATGTGGAC
 CTGGAGAAAGATGTGCACTCTGGCCTGATTGGCCCACTCCTGGTCTGCCACACCAACACCCTGAAC
 CCTGCACATGGAAGGCAAGTGACTGTGCAGGAGTTTGCCCTCTTCTTACCATCTTTGATGAAACC
 AAGTCATGGTACTTCACTGAGAACATGGAGAGAACTGCAGAGCACCATGCAACATTGAGATGGAA
 GACCCACCTTCAAGGAGAACTACAGGTTCCATGCCATCAATGGCTACATCATGGACACCCTGCCT
 GGGCTTGTCATGGCACAGGACCAGAGAATCAGATGGTACCTGCTTTCTATGGGATCCAATGAGAAC
 ATTCACTCCATCCACTTCTCTGGGCATGTCTTCACTGTGAGAAAGAAGGAGGAATACAAGATGGCC
 CTGTACAACCTCTACCCTGGGGTCTTTGAGACTGTGGAGATGCTGCCCTCCAAAGCTGGCATCTGG
 AGGGTGGAATGCCTCATTGGGGAGCACCTGCATGCTGGCATGTCAACCCTGTTTCTGGTCTACAGC
 AACCAAGTGCCAGACACCCCTGGGAATGGCCTCTGGCCACATCAGGGACTTCCAGATCACTGCCTCT
 GGCCAGTATGGCCAGTGGGCACCCAACTGGCCAGGCTCCACTACTCTGGCTCCATCAATGCATGG
 TCAACCAAGGAGCCATTCTCTTGGATCAAGGTGGACCTGCTGGCACCCATGATCATTGATGGCATC
 AAGACACAGGGGGCAAGACAGAAATTCTCCTCTCTGTACATCTCACAGTTCATCATCATGTACTCT
 CTGGATGGCAAGAAGTGGCAGACATACAGAGGCAACTCCACTGGCACCCCTCATGGTCTTCTTTGGC
 AATGTGGACAGCTCTGGCATCAAGCACAACATCTTCAACCCCTCCCATCATTGCCAGATACATCAGG
 CTGCACCCCACTACTCAATCAGATCAACCCTCAGGATGGAAGTATGGGATGTGACCTGAAC
 TCCTGCTCAATGCCCTGGGAATGGAGAGCAAGGCCATTTCTGATGCCAGATCACTGCATCCTCT
 TACTTCACCAACATGTTTGGCACCTGGTCAACATCAAAAGCCAGGCTGCACCTCCAGGGGAAGAAGC
 AATGCCTGGAGACCCAGGTCAACAACCCAAAGGAATGGCTGCAAGTGGACTTCCAGAAGACAATG
 AAAGTCACTGGGGTGACAACCCAGGGGGTCAAGTCTCTGCTCACCTCAATGTATGTGAAGGAGTTC
 CTGATCTCTTCTCACAGGATGGCCACCAGTGGACACTCTTCTTCCAGAATGGCAAAGTCAAGGTG
 TTCCAGGGCAACCAGGACTCTTTCACACCTGTGGTGAACCTCACTGGACCCCCCTCCTGACAAGA
 TACCTGAGAATTCACCCCAAGTCTTGGGTCCACCAGATTGCCCTGAGAATGGAAGTCTGGGATGT
 GAGGCACAAGACCTGTACTGA (SEQ ID NO:90)

Figura 30B

CS01m23-FL-NA

ATGCAGATTGAGCTGTCCACCTGCTTCTTTCTGTGCCTGCTGAGATTCTGCTTCTCTGCCACCAGG
 AGATACTACCTGGGGGCTGTGGAACCTTTCTTGGGACTACATGCAGTCTGACCTGGGAGAGCTGCCT
 GTGGATGCCAGGTTCCACCCAGAGTGGCCAAGTCCTTCCATTCAACACCTCTGTGGTCTACAAG
 AAGACACTCTTTGTGGAATTCAGTACCACCTGTTCAACATTGCAAAACCCAGACCACCTGGATG
 GGAATCCTGGGACCCACCATTGAGGCTGAGGTGTATGACACTGTGGTCGTACCCCTCAAGAACATG
 GCATCCACCCCTGTGTCTCTGCATGCTGTGGGAGTCTCATACTGGAAATCCTCTGAAGGGGCTGAG
 TATGATGACCAGACATCCAGAGAGAGAAAGAGGATGACAAGGTGTTCCCTGGGAAGTCTCACACC
 TATGTGTGGCAAGTCTCAAGGAGAAATGGACCCACTGCATCTGACCCACCCTGCCTGACATACTCC
 TACCTTTCTCATGTGGACCTGGTCAAGGACCTCAACTCTGGACTGATTGGGGCACTGCTGGTGTGC
 AGGGAAGGATCCCTGGCCAAGGAGAAAACCCAGACACTGCACAAGTTTATTCTCCTGTTTGTCTGTC
 TTTGATGAGGGCAAGTCTTGGCACTCTGAAACAAAGAACTCCCTGATGCAAGACAGGGATGCTGCC
 TCTGCCAGGGCATGGCCCAAGATGCACACTGTGAATGGCTATGTGAACAGATCACTGCCTGGACTC
 ATTGGCTGCCACAGGAAATCTGTCTACTGGCATGTGATTGGCATGGGGACAACCCCTGAAGTGCAC
 TCCATTTTCTGGAGGGACACACCTTCCTGGTCAGGAACACAGACAAGCCTCTCTGGAGATCTCT
 CCCATCACCTTCCTCACTGCACAGACACTGCTGATGGACCTTGGACAGTTCTCTGCTGTCTGCCAC
 ATCTCTTCCCACCAGCATGATGGCATGGAAGCCTATGTCAAGGTGGACTCATGCCCTGAGGAACCA
 CAGCTCAGGATGAAGAACAATGAGGAGGCTGAGGACTATGATGATGACCTGACTGACTCTGAGATG
 GATGTGGTCAGATTTGATGATGACAACCTCTCCATCCTTCATTGATCAGGTCTGTGGCAAAGAAA
 CACCCCAAGACATGGGTGCACTACATTGCTGCTGAGGAAGAGGACTGGGACTATGCACCACTGGTC
 CTGGCCCCCTGATGACAGGAGCTACAAGTCTCAGTACCTCAACAATGGCCCACAAAGAATTGGAAGA
 AAGTACAAGAAAGTCAGATTCATGGCCTACACTGATGAAACCTTCAAGACAAGAGAAGCCATTGAG
 CATGAGTCTGGCATTCTGGGACCACTCCTGTATGGGGAAGTGGGAGACACCCTGCTCATCATCTTC
 AAGAACCAGGCCTCCAGGCCCTACAACATCTACCCACATGGCATCACTGATGTCAGGCCCTGTAC
 AGCAGGAGACTGCCAAAAGGGGTGAAACACCTCAAGGACTTCCCCATTCTGCCTGGAGAGATCTTC
 AAGTACAAGTGGACTGTCACTGTGGAGGATGGACCAACAAAGTCTGACCCAGGTGCCCTCACCAGA
 TACTACTCCTCTTTTGTGAACATGGAGAGAGACCTGGCATCTGGACTGATTGGACCACTGCTCATC
 TGCTACAAGGAGTCTGTGGACCAGAGAGGCAACCAGATCATGTCTGACAAGAGAAATGTGATTCTG
 TTCTCTGTCTTTGATGAGAACAGATCATGGTACCTGACTGAGAACATTGAGAGATTCTTGCCCAAC
 CCTGCTGGGGTGCAACTGGAAGACCCCTGAGTTCCAGGCAAGCAACATCATGCACTCCATCAATGGC
 TATGTGTTTGAATCTCTCCAGCTTTCTGTCTGCCTGCATGAGGTGGCCTACTGGTACATTCTTTCT
 ATTGGGGCACAACTGACTTCCTTTCTGTCTTCTTCTCTGGATACACCTTCAAGCACAAAGATGGTG
 TATGAGGACACCCTGACACTCTTCCCATTCTCTGGGGAACTGTGTTTATGAGCATGGAGAACCCCT
 GGACTGTGGATTCTGGGATGCCACAACCTCTGACTTCAGAAACAGGGGAATGACTGCACTGCTCAAA
 GTCTCCTCCTGTGACAAGAACACTGGGGACTACTATGAGGACTCTTATGAGGACATCTCTGCCTAC
 CTGCTCAGCAAGAACAATAACACCTACGTGAACCGCTCCCTGTCTCAGAATCCACCTGTCTGAAG
 AGACACCAGAGAGAGATCACCAGGACAACCCCTCCAGTCTGACCAGGAAGAGATTGACTATGATGAC
 ACCATTTCTGTGGAGATGAAGAAGGAGGACTTTGACATCTATGATGAGGACGAGAACCAGTCTCCA
 AGATCATTCCAGAAGAAGACAAGACACTACTTCATTGCTGCTGTGGAAAGACTGTGGGACTATGGC
 ATGTCTTCCTCTCCCATGTCTCAGGAACAGGGCACAGTCTGGCTCTGTGCCACAGTTCAAGAAA

(Continuação)

Figura 31A

GTGGTCTTCCAGGAGTTCACTGATGGCTCATTACCCAGCCCCTGTACAGAGGGGAACTGAATGAG
 CACCTGGGACTCCTGGGACCATACATCAGGGCTGAGGTGGAAGACAACATCATGGTGACATTCAGA
 AACCAGGCCTCCAGGCCCTACAGCTTCTACTCTTCCCTCATCAGCTATGAGGAAGACCAGAGACAA
 GGGGCTGAGCCAAGAAAGAACTTTGTGAAACCCAATGAAACCAAGACCTACTTCTGGAAAGTCCAG
 CACCACATGGCACCCACCAAGGATGAGTTTGACTGCAAGGCCTGGGCATACCTTCTCTGATGTGGAC
 CTGGAGAAAGATGTGCACTCTGGCCTGATTGGCCCACTCCTGGTCTGCCACACCAACACCCTGAAC
 CCTGCACATGGAAGGCAAGTGACTGTGCAGGAGTTTGCCCTCTTCTCACCATCTTTGATGAAACC
 AAGTCATGGTACTTCACTGAGAACATGGAGAGAACTGCAGAGCACCATGCAACATTGAGATGGAA
 GACCCACCTTCAAGGAGAACTACAGGTTCCATGCCATCAATGGCTACATCATGGACACCCTGCCT
 GGGCTTGTCATGGCACAGGACCAGAGAAATCAGATGGTACCTGCTTTCTATGGGATCCAATGAGAAC
 ATTCACTCCATCCACTTCTCTGGGCATGTCTTCACTGTGAGAAAGAAGGAGGAATACAAGATGGCC
 CTGTACAACCTCTACCCTGGGGTCTTTGAGACTGTGGAGATGCTGCCCTCCAAAGCTGGCATCTGG
 AGGGTGGAATGCCTCATTGGGGAGCACCTGCATGCTGGCATGTCAACCCTGTTTCTGGTCTACAGC
 AACAGTGCCAGACACCCCTGGGAATGGCCTCTGGCCACATCAGGGACTTCCAGATCACTGCCTCT
 GGCCAGTATGGCCAGTGGGCACCCAACTGGCCAGGCTCCACTACTCTGGCTCCATCAATGCATGG
 TCAACCAAGGAGCCATTCTCTTGGATCAAGGTGGACCTGCTGGCACCCATGATCATTGATGGCATC
 AAGACACAGGGGGCAAGACAGAAATTCTCCTCTCTGTACATCTCACAGTTCATCATCATGTACTCT
 CTGGATGGCAAGAAGTGGCAGACATACAGAGGCAACTCCACTGGCACCCCTCATGGTCTTCTTTGGC
 AATGTGGACAGCTCTGGCATCAAGCACAACATCTTCAACCTCCCATCATTGCCAGATACATCAGG
 CTGCACCCCACTACTCAATCAGATCAACCCTCAGGATGGAAGTATGGGATGTGACCTGAAC
 TCCTGCTCAATGCCCTGGGAATGGAGAGCAAGGCCATTTCTGATGCCAGATCACTGCATCCTCT
 TACTTCACCAACATGTTTGGCACCTGGTCACCATCAAAAGCCAGGCTGCACCTCCAGGGGAAGAAGC
 AATGCCTGGAGACCCAGGTCAACAACCCAAAGGAATGGCTGCAAGTGGACTTCCAGAAGACAATG
 AAAGTCACTGGGGTGACAACCCAGGGGGTCAAGTCTCTGCTCACCTCAATGTATGTGAAGGAGTTC
 CTGATCTCTTCTCACAGGATGGCCACCAGTGGACACTCTTCTTCCAGAATGGCAAAGTCAAGGTG
 TTCCAGGGCAACCAGGACTCTTTCACACCTGTGGTGAAGTCACTGGACCCCCCTCCTGACAAGA
 TACCTGAGAATTCACCCCAAGTCTTGGGTCCACCAGATTGCCCTGAGAATGGAAGTCTGGGATGT
 GAGGCACAAGACCTGTACTGA (SEQ ID NO:91)

Figura 31B

CS01m3-FL-NA

ATGCAGATTGAGCTGTCCACCTGCTTCTTTCTGTGCCTGCTGAGATTCTGCTTCTCTGCCACCAGG
 AGATACTACCTGGGGGCTGTGGAACTTTCTTGGGACTACATGCAGTCTGACCTGGGAGAGCTGCCT
 GTGGATGCCAGGTTCCCAACCAGAGTGCCCAAGTCCTTCCCATTC AACACCTCTGTGGTCTACAAG
 AAGACACTCTTTGTGGAATTCAGTACCACCTGTTCAACATTGCAAAACCCAGACCACCTTGGATG
 GGACTCCTGGGACCCACCATTCAAGGCTGAGGTGTATGACACTGTGGTCATCACCTCAAGAACATG
 GCATCCCACTCTGTCTCTGCATGCTGTGGGAGTCTCATACTGGAAAGCCTCTGAAGGGGCTGAG
 TATGATGACCAGACATCCCAGAGAGAGAAAGAGGATGACAAGGTGTTCCTGGGGGATCTCACACC
 TATGTGTGGCAAGTCCTCAAGGAGAATGGACCCATGGCATCTGACCCACTCTGCCTGACATACTCC
 TACCTTTCTCATGTGGACCTGGTCAAGGACCTCAACTCTGGACTGATTGGGGCACTGCTGGTGTGC
 AGGGAAGGATCCCTGGCCAAGGAGAAAACCCAGACACTGCACAAGTTCATTCTCCTGTTTGCTGTC
 TTTGATGAGGGCAAGTCTTGGCACTCTGAAACAAAGAACTCCCTGATGCAAGACAGGGATGCTGCC
 TCTGCCAGGGCATGGCCCAAGATGCACACTGTGAATGGCTATGTGAACAGATCACTGCCTGGACTC
 ATTGGCTGCCACAGGAAATCTGTCTACTGGCATGTGATTGGCATGGGGACAACCCCTGAAGTGCAC
 TCCATTTTCTGGAGGGACACACCTTCCCTGGTCAGGAACACAGACAAGCCTCTCTGGAGATCTCT
 CCCATCACCTTCTCACTGCACAGACACTGCTGATGGACCTTGGACAGTTCTGCTGTTCTGCCAC
 ATCTCTTCCACCAGCATGATGGCATGGAAGCCTATGTCAAGGTGGACTCATGCCCTGAGGAACCA
 CAGCTCAGGATGAAGAACAATGAGGAGGCTGAGGACTATGATGATGACCTGACTGACTCTGAGATG
 GATGTGGTCAGATTTGATGATGACAACCTCTCCATCCTTCATTGATCAGGTCTGTGGCAAAGAAA
 CACCCCAAGACATGGGTGCACTACATTGCTGCTGAGGAAGAGGACTGGGACTATGCACCACTGGTC
 CTGGCCCCCTGATGACAGGAGCTACAAGTCTCAGTACCTCAACAATGGCCCACAAAGAATTGGAAGA
 AAGTACAAGAAAGTCAGATTTCATGGCCTACACTGATGAAACCTTCAAGACAAGAGAAGCCATTGAG
 CATGAGTCTGGCATTCTGGGACCACTCCTGTATGGGGAAGTGGGAGACACCCTGCTCATCATCTTC
 AAGAACCAGGCCTCCAGGCCCTACAACATCTACCCACATGGCATCACTGATGTCAGGCCCTGTAC
 AGCAGGAGACTGCCAAAAGGGGTGAAACACCTCAAGGACTTCCCCATTCTGCCTGGAGAGATCTTC
 AAGTACAAGTGGACTGTCACTGTGGAGGATGGACCAACAAAGTCTGACCCAGGTGCCTCACCAGA
 TACTACTCCTCTTTTGTGAACATGGAGAGAGACCTGGCATCTGGACTGATTGGACCACTGCTCATC
 TGCTACAAGGAGTCTGTGGACCAGAGAGGCAACCAGATCATGTCTGACAAGAGAAATGTGATTCTG
 TTCTCTGTCTTTGATGAGAACAGATCATGGTACCTGACTGAGAACATTGAGAGATTCTGCCCAAC
 CCTGCTGGGGTGCAACTGGAAGACCCTGAGTTCCAGGCAAGCAACATCATGCACTCCATCAATGGC
 TATGTGTTTGACTCTCTCCAGCTTTCTGTCTGCCCTGCATGAGGTGGCCTACTGGTACATTCTTTCT
 ATTGGGGCACAACCTGACTTCCTTTCTGTCTTCTCTCTGATACACCTTCAAGCACAAGATGGTG
 TATGAGGACACCTGACACTCTTCCATTCTCTGGGGAACTGTGTTTCATGAGCATGGAGAACCCT
 GGACTGTGGATTCTGGGATGCCACAACCTCTGACTTCAGAAACAGGGGAATGACTGCACTGCTCAAA
 GTCTCCTCCTGTGACAAGAACACTGGGGACTACTATGAGGACTCTTATGAGGACATCTCTGCCTAC
 CTGCTCAGCAAGAACAATACCACCTACGTGAACCGCTCCCTGTCTCAGAATCCACCTGTCCTGAAG
 AGACACCAGAGAGAGATCACCAGGACAACCCTCCAGTCTGACCAGGAAGAGATTGACTATGATGAC
 ACCATTTCTGTGGAGATGAAGAAGGAGGACTTTGACATCTATGATGAGGACGAGAACCAGTCTCCA
 AGATCATTCCAGAAGAAGACAAGACACTACTTCATTGCTGCTGTGGAAAGACTGTGGGACTATGGC
 ATGTCTTCTCTCCCATGTCTCAGGAACAGGGCACAGTCTGGCTCTGTGCCACAGTTCAAGAAA

(Continuação)

Figura 32A

GTGGTCTTCCAGGAGTTCACTGATGGCTCATTACCCAGCCCCTGTACAGAGGGGAACGAATGAG
 CACCTGGGACTCCTGGGACCATACATCAGGGCTGAGGTGGAAGACAACATCATGGTGACATTCAGA
 AACCAGGCCTCCAGGCCCTACAGCTTCTACTCTTCCCTCATCAGCTATGAGGAAGACCAGAGACAA
 GGGGCTGAGCCAAGAAAGAACTTTGTGAAACCCAATGAAACCAAGACCTACTTCTGGAAAGTCCAG
 CACCACATGGCACCCACCAAGGATGAGTTTGACTGCAAGGCCTGGGCATACTTCTCTGATGTGGAC
 CTGGAGAAAGATGTGCACTCTGGCCTGATTGGCCCACTCCTGGTCTGCCACACCAACACCCTGAAC
 CCTGCACATGGAAGGCAAGTGACTGTGCAGGAGTTTGCCCTCTTCTTCACCATCTTTGATGAAACC
 AAGTCATGGTACTTCACTGAGAACATGGAGAGAACTGCAGAGCACCATGCAACATTCAGATGGAA
 GACCCACCTTCAAGGAGAACTACAGGTTCCATGCCATCAATGGCTACATCATGGACACCCTGCCT
 GGGCTTGTCATGGCACAGGACCAGAGAATCAGATGGTACCTGCTTTCTATGGGATCCAATGAGAAC
 ATTCACTCCATCCACTTCTCTGGGCATGTCTTCACTGTGAGAAAGAAGGAGGAATACAAGATGGCC
 CTGTACAACCTCTACCCTGGGGTCTTTGAGACTGTGGAGATGCTGCCCTCCAAAGCTGGCATCTGG
 AGGGTGGAATGCCTCATTGGGGAGCACCTGCATGCTGGCATGTCAACCCTGTTTCTGGTCTACAGC
 AACAAGTGCCAGACACCCCTGGGAATGGCCTCTGGCCACATCAGGGACTTCCAGATCACTGCCTCT
 GGCCAGTATGGCCAGTGGGCACCCAAACTGGCCAGGCTCCACTACTCTGGCTCCATCAATGCATGG
 TCAACCAAGGAGCCATTCTCTTGGATCAAGGTGGACCTGCTGGCACCCATGATCATTTCATGGCATC
 AAGACACAGGGGGCAAGACAGAAATTCTCCTCTCTGTACATCTCACAGTTCATCATCATGTACTCT
 CTGGATGGCAAGAAGTGGCAGACATACAGAGGCAACTCCACTGGCACCCCTCATGGTCTTCTTTGGC
 AATGTGGACAGCTCTGGCATCAAGCACAACTCTTCAACCCTCCCATCATTGCCAGATACATCAGG
 CTGCACCCCAACCACTACTCAATCAGATCAACCCTCAGGATGGAAGTATGGGATGTGACCTGAAC
 TCCTGCTCAATGCCCCCTGGGAATGGAGAGCAAGGCCATTTCTGATGCCAGATCACTGCATCCTCT
 TACTTACCAACATGTTTGCCACCTGGTCACCATCAAAAGCCAGGCTGCACCTCCAGGGAAGAAGC
 AATGCCTGGAGACCCAGGTCAACAACCCAAAGGAATGGCTGCAAGTGGACTTCCAGAAGACAATG
 AAAGTCACTGGGGTGACAACCCAGGGGGTCAAGTCTCTGCTCACCTCAATGTATGTGAAGGAGTTC
 CTGATCTCTTCTCACAGGATGGCCACCAGTGGACACTCTTCTTCCAGAATGGCAAAGTCAAGGTG
 TTCCAGGGCAACCAGGACTCTTTCACACCTGTGGTGAACACTCACTGGACCCCCCTCCTGACAAGA
 TACCTGAGAATTCACCCCAAGTCTTGGGTCCACCAGATTGCCCTGAGAATGGAAGTCTGGGATGT
 GAGGCACAAGACCTGTACTGA (SEQ ID NO: 92)

Figura 32B

CS01m2-FL-NA

ATGCAGATTGAGCTGTCCACCTGCTTCTTTCTGTGCCTGCTGAGATTCTGCTTCTCTGCCACCAGG
 AGATACTACCTGGGGGCTGTGGAACCTTTCTTGGGACTACATGCAGTCTGACCTGGGAGAGCTGCCT
 GTGGATGCCAGGTTCCACCCAGAGTGCCCAAGTCCTTCCCATTC AACACCTCTGTGGTCTACAAG
 AAGACACTCTTTGTGGAATTCAGTGAACACCTGTTCAACATTGCAAAACCCAGACCACCTTGGATG
 GGACTCCTGGGACCCACCATTCAAGGCTGAGGTGTATGACACTGTGGTCGTACCCCTCAAGAACATG
 GCATCCACCCCTGTGTCTCTGCATGCTGTGGGAGTCTCATACTGGAAATCCTCTGAAGGGGCTGAG
 TATGATGACCAGACATCCCAGAGAGAGAAAGAGGATGACAAGGTGTTCCCTGGGAAGTCTCACACC
 TATGTGTGGCAAGTCTCAAGGAGAATGGACCCACTGCATCTGACCCACCCTGCCTGACATACTCC
 TACCTTTCTCATGTGGACCTGGTCAAGGACCTCAACTCTGGACTGATTGGGGCACTGCTGGTGTGC
 AGGGAAGGATCCCTGGCCAAGGAGAAAACCCAGACACTGCACAAGTTCATTCTCCTGTTTGCTGTC
 TTTGATGAGGGCAAGTCTTGGCACTCTGAAACAAAGAACTCCCTGATGCAAGACAGGGATGCTGCC
 TCTGCCAGGGCATGGCCCAAGATGCACACTGTGAATGGCTATGTGAACAGATCACTGCCTGGACTC
 ATTGGCTGCCACAGGAAATCTGTCTACTGGCATGTGATTGGCATGGGGACAACCCCTGAAGTGCAC
 TCCATTTTCTGGAGGGACACACCTTCCCTGGTCAGGAACCACAGACAAGCCTCTCTGGAGATCTCT
 CCCATCACCTTCTCACTGCACAGACACTGCTGATGGACCTTGGACAGTTCCTGCTGTTCTGCCAC
 ATCTCTTCCACCAGCATGATGGCATGGAAGCCTATGTCAAGGTGGACTCATGCCCTGAGGAACCA
 CAGCTCAGGATGAAGAAATGAGGAGGCTGAGGACTATGATGATGACCTGACTGACTCTGAGATG
 GATGTGGTCAGATTTGATGATGACAACCTCTCCATCCTTCATTGATCAGGTCTGTGGCAAAGAAA
 CACCCCAAGACATGGGTGCACTACATTGCTGCTGAGGAAGAGGACTGGGACTATGCACCACTGGTC
 CTGGCCCCCTGATGACAGGAGCTACAAGTCTCAGTACCTCAACAATGGCCCCACAAAGAATTGGAAGA
 AAGTACAAGAAAGTCAGATTCATGGCCTACACTGATGAAACCTTCAAGACAAGAGAAGCCATTGAG
 CATGAGTCTGGCATTCTGGGACCACTCCTGTATGGGGAAGTGGGAGACACCCTGCTCATCATCTTC
 AAGAACCAGGCCTCCAGGCCCTACAACATCTACCCACATGGCATCACTGATGTCAGGCCCTGTAC
 AGCAGGAGACTGCCAAAAGGGGTGAAACACCTCAAGGACTTCCCCATTCTGCCTGGAGAGATCTTC
 AAGTACAAGTGGACTGTCACTGTGGAGGATGGACCAACAAAGTCTGACCCAGGTGCCTCACCAGA
 TACTACTCCTCTTTTGTGAACATGGAGAGAGACCTGGCATCTGGACTGATTGGACCACTGCTCATC
 TGCTACAAGGAGTCTGTGGACCAGAGAGGCAACCAGATCATGTCTGACAAGAGAAATGTGATTCTG
 TTCTCTGTCTTTGATGAGAACAGATCATGGTACCTGACTGAGAACATTGAGAGATTCTGCCCCAAC
 CCTGCTGGGGTGCAACTGGAAGACCCTGAGTTCCAGGCAAGCAACATCATGCACTCCATCAATGGC
 TATGTGTTTGACTCTCTCCAGCTTTCTGTCTGCCTGCATGAGGTGGCCTACTGGTACATTCTTTCT
 ATTGGGGCACAACTGACTTCCCTTTCTGTCTTCTCTCTGATACACCTTCAAGCACAAAGATGGTG
 TATGAGGACACCCCTGACACTCTTCCCATTTCTCTGGGGAACTGTGTTTATGAGCATGGAGAACCCT
 GGACTGTGGATTCTGGGATGCCACAACCTCTGACTTCAGAAACAGGGGAATGACTGCACTGCTCAA
 GTCTCCTCCTGTGACAAGAACACTGGGGACTACTATGAGGACTCTTATGAGGACATCTCTGCCTAC
 CTGCTCAGCAAGAACAATGCCATTGAGCCCAGAAGCTTCTCTCAGAATCCACCTGTCTCTGAAGAGA
 CACCAGAGAGAGATCACCAGGACAACCCTCCAGTCTGACCAGGAAGAGATTGACTATGATGACACC
 ATTTCTGTGGAGATGAAGAAGGAGGACTTTGACATCTATGATGAGGACGAGAACCAGTCTCCAAGA
 TCATTCCAGAAGAAGACAAGACACTACTTCATTGCTGCTGTGGAAAGACTGTGGGACTATGGCATG
 TCTTCTCTCCCCATGTCTCAGGAACAGGGCACAGTCTGGCTCTGTGCCACAGTTCAAGAAAGTG

(Continuação)

Figura 33A

GTCTTCCAGGAGTTCACTGATGGCTCATTACCCAGCCCCTGTACAGAGGGGAACTGAATGAGCAC
 CTGGGACTCCTGGGACCATAACATCAGGGCTGAGGTGGAAGACAACATCATGGTGACATTCAGAAAC
 CAGGCCTCCAGGCCCTACAGCTTCTACTCTTCCCTCATCAGCTATGAGGAAGACCAGAGACAAGGG
 GCTGAGCCAAGAAAGAACTTTGTGAAACCCAATGAAACCAAGACCTACTTCTGGAAAGTCCAGCAC
 CACATGGCACCACCAAGGATGAGTTTGAAGGCTGCAAGGCCTGGGCATACTTCTCTGATGTGGACCTG
 GAGAAAGATGTGCACTCTGGCCTGATTGGCCCACTCCTGGTCTGCCACACCAACACCCTGAACCCT
 GCACATGGAAGGCAAGTGACTGTGCAGGAGTTTGGCCTCTTCTTCACCATCTTTGATGAAACCAAG
 TCATGGTACTTCACTGAGAACATGGAGAGAACTGCAGAGCACCATGCAACATTGAGATGGAAGAC
 CCCACCTTCAAGGAGAACTACAGGTTCCATGCCATCAATGGCTACATCATGGACACCCTGCCTGGG
 CTTGTGTCATGGCACAGGACCAGAGAATCAGATGGTACCTGCTTTCTATGGGATCCAATGAGAACATT
 CACTCCATCCACTTCTCTGGGCATGTCTTCACTGTGAGAAAGAAGGAGGAATACAAGATGGCCCTG
 TACAACCTCTACCCTGGGGTCTTTGAGACTGTGGAGATGCTGCCCTCCAAAGCTGGCATCTGGAGG
 GTGGAATGCCTCATTGGGGAGCACCTGCATGCTGGCATGTCAACCCTGTTCTTGGTCTACAGCAAC
 AAGTGCCAGACACCCCTGGGAATGGCCTCTGGCCACATCAGGGACTTCCAGATCACTGCCTCTGGC
 CAGTATGGCCAGTGGGCACCCAACTGGCCAGGCTCCACTACTCTGGCTCCATCAATGCATGGTCA
 ACCAAGGAGCCATTCTCTTGGATCAAGGTGGACCTGCTGGCACCCATGATCATTCATGGCATCAAG
 ACACAGGGGGCAAGACAGAAATTCTCCTCTCTGTACATCTCACAGTTCATCATCATGTACTCTCTG
 GATGGCAAGAAGTGGCAGACATACAGAGGCAACTCCACTGGCACCCCTCATGGTCTTCTTTGGCAAT
 GTGGACAGCTCTGGCATCAAGCACAACATCTTCAACCCTCCCATCATTGCCAGATACATCAGGCTG
 CACCCCAACCACTACTCAATCAGATCAACCCTCAGGATGGAAGTATGGGATGTGACCTGAACTCC
 TGCTCAATGCCCCCTGGGAATGGAGAGCAAGGCCATTTCTGATGCCAGATCACTGCATCCTCTTAC
 TTCACCAACATGTTTGGCACCTGGTCACCATCAAAGCCAGGCTGCACCTCCAGGGAAGAAGCAAT
 GCCTGGAGACCCCAGGTCAACAACCCAAAGGAATGGCTGCAAGTGGACTTCCAGAAGACAATGAAA
 GTCATGGGGTGACAACCCAGGGGGTCAAGTCTCTGCTCACCTCAATGTATGTGAAGGAGTTCCTG
 ATCTCTTCTCACAGGATGGCCACCAGTGGACACTCTTCTTCCAGAATGGCAAAGTCAAGGTGTTT
 CAGGGCAACCAGGACTCTTTCACACCTGTGGTGAAGTCACTGGACCCCCCTCCTGACAAGATAC
 CTGAGAATTACCCCCAGTCTTGGGTCCACCAGATTGCCCTGAGAATGGAAGTCTGGGATGTGAG
 GCACAAGACCTGTACTGA (SEQ ID NO:93)

Figura 33B

CS04m2-FL-NA

ATGCAGATTGAGCTGAGCACCTGCTTCTTCCTGTGCCTGCTGAGGTTCTGCTTCTCTGCCACCAGG
 AGATACTACCTGGGGGCTGTGGAGCTTTCTTGGGACTACATGCAGTCTGACCTGGGGGAGCTGCCT
 GTGGATGCCAGGTTCCACCCAGAGTGCCCAAATCCTTCCCATTC AACACCTCTGTGGTCTACAAG
 AAGACCTCTTTGTGGAGTTCAGTGAACACCTGTTCAACATTGCCAAACCCAGGGCCACCTGGATG
 GGACTCCTGGGACCCACCATTCAGGCTGAGGTGTATGACACTGTGGTCGTACCCCTCAAGAACATG
 GCCTCCACCCCTGTGAGCCTGCATGCTGTGGGGGTGAGCTACTGGAAGTCCTCTGAGGGGGCTGAG
 TATGATGACCAGACCTCCCAGAGGGAGAAGGAGGATGACAAAGTGTTCCTGGGAAGAGCCACACC
 TATGTGTGGCAGGTCTCAAGGAGAATGGCCCCACTGCCTCTGACCCACCCCTGCCTGACCTACTCC
 TACCTTTCTCATGTGGACCTGGTCAAGGACCTCAACTCTGGACTGATTGGGGCCCTGCTGGTGTGC
 AGGGAGGGCTCCCTGGCCAAAGAGAAGACCCAGACCCTGCACAAGTTCATTCTCCTGTTTGCTGTC
 TTTGATGAGGGCAAGAGCTGGCACTCTGAAACCAAGAACTCCCTGATGCAGGACAGGGATGCTGCC
 TCTGCCAGGGCCTGGCCCAAGATGCACACTGTGAATGGCTATGTGAACAGGAGCCTGCCTGGACTC
 ATTGGCTGCCACAGGAAATCTGTCTACTGGCATGTGATTGGCATGGGGACAACCCCTGAGGTGCAC
 TCCATTTTCTGGAGGGCCACACCTTCCTGGTCAGGAACCACAGACAGGCCAGCCTGGAGATCAGC
 CCCATCACCTTCCTCACTGCCCAGACCCTGCTGATGGACCTCGGACAGTTCCTGCTGTTCTGCCAC
 ATCAGCTCCACACAGCATGATGGCATGGAGGCCTATGTCAAGGTGGACAGCTGCCCTGAGGAGCCA
 CAGCTCAGGATGAAGAACAATGAGGAGGCTGAGGACTATGATGATGACCTGACTGACTCTGAGATG
 GATGTGGTCCGCTTTGATGATGACAACAGCCCATCCTTCATTGATCAGGTCTGTGGCCAAGAAA
 CACCCCAAGACCTGGGTGCACTACATTGCTGCTGAGGAGGAGGACTGGGACTATGCCCCACTGGTC
 CTGGCCCCCTGATGACAGGAGCTACAAGAGCCAGTACCTCAACAATGGCCCCACAGAGGATTGGACGC
 AAGTACAAGAAAGTCAGGTTTCATGGCCTACACTGATGAAACCTTCAAGACCAGGGAGGCCATTGAG
 CATGAGTCTGGCATCCTGGGCCCCACTCCTGTATGGGGAGGTGGGGGACACCCTGCTCATCATCTTC
 AAGAACCAGGCCTCCAGGCCCTACAACATCTACCCACATGGCATCACTGATGTCAGGCCCTGTAC
 AGCCGCAGGCTGCCAAAGGGGGTGAAACACCTCAAGGACTTCCCCATTCTGCCTGGGGAGATCTTC
 AAGTACAAGTGGACTGTCACTGTGGAGGATGGACCAACCAATCTGACCCAGGTGCCTCACCAGA
 TACTACTCCAGCTTTGTGAACATGGAGAGGGACCTGGCCTCTGGCCTGATTGGCCCCACTGCTCATC
 TGCTACAAGGAGTCTGTGGACCAGAGGGGAAACCAGATCATGTCTGACAAGAGGAATGTGATTCTG
 TTCTCTGTCTTTGATGAGAACAGGAGCTGGTACCTGACTGAGAACATTGAGCGCTTCTGCCCCAAC
 CCTGCTGGGGTGACAGCTGGAGGACCCTGAGTTCCAGGCCAGCAACATCATGCACTCCATCAATGGC
 TATGTGTTTGACAGCCTCCAGCTTTCTGTCTGCCTGCATGAGGTGGCCTACTGGTACATTCTTTCT
 ATTGGGGCCAGACTGACTTCCTTTCTGTCTTCTTCTCTGGCTACACCTTCAAACACAAGATGGTG
 TATGAGGACACCCTGACCTCTTCCCATTTCTCTGGGGAGACTGTGTTTCATGAGCATGGAGAACCCT
 GGCTGTGGATTCTGGGATGCCACAACCTCTGACTTCCGCAACAGGGGCATGACTGCCCTGCTCAA
 GTCTCCTCCTGTGACAAGAACACTGGGGACTACTATGAGGACAGCTATGAGGACATCTCTGCCTAC
 CTGCTCAGCAAGAACAATGCCATTGAGCCCAGGAGCTTCAGCCAGAATCCACCTGTCTGAAACGC
 CACCAGAGGGAGATCACCAGGACCACCCTCCAGTCTGACCAGGAGGAGATTGACTATGATGACACC
 ATTTCTGTGGAGATGAAGAAAGAGGACTTTGACATCTATGACGAGGACGAGAACCAGAGCCCCAAGG
 AGCTTCCAGAAGAAGACCAGGCACTACTTCATTGCTGCTGTGGAGCGCCTGTGGGACTATGGCATG
 AGCTCCAGCCCCCATGTCTCAGGAACAGGGCCCAGTCTGGCTCTGTGCCACAGTTCAAGAAAGTG

(Continuação)

Figura 34A

GTCTTCCAAGAGTTCACTGATGGCAGCTTCACCCAGCCCCTGTACAGAGGGGAGCTGAATGAGCAC
 CTGGGACTCCTGGGCCCATACATCAGGGCTGAGGTGGAGGACAACATCATGGTGACCTTCCGCAAC
 CAGGCCTCCAGGCCCTACAGCTTCTACAGCTCCCTCATCAGCTATGAGGAGGACCAGAGGCAGGGG
 GCTGAGCCACGCAAGAACTTTGTGAAACCCAATGAAACCAAGACCTACTTCTGGAAAGTCCAGCAC
 CACATGGCCCCACCAAGGATGAGTTTGACTGCAAGGCCTGGGCCTACTTCTCTGATGTGGACCTG
 GAGAAGGATGTGCACTCTGGCCTGATTGGCCCACTCCTGGTCTGCCACACCAACACCCTGAACCCT
 GCCCATGGAAGGCAAGTGACTGTGCAGGAGTTTGCCCTCTTCTTCACCATCTTTGATGAAACCAAG
 AGCTGGTACTTCACTGAGAACATGGAGCGCAACTGCAGGGCCCCATGCAACATTGAGATGGAGGAC
 CCCACCTTCAAAGAGAACTACCGCTTCCATGCCATCAATGGCTACATCATGGACACCCTGCCTGGG
 CTTGTTCATGGCCCAGGACCAGAGGATCAGGTGGTACCTGCTTTCTATGGGCTCCAATGAGAACATT
 CACTCCATCCACTTCTCTGGGCATGTCTTCACTGTGCGCAAGAAGGAGGAGTACAAGATGGCCCTG
 TACAACCTCTACCCTGGGGTCTTTGAGACTGTGGAGATGCTGCCCTCCAAAGCTGGCATCTGGAGG
 GTGGAGTGCCTCATTGGGGAGCACCTGCACTGCTGGCATGAGCACCTGTTCTTGGTCTACAGCAAC
 AAGTGCCAGACCCCCCTGGGAATGGCCTCTGGCCACATCAGGGACTTCCAGATCACTGCCTCTGGC
 CAGTATGGCCAGTGGGCCCCCAAGCTGGCCAGGCTCCACTACTCTGGATCCATCAATGCCTGGAGC
 ACCAAGGAGCCATTGAGCTGGATCAAAGTGGACCTGCTGGCCCCCATGATCATCCATGGCATCAAG
 ACCCAGGGGGGCCAGGCAGAAAGTTCTCCAGCCTGTACATCAGCCAGTTCATCATCATGTACAGCCTG
 GATGGCAAGAAATGGCAGACCTACAGAGGCAACTCCACTGGAACACTCATGGTCTTCTTTGGCAAT
 GTGGACAGCTCTGGCATCAAGCACAACATCTTCAACCCCCCAATCATCGCCAGATACATCAGGCTG
 CACCCCAACCACTACAGCATCCGCAGCACCTCAGGATGGAGCTGATGGGCTGTGACCTGAACTCC
 TGCAGCATGCCCCCTGGGCATGGAGAGCAAGGCCATTTCTGATGCCCAGATCACTGCCTCCAGCTAC
 TTCACCAACATGTTTGGCACCTGGAGCCCAAGCAAGGCCAGGCTGCACCTCCAGGGAAGGAGCAAT
 GCCTGGAGGGCCCCAGGTCAACAACCCAAAGGAGTGGCTGCAGGTGGACTTCCAGAAGACCATGAAG
 GTCAGTGGGGTGACCACCCAGGGGGTCAAGAGCCTGCTCACCAGCATGTATGTGAAGGAGTTCCTG
 ATCAGCTCCAGCCAGGATGGCCACCAAGTGGACCTCTTCTTCCAGAATGGCAAGGTCAAGGTGTTT
 CAGGGCAACCAGGACAGCTTCACCCCTGTGGTGAACAGCCTGGACCCCCCTCCTGACCAGATAC
 CTGAGGATTACCCCCAGAGCTGGGTCCACCAGATTGCCCTGAGGATGGAGGTCCTGGGATGTGAG
 GCCCAGGACCTGTACTGA (SEQ ID NO:94)

Figura 34B

CS04m3-FL-NA

ATGCAGATTGAGCTGAGCACCTGCTTCTTCCTGTGCCTGCTGAGGTTCTGCTTCTCTGCCACCAGG
 AGATACTACCTGGGGGCTGTGGAGCTTTCTTGGGACTACATGCAGTCTGACCTGGGGGAGCTGCCT
 GTGGATGCCAGGTTCCCAACCAGAGTGCCCAAATCCTTCCCATTC AACACCTCTGTGGTCTACAAG
 AAGACCTCTTTGTGGAGTTCAGTGAACACCTGTTCAACATTGCCAAACCCAGGGCCACCTGGATG
 GGACTCCTGGGACCCACCATTCAGGCTGAGGTGTATGACACTGTGGTCATCACCTCAAGAACATG
 GCCTCCCAACCTGTGAGCCTGCATGCTGTGGGGGTGAGCTACTGGAAGGCCTCTGAGGGGGCTGAG
 TATGATGACCAGACCTCCAGAGGGAGAAGGAGGATGACAAAGTGTTCCTGGGGGCAGCCACACC
 TATGTGTGGCAGGTCTCAAGGAGAATGGCCCCATGGCCTCTGACCCACTCTGCCTGACCTACTCC
 TACCTTTCTCATGTGGACCTGGTCAAGGACCTCAACTCTGGACTGATTGGGGCCCTGCTGGTGTGC
 AGGGAGGGCTCCCTGGCCAAAGAGAAGACCCAGACCCTGCACAAGTTCATTCTCCTGTTTGTGTGTC
 TTTGATGAGGGCAAGAGCTGGCACTCTGAAACCAAGAACTCCCTGATGCAGGACAGGGATGCTGCC
 TCTGCCAGGGCCTGGCCCAAGATGCACACTGTGAATGGCTATGTGAACAGGAGCCTGCCTGGACTC
 ATTGGCTGCCACAGGAAATCTGTCTACTGGCATGTGATTGGCATGGGGACAACCCCTGAGGTGCAC
 TCCATTTTCTGGAGGGCCACACCTTCTGGTCAGGAACACAGACAGGCCAGCCTGGAGATCAGC
 CCCATCACCTTCTCACTGCCCAGACCCTGCTGATGGACCTCGGACAGTTCTGCTGTTCTGCCAC
 ATCAGCTCCCAACAGCATGATGGCATGGAGGCCTATGTCAAGGTGGACAGCTGCCCTGAGGAGCCA
 CAGCTCAGGATGAAGAAACATGAGGAGGCTGAGGACTATGATGATGACCTGACTGACTCTGAGATG
 GATGTGGTCCGCTTTGATGATGACAACAGCCCATCCTTCATTGATCAGGTCTGTGGCCAAGAAA
 CACCCCAAGACCTGGGTGCACTACATTGCTGCTGAGGAGGAGGACTGGGACTATGCCCCACTGGTC
 CTGGCCCCCTGATGACAGGAGCTACAAGAGCCAGTACCTCAACAATGGCCCCACAGAGGATTGGACGC
 AAGTACAAGAAAGTCAGGTTTCATGGCCTACACTGATGAAACCTTCAAGACCAGGGAGGCCATTGAG
 CATGAGTCTGGCATCCTGGGCCCCACTCCTGTATGGGGAGGTGGGGGACACCCTGCTCATCATCTTC
 AAGAACCAGGCCTCCAGGCCCTACAACATCTACCCACATGGCATCACTGATGTCAGGCCCTGTAC
 AGCCGCAGGCTGCCAAAGGGGGTGAAACACCTCAAGGACTTCCCCATTCTGCCTGGGGAGATCTTC
 AAGTACAAGTGGACTGTCACTGTGGAGGATGGACCAACCAATCTGACCCAGGTGCCTCACCAGA
 TACTACTCCAGCTTTGTGAACATGGAGAGGGACCTGGCCTCTGGCCTGATTGGCCCACTGCTCATC
 TGCTACAAGGAGTCTGTGGACCAGAGGGGAAACCAGATCATGTCTGACAAGAGGAATGTGATTCTG
 TTCTCTGTCTTTGATGAGAACAGGAGCTGGTACCTGACTGAGAACATTGAGCGCTTCTGCCCCAAC
 CCTGCTGGGGTGCAGCTGGAGGACCCTGAGTTCCAGGCCAGCAACATCATGCACTCCATCAATGGC
 TATGTGTTTGACAGCCTCCAGCTTTCTGTCTGCCTGCATGAGGTGGCCTACTGGTACATTCTTTCT
 ATTGGGGCCAGACTGACTTCCCTTTCTGTCTTCTTCTCTGGCTACACCTTCAAACACAAGATGGTG
 TATGAGGACACCCTGACCTCTTCCCATTTCTCTGGGGAGACTGTGTTTCATGAGCATGGAGAACCCT
 GGCTGTGGATTCTGGGATGCCACAACCTCTGACTTCCGCAACAGGGGCATGACTGCCCTGCTCAAA
 GTCTCCTCCTGTGACAAGAACACTGGGGACTACTATGAGGACAGCTATGAGGACATCTCTGCCTAC
 CTGCTCAGCAAGAACAATACCACCTACGTGAACCGCTCCCTGAGCCAGAATCCACCTGTCTGAAA
 CGCCACCAGAGGGAGATCACCAGGACCACCCTCCAGTCTGACCAGGAGGAGATTGACTATGATGAC
 ACCATTTCTGTGGAGATGAAGAAAGAGGACTTTGACATCTATGACGAGGACGAGAACCAGAGCCCA
 AGGAGCTTCCAGAAGAAGACCAGGCACTACTTCATTGCTGCTGTGGAGCGCCTGTGGGACTATGGC
 ATGAGCTCCAGCCCCCATGTCTCAGGAACAGGGCCCAGTCTGGCTCTGTGCCACAGTTCAAGAAA

(Continuação)

Figura 35A

GTGGTCTTCCAAGAGTTCACCTGATGGCAGCTTCACCCAGCCCCTGTACAGAGGGGAGCTGAATGAG
 CACCTGGGACTCCTGGGCCCATACATCAGGGCTGAGGTGGAGGACAACATCATGGTGACCTTCCGC
 AACCAGGCCTCCAGGCCCTACAGCTTCTACAGCTCCCTCATCAGCTATGAGGAGGACCAGAGGCAG
 GGGGCTGAGCCACGCAAGAACTTTGTGAAACCCAATGAAACCAAGACCTACTTCTGGAAAGTCCAG
 CACCACATGGCCCCCACCAGGATGAGTTTGACTGCAAGGCCTGGGCCTACTTCTCTGATGTGGAC
 CTGGAGAAGGATGTGCACTCTGGCCTGATTGGCCCACTCCTGGTCTGCCACACCAACACCCTGAAC
 CCTGCCCATGGAAGGCAAGTGACTGTGCAGGAGTTTGCCCTCTTCTTCACCATCTTTGATGAAACC
 AAGAGCTGGTACTTCACTGAGAACATGGAGCGCAACTGCAGGGCCCCATGCAACATTCAGATGGAG
 GACCCACCTTCAAAGAGAACTACCGCTTCCATGCCATCAATGGCTACATCATGGACACCCTGCCT
 GGGCTTGTCATGGCCCAGGACCAGAGGATCAGGTGGTACCTGCTTTCTATGGGCTCCAATGAGAAC
 ATTCACCTCCATCCACTTCTCTGGGCATGTCTTCACTGTGCGCAAGAAGGAGGAGTACAAGATGGCC
 CTGTACAACCTCTACCCTGGGGTCTTTGAGACTGTGGAGATGCTGCCCTCCAAAGCTGGCATCTGG
 AGGGTGGAGTGCCCTCATTGGGGAGCACCTGCATGCTGGCATGAGCACCTGTTTCTGGTCTACAGC
 AACAAGTGCCAGACCCCCCTGGGAATGGCCTCTGGCCACATCAGGGACTTCCAGATCACTGCCTCT
 GGCCAGTATGGCCAGTGGGCCCCCAAGCTGGCCAGGCTCCACTACTCTGGATCCATCAATGCCTGG
 AGCACCAAGGAGCCATTTCAGCTGGATCAAAGTGGACCTGCTGGCCCCCATGATCATCCATGGCATC
 AAGACCCAGGGGGCCAGGCAGAAAGTTCTCCAGCCTGTACATCAGCCAGTTCATCATCATGTACAGC
 CTGGATGGCAAGAAATGGCAGACCTACAGAGGCAACTCCACTGGAACACTCATGGTCTTCTTTGGC
 AATGTGGACAGCTCTGGCATCAAGCACAACTCTTCAACCCCCCAATCATCGCCAGATACATCAGG
 CTGCACCCCAACCACTACAGCATCCGCAGCACCCCTCAGGATGGAGCTGATGGGCTGTGACCTGAAC
 TCCTGCAGCATGCCCCCTGGGCATGGAGAGCAAGGCCATTTCTGATGCCCAGATCACTGCCTCCAGC
 TACTTCAACCAACATGTTTGCCACCTGGAGCCCCAAGCAAGGCCAGGCTGCACCTCCAGGGAAGGAGC
 AATGCCTGGAGGCCCCAGGTCAACAACCCAAAGGAGTGGCTGCAGGTGGACTTCCAGAAGACCATG
 AAGGTCACTGGGGTGACCACCCAGGGGGTCAAGAGCCTGCTCACCAGCATGTATGTGAAGGAGTTC
 CTGATCAGCTCCAGCCAGGATGGCCACCAGTGGACCCCTCTTCTTCCAGAATGGCAAGGTCAAGGTG
 TTCCAGGGCAACCAGGACAGCTTCACCCCTGTGGTGAACAGCCTGGACCCCCCCTCCTGACCAGA
 TACCTGAGGATTACCCCCAGAGCTGGGTCCACCAGATTGCCCTGAGGATGGAGGTCTGGGATGT
 GAGGCCAGGACCTGTACTGA (SEQ ID NO: 95)

Figura 35B

CS04m23-FL-NA

ATGCAGATTGAGCTGAGCACCTGCTTCTTCCTGTGCCTGCTGAGGTTCTGCTTCTCTGCCACCAGG
 AGATACTACCTGGGGGCTGTGGAGCTTTCTTGGGACTACATGCAGTCTGACCTGGGGGAGCTGCCT
 GTGGATGCCAGGTTCCCAACCAGAGTGCCCAAATCCTTCCCATTC AACACCTCTGTGGTCTACAAG
 AAGACCTCTTTGTGGAGTTCAGTGAACACCTGTTCAACATTGCCAAACCCAGGGCCACCTGGATG
 GGACTCCTGGGACCCACCATTCAGGCTGAGGTGTATGACACTGTGGTCGTACCCCTCAAGAACATG
 GCCTCCCAACCTGTGAGCCTGCATGCTGTGGGGGTGAGCTACTGGAAGTCCTCTGAGGGGGCTGAG
 TATGATGACCAGACCTCCCAAGAGGAGAAGGAGGATGACAAAGTGTTCCTGGGAAGAGCCACACC
 TATGTGTGGCAGGTCTCAAGGAGAATGGCCCCACTGCCTCTGACCCACCTGCCTGACCTACTCC
 TACCTTTCTCATGTGGACCTGGTCAAGGACCTCAACTCTGGACTGATTGGGGCCCTGCTGGTGTGC
 AGGGAGGGCTCCCTGGCCAAAGAGAAGACCCAGACCTGCACAAGTTCATTCTCCTGTTTGTGTGC
 TTTGATGAGGGCAAGAGCTGGCACTCTGAAACCAAGAACTCCCTGATGCAGGACAGGGATGCTGCC
 TCTGCCAGGGCCTGGCCCAAGATGCACACTGTGAATGGCTATGTGAACAGGAGCCTGCCTGGACTC
 ATTGGCTGCCACAGGAAATCTGTCTACTGGCATGTGATTGGCATGGGGACAACCCCTGAGGTGCAC
 TCCATTTTCTGGAGGGCCACACCTTCCTGGTCAGGAACACAGACAGGCCAGCCTGGAGATCAGC
 CCCATCACCTTCCTCACTGCCAGACCTGCTGATGGACCTCGGACAGTTCCTGCTGTTCTGCCAC
 ATCAGCTCCCAACAGCATGATGGCATGGAGGCCTATGTCAAGGTGGACAGCTGCCCTGAGGAGCCA
 CAGCTCAGGATGAAGAAATGAGGAGGCTGAGGACTATGATGATGACCTGACTGACTCTGAGATG
 GATGTGGTCCGCTTTGATGATGACAACAGCCCATCCTTCATTGATCAGGTCTGTGGCCAAGAAA
 CACCCCAAGACCTGGGTGCACTACATTGCTGCTGAGGAGGAGGACTGGGACTATGCCCCACTGGTC
 CTGGCCCCCTGATGACAGGAGCTACAAGAGCCAGTACCTCAACAATGGCCCCACAGAGGATTGGACGC
 AAGTACAAGAAAGTCAGGTTTCATGGCCTACACTGATGAAACCTTCAAGACCAGGGAGGCCATTGAG
 CATGAGTCTGGCATCCTGGGCCCCACTCCTGTATGGGGAGGTGGGGGACACCCTGCTCATCATCTTC
 AAGAACCAGGCCTCCAGGCCCTACAACATCTACCCACATGGCATCACTGATGTCAGGCCCTGTAC
 AGCCGCAGGCTGCCAAAGGGGGTGAAACACCTCAAGGACTTCCCCATTCTGCCTGGGGAGATCTTC
 AAGTACAAGTGGACTGTCACTGTGGAGGATGGACCAACCAATCTGACCCAGGTGCCTCACCAGA
 TACTACTCCAGCTTTGTGAACATGGAGAGGGACCTGGCCTCTGGCCTGATTGGCCCCACTGCTCATC
 TGCTACAAGGAGTCTGTGGACCAGAGGGGAAACCAGATCATGTCTGACAAGAGGAATGTGATTCTG
 TTCTCTGTCTTTGATGAGAACAGGAGCTGGTACCTGACTGAGAACATTGAGCGCTTCCTGCCCAAC
 CCTGCTGGGGTGACGCTGGAGGACCCTGAGTTCCAGGCCAGCAACATCATGCACTCCATCAATGGC
 TATGTGTTTGACAGCCTCCAGCTTTCTGTCTGCCTGCATGAGGTGGCCTACTGGTACATTCTTTCT
 ATTGGGGCCAGACTGACTTCCTTTCTGTCTTCTTCTCTGGCTACACCTTCAAACACAAGATGGTG
 TATGAGGACACCTGACCTCTTCCCATTTCTCTGGGGAGACTGTGTTTCATGAGCATGGAGAACCCT
 GGCTGTGGATTCTGGGATGCCACAACCTCTGACTTCCGCAACAGGGGCATGACTGCCCTGCTCAAA
 GTCTCCTCCTGTGACAAGAACACTGGGGACTACTATGAGGACAGCTATGAGGACATCTCTGCCTAC
 CTGCTCAGCAAGAACAATACCACCTACGTGAACCGCTCCCTGAGCCAGAATCCACCTGTCCTGAAA
 CGCCACCAGAGGGAGATCACCAGGACCACCCTCCAGTCTGACCAGGAGGAGATTGACTATGATGAC
 ACCATTTCTGTGGAGATGAAGAAAGAGGACTTTGACATCTATGACGAGGACGAGAACCAGAGCCCA
 AGGAGCTTCCAGAAGAAGACCAGGCACTACTTCATTGCTGCTGTGGAGCGCCTGTGGGACTATGGC
 ATGAGCTCCAGCCCCCATGTCTCAGGAACAGGGCCCAGTCTGGCTCTGTGCCACAGTTCAAGAAA

(Continuação)

Figura 36A

GTGGTCTTCCAAGAGTTCACTGATGGCAGCTTCACCCAGCCCCTGTACAGAGGGGAGCTGAATGAG
 CACCTGGGACTCCTGGGCCCATACATCAGGGCTGAGGTGGAGGACAACATCATGGTGACCTTCCGC
 AACCAGGCCTCCAGGCCCTACAGCTTCTACAGCTCCCTCATCAGCTATGAGGAGGACCAGAGGCAG
 GGGGCTGAGCCACGCAAGAAGTTTGTGAAACCCAATGAAACCAAGACCTACTTCTGGAAAGTCCAG
 CACCACATGGCCCCCACCAGGATGAGTTTGACTGCAAGGCCTGGGCCTACTTCTCTGATGTGGAC
 CTGGAGAAGGATGTGCACTCTGGCCTGATTGGCCCACTCCTGGTCTGCCACACCAACACCCTGAAC
 CCTGCCCATGGAAGGCAAGTGACTGTGCAGGAGTTTGCCCTCTTCTTCACCATCTTTGATGAAACC
 AAGAGCTGGTACTTCACTGAGAACATGGAGCGCAACTGCAGGGCCCCATGCAACATTCAGATGGAG
 GACCCACCTTCAAAGAGAACTACCGCTTCCATGCCATCAATGGCTACATCATGGACACCCTGCCT
 GGGCTTGTCATGGCCCAGGACCAGAGGATCAGGTGGTACCTGCTTTCTATGGGCTCCAATGAGAAC
 ATTCACCTCCATCCACTTCTCTGGGCATGTCTTCACTGTGCGCAAGAAGGAGGAGTACAAGATGGCC
 CTGTACAACCTCTACCCTGGGGTCTTTGAGACTGTGGAGATGCTGCCCTCCAAAGCTGGCATCTGG
 AGGGTGGAGTGCTCATTGGGGAGCACCTGCATGCTGGCATGAGCACCTGTTTCTGGTCTACAGC
 AACAAGTGCCAGACCCCCCTGGGAATGGCCTCTGGCCACATCAGGGACTTCCAGATCACTGCCTCT
 GGCCAGTATGGCCAGTGGGCCCCCAAGCTGGCCAGGCTCCACTACTCTGGATCCATCAATGCCTGG
 AGCACCAAGGAGCCATTTCAGCTGGATCAAAGTGGACCTGCTGGCCCCCATGATCATCCATGGCATC
 AAGACCCAGGGGGCCAGGCAGAAAGTTCTCCAGCCTGTACATCAGCCAGTTCATCATCATGTACAGC
 CTGGATGGCAAGAAATGGCAGACCTACAGAGGCAACTCCACTGGAACACTCATGGTCTTCTTTGGC
 AATGTGGACAGCTCTGGCATCAAGCACAACTCTTCAACCCCCCAATCATCGCCAGATACATCAGG
 CTGCACCCCAACCACTACAGCATCCGCAGCACCCCTCAGGATGGAGCTGATGGGCTGTGACCTGAAC
 TCCTGCAGCATGCCCCCTGGGCATGGAGAGCAAGGCCATTTCTGATGCCCAGATCACTGCCTCCAGC
 TACTTACCAACATGTTTGCCACCTGGAGCCCCAAGCAAGGCCAGGCTGCACCTCCAGGGAAGGAGC
 AATGCCTGGAGGCCCCAGGTCAACAACCCAAAGGAGTGGCTGCAGGTGGACTTCCAGAAGACCATG
 AAGGTCACTGGGGTGACCACCCAGGGGGTCAAGAGCCTGCTCACCAGCATGTATGTGAAGGAGTTC
 CTGATCAGCTCCAGCCAGGATGGCCACCAGTGGACCCCTCTTCTTCCAGAATGGCAAGGTCAAGGTG
 TTCCAGGGCAACCAGGACAGCTTCACCCCTGTGGTGAACAGCCTGGACCCCCCTCTTGACCAGA
 TACCTGAGGATTACCCCCAGAGCTGGGTCCACCAGATTGCCCTGAGGATGGAGGTCTGGGATGT
 GAGGCCAGGACCTGTACTGA (SEQ ID NO:96)

Figura 36B

CS04m1-FL-NA

ATGCAGATTGAGCTGAGCACCTGCTTCTTCCTGTGCCTGCTGAGGTTCTGCTTCTCTGCCACCAGG
 AGATACTACCTGGGGGCTGTGGAGCTTTCTTGGGACTACATGCAGTCTGACCTGGGGGAGCTGCCT
 GTGGATGCCAGGTTCCACCCAGAGTGCCCAAATCCTTCCCATTC AACACCTCTGTGGTCTACAAG
 AAGACCTCTTTGTGGAGTTCAGTGAACACCTGTTCAACATTGCCAAACCCAGGGCCACCTGGATG
 GGACTCCTGGGACCCACCATTCAGGCTGAGGTGTATGACACTGTGGTCATCACCTCAAGAACATG
 GCCTCCACCTGTGAGCCTGCATGCTGTGGGGGTGAGCTACTGGAAGGCCTCTGAGGGGGCTGAG
 TATGATGACCAGACCTCCCAGAGGGAGAAGGAGGATGACAAAGTGTTCCTGGGGGCAGCCACACC
 TATGTGTGGCAGGTCCTCAAGGAGAATGGCCCCATGGCCTCTGACCCACTCTGCCTGACCTACTCC
 TACCTTTCTCATGTGGACCTGGTCAAGGACCTCAACTCTGGACTGATTGGGGCCCTGCTGGTGTGC
 AGGGAGGGCTCCCTGGCCAAAGAGAAGACCCAGACCCTGCACAAGTTCATTCTCCTGTTTGTGTGTC
 TTTGATGAGGGCAAGAGCTGGCACTCTGAAACCAAGAACTCCCTGATGCAGGACAGGGATGCTGCC
 TCTGCCAGGGCCTGGCCCAAGATGCACACTGTGAATGGCTATGTGAACAGGAGCCTGCCTGGACTC
 ATTGGCTGCCACAGGAAATCTGTCTACTGGCATGTGATTGGCATGGGGACAACCCCTGAGGTGCAC
 TCCATTTTCTGGAGGGCCACACCTTCCTGGTCAGGAACCACAGACAGGCCAGCCTGGAGATCAGC
 CCCATCACCTTCCTCACTGCCCAGACCCTGCTGATGGACCTCGGACAGTTCTGCTGTCTGCCAC
 ATCAGCTCCACACAGCATGATGGCATGGAGGCCTATGTCAAGGTGGACAGCTGCCCTGAGGAGCCA
 CAGCTCAGGATGAAGAACAATGAGGAGGCTGAGGACTATGATGATGACCTGACTGACTCTGAGATG
 GATGTGGTCCGCTTTGATGATGACAACAGCCCATCCTTCATTGATCAGGTCTGTGGCCAAGAAA
 CACCCCAAGACCTGGGTGCACTACATTGCTGCTGAGGAGGAGGACTGGGACTATGCCCCACTGGTC
 CTGGCCCCCTGATGACAGGAGCTACAAGAGCCAGTACCTCAACAATGGCCCCACAGAGGATTGGACGC
 AAGTACAAGAAAGTCAGGTTTCATGGCCTACACTGATGAAACCTTCAAGACCAGGGAGGCCATTGAG
 CATGAGTCTGGCATCCTGGGCCCCACTCCTGTATGGGGAGGTGGGGGACACCCTGCTCATCATCTTC
 AAGAACCAGGCCTCCAGGCCCTACAACATCTACCCACATGGCATCACTGATGTCAGGCCCTGTAC
 AGCCGCAGGCTGCCAAAGGGGGTGAAACACCTCAAGGACTTCCCCATTCTGCCTGGGGAGATCTTC
 AAGTACAAGTGGACTGTCACTGTGGAGGATGGACCAACCAATCTGACCCAGGTGCCTCACCAGA
 TACTACTCCAGCTTTGTGAACATGGAGAGGGACCTGGCCTCTGGCCTGATTGGCCCCACTGCTCATC
 TGCTACAAGGAGTCTGTGGACCAGAGGGGAAACCAGATCATGTCTGACAAGAGGAATGTGATTCTG
 TTCTCTGTCTTTGATGAGAACAGGAGCTGGTACCTGACTGAGAACATTGAGCGCTTCTGCCCCAAC
 CCTGCTGGGGTGACGCTGGAGGACCCTGAGTTCCAGGCCAGCAACATCATGCACTCCATCAATGGC
 TATGTGTTTGACAGCCTCCAGCTTTCTGTCTGCCTGCATGAGGTGGCCTACTGGTACATTCTTTCT
 ATTGGGGCCAGACTGACTTCCTTTCTGTCTTCTTCTCTGGCTACACCTTCAAACACAAGATGGTG
 TATGAGGACACCTGACCTCTTCCCATTTCTCTGGGGAGACTGTGTTTCATGAGCATGGAGAACCCT
 GGCTGTGGATTCTGGGATGCCACAACCTCTGACTTCCGCAACAGGGGCATGACTGCCCTGCTCAAA
 GTCTCCTCCTGTGACAAGAACACTGGGGACTACTATGAGGACAGCTATGAGGACATCTCTGCCTAC
 CTGCTCAGCAAGAACAATGCCATTGAGCCCAGGAGCTTCAGCCAGAATCCACCTGTCTGAAACGC
 CACCAGAGGGAGATCACCAGGACCACCCTCCAGTCTGACCAGGAGGAGATTGACTATGATGACACC
 ATTTCTGTGGAGATGAAGAAAGAGGACTTTGACATCTATGACGAGGACGAGAACCAGAGCCCCAAGG
 AGCTTCCAGAAGAAGACCAGGCACTACTTCATTGCTGCTGTGGAGCGCCTGTGGGACTATGGCATG
 AGCTCCAGCCCCCATGTCTCAGGAACAGGGCCCAGTCTGGCTCTGTGCCACAGTTCAAGAAAGTG

(Continuação)

Figura 37A

GTCTTCCAAGAGTTCACTGATGGCAGCTTCACCCAGCCCCTGTACAGAGGGGAGCTGAATGAGCAC
 CTGGGACTCCTGGGCCCATACATCAGGGCTGAGGTGGAGGACAACATCATGGTGACCTTCCGCAAC
 CAGGCCTCCAGGCCCTACAGCTTCTACAGCTCCCTCATCAGCTATGAGGAGGACCAGAGGCAGGGG
 GCTGAGCCACGCAAGAACTTTGTGAAACCCAATGAAACCAAGACCTACTTCTGGAAAGTCCAGCAC
 CACATGGCCCCACCAAGGATGAGTTTGACTGCAAGGCCTGGGCCTACTTCTCTGATGTGGACCTG
 GAGAAGGATGTGCACTCTGGCCTGATTGGCCCACTCCTGGTCTGCCACACCAACACCCTGAACCCT
 GCCCATGGAAGGCAAGTGACTGTGCAGGAGTTTGCCCTCTTCTTCACCATCTTTGATGAAACCAAG
 AGCTGGTACTTCACTGAGAACATGGAGCGCAACTGCAGGGCCCCATGCAACATTGAGATGGAGGAC
 CCCACCTTCAAAGAGAACTACCGCTTCCATGCCATCAATGGCTACATCATGGACACCCTGCCTGGG
 CTTGTTCATGGCCCAGGACCAGAGGATCAGGTGGTACCTGCTTTCTATGGGCTCCAATGAGAACATT
 CACTCCATCCACTTCTCTGGGCATGTCTTCACTGTGCGCAAGAAGGAGGAGTACAAGATGGCCCTG
 TACAACCTCTACCCTGGGGTCTTTGAGACTGTGGAGATGCTGCCCTCCAAAGCTGGCATCTGGAGG
 GTGGAGTGCCTCATTGGGGAGCACCTGCATGCTGGCATGAGCACCTGTTCTTGGTCTACAGCAAC
 AAGTGCCAGACCCCCCTGGGAATGGCCTCTGGCCACATCAGGGACTTCCAGATCACTGCCTCTGGC
 CAGTATGGCCAGTGGGCCCCCAAGCTGGCCAGGCTCCACTACTCTGGATCCATCAATGCCTGGAGC
 ACCAAGGAGCCATTGAGCTGGATCAAAGTGGACCTGCTGGCCCCCATGATCATCCATGGCATCAAG
 ACCCAGGGGGGCCAGGCAGAAAGTTCTCCAGCCTGTACATCAGCCAGTTCATCATCATGTACAGCCTG
 GATGGCAAGAAATGGCAGACCTACAGAGGCAACTCCACTGGAACACTCATGGTCTTCTTTGGCAAT
 GTGGACAGCTCTGGCATCAAGCACAACATCTTCAACCCCCCAATCATCGCCAGATACATCAGGCTG
 CACCCCAACCACTACAGCATCCGCAGCACCTCAGGATGGAGCTGATGGGCTGTGACCTGAACTCC
 TGCAGCATGCCCCCTGGGCATGGAGAGCAAGGCCATTTCTGATGCCAGATCACTGCCTCCAGCTAC
 TTCACCAACATGTTTGGCACCTGGAGCCCAAGCAAGGCCAGGCTGCACCTCCAGGGAAGGAGCAAT
 GCCTGGAGGGCCCCAGGTCAACAACCAAGGAGTGGCTGCAGGTGGACTTCCAGAAGACCATGAAG
 GTCATGGGGTGACCACCCAGGGGGTCAAGAGCCTGCTCACCAGCATGTATGTGAAGGAGTTCCTG
 ATCAGCTCCAGCCAGGATGGCCACCAGTGGACCCTCTTCTTCCAGAATGGCAAGGTCAAGGTGTTT
 CAGGGCAACCAGGACAGCTTCACCCCTGTGGTGAACAGCCTGGACCCCCCTCCTGACCAGATAC
 CTGAGGATTACCCCCAGAGCTGGGTCCACCAGATTGCCCTGAGGATGGAGGTCTGGGATGTGAG
 GCCCAGGACCTGTACTGA (SEQ ID NO:97)

Figura 37B

CS04m13-FL-NA

ATGCAGATTGAGCTGAGCACCTGCTTCTTCCTGTGCCTGCTGAGGTTCTGCTTCTCTGCCACCAGG
 AGATACTACCTGGGGGCTGTGGAGCTTTCTTGGGACTACATGCAGTCTGACCTGGGGGAGCTGCCT
 GTGGATGCCAGGTTCCCAACCAGAGTGCCCAAATCCTTCCCATTC AACACCTCTGTGGTCTACAAG
 AAGACCTCTTTGTGGAGTTCACTGACCACCTGTTCAACATTGCCAAACCCAGGGCCACCTGGATG
 GGACTCCTGGGACCCACCATTCAGGCTGAGGTGTATGACACTGTGGTCATCACCTCAAGAACATG
 GCCTCCCAACCTGTGAGCCTGCATGCTGTGGGGGTGAGCTACTGGAAGGCCTCTGAGGGGGCTGAG
 TATGATGACCAGACCTCCAGAGGGAGAAGGAGGATGACAAAGTGTTCCTGGGGGCAGCCACACC
 TATGTGTGGCAGGTCCTCAAGGAGAATGGCCCCATGGCCTCTGACCCACTCTGCCTGACCTACTCC
 TACCTTTCTCATGTGGACCTGGTCAAGGACCTCAACTCTGGACTGATTGGGGCCCTGCTGGTGTGC
 AGGGAGGGCTCCCTGGCCAAAGAGAAGACCCAGACCCTGCACAAGTTCATTCTCCTGTTTGTGTGTC
 TTTGATGAGGGCAAGAGCTGGCACTCTGAAACCAAGAACTCCCTGATGCAGGACAGGGATGCTGCC
 TCTGCCAGGGCCTGGCCCAAGATGCACACTGTGAATGGCTATGTGAACAGGAGCCTGCCTGGACTC
 ATTGGCTGCCACAGGAAATCTGTCTACTGGCATGTGATTGGCATGGGGACAACCCCTGAGGTGCAC
 TCCATTTTCTGGAGGGCCACACCTTCCTGGTCAGGAACCACAGACAGGCCAGCCTGGAGATCAGC
 CCCATCACCTTCCTCACTGCCCAGACCCTGCTGATGGACCTCGGACAGTTCTGCTGTCTGCCAC
 ATCAGCTCCCAACAGCATGATGGCATGGAGGCCTATGTCAAGGTGGACAGCTGCCCTGAGGAGCCA
 CAGCTCAGGATGAAGAAATGAGGAGGCTGAGGACTATGATGATGACCTGACTGACTCTGAGATG
 GATGTGGTCCGCTTTGATGATGACAACAGCCCATCCTTCATTGATCAGGTCTGTGGCCAAGAAA
 CACCCCAAGACCTGGGTGCACTACATTGCTGCTGAGGAGGAGGACTGGGACTATGCCCCACTGGTC
 CTGGCCCCCTGATGACAGGAGCTACAAGAGCCAGTACCTCAACAATGGCCCCACAGAGGATTGGACGC
 AAGTACAAGAAAGTCAGGTTTCATGGCCTACACTGATGAAACCTTCAAGACCAGGGAGGCCATTGAG
 CATGAGTCTGGCATCCTGGGCCCCACTCCTGTATGGGGAGGTGGGGGACACCCTGCTCATCATCTTC
 AAGAACCAGGCCTCCAGGCCCTACAACATCTACCCACATGGCATCACTGATGTCAGGCCCTGTAC
 AGCCGCAGGCTGCCAAAGGGGGTGAAACACCTCAAGGACTTCCCCATTCTGCCTGGGGAGATCTTC
 AAGTACAAGTGGACTGTCACTGTGGAGGATGGACCAACCAATCTGACCCAGGTGCCTCACCAGA
 TACTACTCCAGCTTTGTGAACATGGAGAGGGACCTGGCCTCTGGCCTGATTGGCCCACTGCTCATC
 TGCTACAAGGAGTCTGTGGACCAGAGGGGAAACCAGATCATGTCTGACAAGAGGAATGTGATTCTG
 TTCTCTGTCTTTGATGAGAACAGGAGCTGGTACCTGACTGAGAACATTGAGCGCTTCTGCCCCAAC
 CCTGCTGGGGTGACGCTGGAGGACCCTGAGTTCCAGGCCAGCAACATCATGCACTCCATCAATGGC
 TATGTGTTTGACAGCCTCCAGCTTTCTGTCTGCCTGCATGAGGTGGCCTACTGGTACATTCTTTCT
 ATTGGGGCCAGACTGACTTCCCTTTCTGTCTTCTTCTCTGGCTACACCTTCAAACACAAGATGGTG
 TATGAGGACACCCTGACCTCTTCCCATTTCTCTGGGGAGACTGTGTTTCATGAGCATGGAGAACCCT
 GGCTGTGGATTCTGGGATGCCACAACCTCTGACTTCCGCAACAGGGGCATGACTGCCCTGCTCAAA
 GTCTCCTCCTGTGACAAGAACACTGGGGACTACTATGAGGACAGCTATGAGGACATCTCTGCCTAC
 CTGCTCAGCAAGAACAATACCACCTACGTGAACCGCTCCCTGAGCCAGAATCCACCTGTCTGAAA
 CGCCACCAGAGGGAGATCACCAGGACCACCCTCCAGTCTGACCAGGAGGAGATTGACTATGATGAC
 ACCATTTCTGTGGAGATGAAGAAAGAGGACTTTGACATCTATGACGAGGACGAGAACCAGAGCCCA
 AGGAGCTTCCAGAAGAAGACCAGGCACTACTTCATTGCTGCTGTGGAGCGCCTGTGGGACTATGGC
 ATGAGCTCCAGCCCCCATGTCTCAGGAACAGGGCCCAGTCTGGCTCTGTGCCACAGTTCAAGAAA

(Continuação)

Figura 38A

GTGGTCTTCCAAGAGTTCACTGATGGCAGCTTCACCCAGCCCCTGTACAGAGGGGAGCTGAATGAG
 CACCTGGGACTCCTGGGCCCATACATCAGGGCTGAGGTGGAGGACAACATCATGGTGACCTTCCGC
 AACCAGGCCTCCAGGCCCTACAGCTTCTACAGCTCCCTCATCAGCTATGAGGAGGACCAGAGGCAG
 GGGGCTGAGCCACGCAAGAAGTCTTGTGAAACCCAATGAAACCAAGACCTACTTCTGGAAAGTCCAG
 CACCACATGGCCCCCACCAGGATGAGTTTGACTGCAAGGCCTGGGCCTACTTCTCTGATGTGGAC
 CTGGAGAAGGATGTGCACTCTGGCCTGATTGGCCCACTCCTGGTCTGCCACACCAACACCCTGAAC
 CCTGCCCATGGAAGGCAAGTGACTGTGCAGGAGTTTGCCCTCTTCTTCACCATCTTTGATGAAACC
 AAGAGCTGGTACTTCACTGAGAACATGGAGCGCAACTGCAGGGCCCCATGCAACATTCAGATGGAG
 GACCCACCTTCAAAGAGAACTACCGCTTCCATGCCATCAATGGCTACATCATGGACACCCTGCCT
 GGGCTTGTCATGGCCCAGGACCAGAGGATCAGGTGGTACCTGCTTTCTATGGGCTCCAATGAGAAC
 ATTCACCTCCATCCACTTCTCTGGGCATGTCTTCACTGTGCGCAAGAAGGAGGAGTACAAGATGGCC
 CTGTACAACCTCTACCCTGGGGTCTTTGAGACTGTGGAGATGCTGCCCTCCAAAGCTGGCATCTGG
 AGGGTGGAGTGCCCTCATTGGGGAGCACCTGCATGCTGGCATGAGCACCTGTTTCTGGTCTACAGC
 AACAAGTGCCAGACCCCCCTGGGAATGGCCTCTGGCCACATCAGGGACTTCCAGATCACTGCCTCT
 GGCCAGTATGGCCAGTGGGCCCCCAAGCTGGCCAGGCTCCACTACTCTGGATCCATCAATGCCTGG
 AGCACCAAGGAGCCATTTCAGCTGGATCAAAGTGGACCTGCTGGCCCCCATGATCATCCATGGCATC
 AAGACCCAGGGGGCCAGGCAGAAAGTCTCCAGCCTGTACATCAGCCAGTTCATCATCATGTACAGC
 CTGGATGGCAAGAAATGGCAGACCTACAGAGGCAACTCCACTGGAACACTCATGGTCTTCTTTGGC
 AATGTGGACAGCTCTGGCATCAAGCACAACTCTTCAACCCCCCAATCATCGCCAGATACATCAGG
 CTGCACCCCAACCACTACAGCATCCGCAGCACCCCTCAGGATGGAGCTGATGGGCTGTGACCTGAAC
 TCCTGCAGCATGCCCCCTGGGCATGGAGAGCAAGGCCATTTCTGATGCCCAGATCACTGCCTCCAGC
 TACTTCAACCAACATGTTTGCCACCTGGAGCCCCAAGCAAGGCCAGGCTGCACCTCCAGGGAAGGAGC
 AATGCCTGGAGGCCCCAGGTCAACAACCCAAAGGAGTGGCTGCAGGTGGACTTCCAGAAGACCATG
 AAGGTCACTGGGGTGACCACCCAGGGGGTCAAGAGCCTGCTCACCAGCATGTATGTGAAGGAGTTC
 CTGATCAGCTCCAGCCAGGATGGCCACCAGTGGACCCCTCTTCTTCCAGAATGGCAAGGTCAAGGTG
 TTCCAGGGCAACCAGGACAGCTTCACCCCTGTGGTGAACAGCCTGGACCCCCCCTCCTGACCAGA
 TACCTGAGGATTACCCCCAGAGCTGGGTCCACCAGATTGCCCTGAGGATGGAGGTCTGGGATGT
 GAGGCCAGGACCTGTACTGA (SEQ ID NO: 98)

Figura 38B

CS23m13-FL-NA

ATGCAGATTGAGCTGAGCACCTGCTTCTTCCTGTGCCTGCTGAGGTTCTGCTTCTCTGCCACCAGG
 AGATACTACCTGGGCGCCGTGGAGCTGAGCTGGGACTACATGCAGTCTGACCTGGGCGAGCTGCCT
 GTGGACGCCAGGTTCCCCCCCAGAGTGCCCCAAGAGCTTCCCCTTCAACACCTCAGTGGTGTACAAG
 AAGACCCTGTTTCGTGGAGTTCACCGACCACCTGTTCAACATCGCCAAGCCCAGGCCCCCTGGATG
 GGCCTGCTGGGCCCCACCATCCAGGCCGAGGTGTACGACACCGTGGTGATCACCTGAAGAACATG
 GCCAGCCACCCCGTGAGCCTGCACGCCGTGGGCGTGAGCTACTGGAAGGCCTCTGAGGGCGCCGAG
 TATGACGACCAGACCAGCCAGAGGGAGAAGGAGGACGACAAGGTGTTCCCCGGCGGCAGCCACACC
 TACGTGTGGCAGGTGCTGAAGGAGAACGGCCCCATGGCCAGCGACCCCTGTGCCTGACCTACAGC
 TACCTGAGCCACGTGGACCTGGTGAAGGACCTGAACTCTGGCCTGATCGGCGCCCTGCTGGTGTGC
 AGGGAGGGCAGCCTGGCCAAGGAGAAGACCCAGACCCTGCACAAGTTTCATCCTGCTGTTTCGCGTG
 TTTCGATGAGGGCAAGAGCTGGCACAGCGAGACCAAGAACAGCCTGATGCAGGACAGGGATGCCGCC
 TCTGCCAGGGCCTGGCCCAAGATGCACACCGTGAACGGCTACGTGAACAGGAGCCTGCCCGGCTG
 ATCGGCTGCCACAGGAAGTCTGTGTACTGGCACGTGATCGGCATGGGCACCAACCCCGAGGTGCAC
 AGCATCTTCCTGGAGGGCCACACCTTCCTGGTGAGGAACACAGGCAGGCCAGCCTGGAGATCAGC
 CCCATCACCTTCCTGACCGCCCAGACCCTGCTGATGGACCTGGGCCAGTTCTGCTGTCTGCCAC
 ATCAGCAGCCACCAGCACGACGGCATGGAGGCCTACGTGAAGGTGGACAGCTGCCCCGAGGAGCCC
 CAGCTGAGGATGAAGAACAACGAGGAGGCCGAGGACTATGATGATGACCTGACCGACTCTGAGATG
 GACGTGGTGAGGTTTGATGATGACAACAGCCCCAGCTTCATCCAGATCAGGTCTGTGGCCAAGAAG
 CACCCCAAGACCTGGGTGCACTACATCGCCGCCGAGGAGGAGGACTGGGACTACGCCCCCTGGTG
 CTGGCCCCCGACGACAGGAGCTACAAGAGCCAGTACCTGAACAACGGCCCCCAGAGGATCGGCAGG
 AAGTACAAGAAGGTGAGATTTCATGGCCTACACCGACGAGACCTTCAAGACCAGGGAGGCCATCCAG
 CACGAGTCTGGCATCCTGGGCCCCCTGCTGTACGGCGAGGTGGGCGACACCCTGCTGATCATCTTC
 AAGAACCAGGCCAGCAGGCCCTACAACATCTACCCCCACGGCATCACCGATGTGAGGCCCTGTAC
 AGCAGGAGGCTGCCCCAAGGGCGTGAAGCACCTGAAGGACTTCCCCATCCTGCCCGGCGAGATCTTC
 AAGTACAAGTGGACCGTGACCGTGGAGGATGGCCCCACCAAGTCTGACCCAGGTGCCTGACCAGG
 TACTACAGCAGCTTCGTGAACATGGAGAGGGACCTGGCCTCTGGCCTGATCGGCCCCCTGCTGATC
 TGCTACAAGGAGAGCGTGGACCAGAGGGGCAACCAGATCATGTCTGACAAGAGGAACGTGATCCTG
 TTCTCTGTGTTTCGATGAGAACAGGAGCTGGTATCTGACCGAGAACATCCAGAGGTTCTGCCCAAC
 CCCGCCGGCGTGACGCTGGAGGACCCCGAGTTCCAGGCCAGCAACATCATGCACAGCATCAACGGC
 TACGTGTTTCGACAGCCTGCAGCTGTCTGTGTGCTGCACGAGGTGGCCTACTGGTACATCCTGAGC
 ATCGGCGCCCAGACCGACTTCCTGTCTGTGTTCTTCTCTGGCTACACCTTCAAGCACAAGATGGTG
 TACGAGGACACCTGACCTGTTCCCCCTTCAGCGGCGAGACCGTGTTCATGAGCATGGAGAACCCC
 GGCTGTGGATCCTGGGCTGCCACAACAGCGACTTCAGGAACAGGGGCATGACCGCCCTGCTGAAA
 GTCAGCAGCTGCGACAAGAACACCGGCGACTACTACGAGGACAGCTACGAGGACATCAGCGCCTAC
 CTGCTGAGCAAGAACAACACCACCTACGTGAACCGCTCCCTGAGCCAGAACCCCCCGTGTGAAG
 AGGCACCAGAGGGAGATCACCAGGACCACCTGCAGAGCGACCAGGAGGAGATCGACTATGATGAC
 ACCATCAGCGTGGAGATGAAGAAGGAGGACTTCGACATCTACGACGAGGACGAGAACCAGAGCCCC
 AGGAGCTTCCAGAAGAAGACCAGGCACTACTTCATCGCCGCCGTGGAGAGGCTGTGGGACTATGGC
 ATGAGCAGCAGCCCCACGTGCTGAGGAACAGGGCCCAGAGCGGCAGCGTGCCCCAGTTCAAGAAG

(Continuação)

Figura 39A

GTGGTGTTCAGGAGTTCACCGACGGCAGCTTCACCCAGCCCCTGTACAGAGGCGAGCTGAACGAG
 CACCTGGGCCTGCTGGGCCCCCTACATCAGGGCCGAGGTGGAGGACAACATCATGGTGACCTTCAGG
 AACCAGGCCAGCAGGCCCTACAGCTTCTACAGCAGCCTGATCAGCTACGAGGAGGACCAGAGGCAG
 GGCGCCGAGCCCAGGAAGAACTTCGTGAAGCCCAACGAGACCAAGACCTACTTCTGGAAGGTGCAG
 CACCACATGGCCCCCACCAGGACGAGTTCGACTGCAAGGCCTGGGCCTACTTCTCTGATGTGGAC
 CTGGAGAAGGACGTGCACAGCGGCCTGATCGGCCCCCTGCTGGTGTGCCACACCAACACCCTGAAC
 CCCGCCCACGGCAGGCAGGTGACCGTGCAGGAGTTCGCCCTGTTCTTCACCATCTTCGACGAGACC
 AAGAGCTGGTACTTCACCGAGAACATGGAGAGGAACTGCAGGGCCCCCTGCAACATCCAGATGGAG
 GACCCACCTTCAAGGAGAACTACAGGTTCCACGCCATCAACGGCTACATCATGGACACCCTGCCC
 GGCCTGGTGATGGCCCAGGACCAGAGGATCAGGTGGTATCTGCTGAGCATGGGCAGCAACGAGAAC
 ATCCACAGCATCCACTTCAGCGGCCACGTGTTCCACCGTGAGGAAGAAGGAGGAGTACAAGATGGCC
 CTGTACAACCTGTACCCCGGCGTGTTCCGAGACCGTGAGATGCTGCCCAGCAAGGCCGGCATCTGG
 AGGGTGGAGTGCTGATCGGCGAGCACCTGCACGCCGGCATGAGCACCTGTTCTTGGTGTACAGC
 AACAAGTGCCAGACCCCCCTGGGCATGGCCAGCGGCCACATCAGGGACTTCCAGATCACCGCCTCT
 GGCCAGTACGGCCAGTGGGCCCCCAAGCTGGCCAGGCTGCACTACAGCGGCAGCATCAACGCCTGG
 AGCACCAAGGAGCCCTTCAGCTGGATCAAGGTGGACCTGCTGGCCCCCATGATCATCCACGGCATC
 AAGACCCAGGGCGCCAGGCAGAAAGTTCAGCAGCCTGTACATCAGCCAGTTCATCATCATGTACAGC
 CTGGACGGCAAGAAGTGGCAGACCTACAGGGGCAACAGCACCGGCACCCTGATGGTGTCTTCGGC
 AACGTGGACAGCAGCGGCATCAAGCACAACTCTTCAACCCCCCATCATCGCCAGGTACATCAGG
 CTGCACCCCCACCACTACAGCATCAGGAGCACCTGCGGATGGAAGTATGGGCTGCGACCTGAAC
 AGCTGCAGCATGCCCCCTGGGCATGGAGAGCAAGGCCATCTCTGACGCCCAGATCACCGCCAGCAGC
 TACTTCACCAACATGTTTCGCCACCTGGAGCCCCAGCAAGGCCAGGCTGCACCTGCAGGGCAGGAGC
 AACGCCTGGAGGCCCCAGGTGAACAACCCCAAGGAGTGGCTGCAGGTGGACTTCCAGAAGACCATG
 AAGGTGACCGGCGTGACCACCCAGGGCGTGAAGAGCCTGCTGACCAGCATGTACGTGAAGGAGTTC
 CTGATCAGCAGCAGCCAGGACGGCCACCAGTGGACCTGTTCTTCCAGAACGGCAAAGTGAAGGTG
 TTCCAGGGCAACCAGGACAGCTTCACCCCCGTGGTGAACAGCCTGGACCCCCCCTGCTGACCAGG
 TATCTGAGGATCCACCCCCAGAGCTGGGTGCACCAGATCGCCCTGAGAATGGAAGTGTGGGATGC
 GAGGCCAGGACCTGTACTGA (SEQ ID NO: 99)

Figura 39B

CS23m3-FL-NA

ATGCAGATTGAGCTGAGCACCTGCTTCTTCCTGTGCCTGCTGAGGTTCTGCTTCTCTGCCACCAGG
 AGATACTACCTGGGCGCCGTGGAGCTGAGCTGGGACTACATGCAGTCTGACCTGGGCGAGCTGCCT
 GTGGACGCCAGGTTCCCCCCCAGAGTGCCCAAGAGCTTCCCCTTCAACACCTCAGTGGTGTACAAG
 AAGACCCTGTTTCGTGGAGTTCACCGACCACCTGTTCAACATCGCCAAGCCCAGGCCCCCTGGATG
 GGCCTGCTGGGCCCCACCATCCAGGCCGAGGTGTACGACACCGTGGTGATCACCTGAAGAACATG
 GCCAGCCACCCCGTGAGCCTGCACGCCGTGGGCGTGAGCTACTGGAAGGCCTCTGAGGGCGCCGAG
 TATGACGACCAGACCAGCCAGAGGGAGAAGGAGGACGACAAGGTGTTCCCGGGCGGCAGCCACACC
 TACGTGTGGCAGGTGCTGAAGGAGAACGGCCCCATGGCCAGCGACCCCTGTGCCTGACCTACAGC
 TACCTGAGCCACGTGGACCTGGTGAAGGACCTGAACTCTGGCCTGATCGGCGCCCTGCTGGTGTGC
 AGGGAGGGCAGCCTGGCCAAGGAGAAGACCCAGACCCTGCACAAGTTCATCCTGCTGTTTCGCGTG
 TTTCGATGAGGGCAAGAGCTGGCACAGCGAGACCAAGAACAGCCTGATGCAGGACAGGGATGCCGCC
 TCTGCCAGGGCCTGGCCCAAGATGCACACCGTGAACGGCTACGTGAACAGGAGCCTGCCCGGCTG
 ATCGGCTGCCACAGGAAGTCTGTGTACTGGCACGTGATCGGCATGGGCACCAACCCCGAGGTGCAC
 AGCATCTTCCTGGAGGGCCACACCTTCCTGGTGAGGAACACAGGCAGGCCAGCCTGGAGATCAGC
 CCCATCACCTTCCTGACCGCCCAGACCCTGCTGATGGACCTGGGCCAGTTCTGCTGTTCTGCCAC
 ATCAGCAGCCACCAGCACGACGGCATGGAGGCCTACGTGAAGGTGGACAGCTGCCCCGAGGAGCCC
 CAGCTGAGGATGAAGAACAACGAGGAGGCCGAGGACTATGATGATGACCTGACCGACTCTGAGATG
 GACGTGGTGAGGTTTGATGATGACAACAGCCCCAGCTTCATCCAGATCAGGTCTGTGGCCAAGAAG
 CACCCCAAGACCTGGGTGCACTACATCGCCGCCGAGGAGGAGGACTGGGACTACGCCCCCTGGTG
 CTGGCCCCCGACGACAGGAGCTACAAGAGCCAGTACCTGAACAACGGCCCCCAGAGGATCGGCAGG
 AAGTACAAGAAGGTGAGATTTCATGGCCTACACCGACGAGACCTTCAAGACCAGGGAGGCCATCCAG
 CACGAGTCTGGCATCCTGGGCCCCCTGCTGTACGGCGAGGTGGGCGACACCCTGCTGATCATCTTC
 AAGAACCAGGCCAGCAGGCCCTACAACATCTACCCCCACGGCATCACCGATGTGAGGCCCTGTAC
 AGCAGGAGGCTGCCCCAAGGGCGTGAAGCACCTGAAGGACTTCCCCATCCTGCCCGGCGAGATCTTC
 AAGTACAAGTGGAACCGTGACCGTGGAGGATGGCCCCACCAAGTCTGACCCAGGTGCCTGACCAGG
 TACTACAGCAGCTTCGTGAACATGGAGAGGGACCTGGCCTCTGGCCTGATCGGCCCCCTGCTGATC
 TGCTACAAGGAGAGCGTGGACCAGAGGGGCAACCAGATCATGTCTGACAAGAGGAACGTGATCCTG
 TTCTCTGTGTTTCGATGAGAACAGGAGCTGGTATCTGACCGAGAACATCCAGAGGTTCTGCCCAAC
 CCCGCCGGCGTGACGCTGGAGGACCCCGAGTTCCAGGCCAGCAACATCATGCACAGCATCAACGGC
 TACGTGTTTCGACAGCCTGCAGCTGTCTGTGTGCCTGCACGAGGTGGCCTACTGGTACATCCTGAGC
 ATCGGCGCCCAGACCGACTTCCTGTCTGTGTTCTTCTCTGGCTACACCTTCAAGCACAAGATGGTG
 TACGAGGACACCCTGACCTGTTCCCCCTTCAGCGGCGAGACCGTGTTCATGAGCATGGAGAACCCC
 GGCTGTGGATCCTGGGCTGCCACAACAGCGACTTCAGGAACAGGGGCATGACCGCCCTGCTGAAA
 GTCAGCAGCTGCGACAAGAACACCGGCGACTACTACGAGGACAGCTACGAGGACATCAGCGCCTAC
 CTGCTGAGCAAGAACAACACCACCTACGTGAACCGCTCCCTGAGCCAGAACCCCCCGTGTGAAG
 AGGCACCAGAGGGAGATCACCGAGACCACCTGCAGAGCGACCAGGAGGAGATCGACTATGATGAC
 ACCATCAGCGTGGAGATGAAGAAGGAGGACTTCGACATCTACGACGAGGACGAGAACCAGAGCCCC
 AGGAGCTTCCAGAAGAAGACAGGCACTACTTCATCGCCGCCGTGGAGAGGCTGTGGGACTATGGC
 ATGAGCAGCAGCCCCACGTGCTGAGGAACAGGGCCCAGAGCGGCAGCGTGCCCCAGTTCAAGAAG

(Continuação)

Figura 40A

GTGGTGTTCAGGAGTTCACCGACGGCAGCTTCACCCAGCCCCTGTACAGAGGCGAGCTGAACGAG
 CACCTGGGCCTGCTGGGCCCCCTACATCAGGGCCGAGGTGGAGGACAACATCATGGTGACCTTCAGG
 AACCAGGCCAGCAGGCCCCCTACAGCTTCTACAGCAGCCTGATCAGCTACGAGGAGGACCAGAGGCAG
 GGCGCCGAGCCCAGGAAGAACTTCGTGAAGCCCAACGAGACCAAGACCTACTTCTGGAAGGTGCAG
 CACCACATGGCCCCCACCAGGACGAGTTCGACTGCAAGGCCTGGGCCTACTTCTCTGATGTGGAC
 CTGGAGAAGGACGTGCACAGCGGCCTGATCGGCCCCCTGCTGGTGTGCCACACCAACACCCTGAAC
 CCCGCCCACGGCAGGCAGGTGACCGTGCAGGAGTTCGCCCTGTTCTTCACCATCTTCGACGAGACC
 AAGAGCTGGTACTTCACCGAGAACATGGAGAGGAACTGCAGGGCCCCCTGCAACATCCAGATGGAG
 GACCCACCTTCAAGGAGAACTACAGGTTCCACGCCATCAACGGCTACATCATGGACACCCTGCCC
 GGCTGGTGATGGCCCAGGACCAGAGGATCAGGTGGTATCTGCTGAGCATGGGCAGCAACGAGAAC
 ATCCACAGCATCCACTTCAGCGGCCACGTGTTCCACCGTGAGGAAGAAGGAGGAGTACAAGATGGCC
 CTGTACAACCTGTACCCCGGCGTGTTTCGAGACCGTGAGATGCTGCCCAGCAAGGCCGGCATCTGG
 AGGGTGGAGTGCTGATCGGCGAGCACCTGCACGCCGGCATGAGCACCTGTTCTTGGTGTACAGC
 AACAAGTGCCAGACCCCCCTGGGCATGGCCAGCGGCCACATCAGGGACTTCCAGATCACCGCCTCT
 GGCCAGTACGGCCAGTGGGCCCCCAAGCTGGCCAGGCTGCACTACAGCGGCAGCATCAACGCCTGG
 AGCACCAAGGAGCCCCCTCAGCTGGATCAAGGTGGACCTGCTGGCCCCCATGATCATCCACGGCATC
 AAGACCCAGGGCGCCAGGCAGAAAGTTCAGCAGCCTGTACATCAGCCAGTTCATCATCATGTACAGC
 CTGGACGGCAAGAAGTGGCAGACCTACAGGGGCAACAGCACCGGCACCCTGATGGTGTCTTCGGC
 AACGTGGACAGCAGCGGCATCAAGCACAACTCTTCAACCCCCCATCATCGCCAGGTACATCAGG
 CTGCACCCCAACCACTACAGCATCAGGAGCACCTGCGGATGGAAGTGTGGGCTGCGACCTGAAC
 AGCTGCAGCATGCCCCCTGGGCATGGAGAGCAAGGCCATCTCTGACGCCCAGATCACCGCCAGCAGC
 TACTTCACCAACATGTTTCGCCACCTGGAGCCCCAGCAAGGCCAGGCTGCACCTGCAGGGCAGGAGC
 AACGCCTGGAGGCCCCAGGTGAACAACCCCAAGGAGTGGCTGCAGGTGGACTTCCAGAAGACCATG
 AAGGTGACCGGCGTGACCACCCAGGGCGTGAAGAGCCTGCTGACCAGCATGTACGTGAAGGAGTTC
 CTGATCAGCAGCAGCCAGGACGGCCACCAAGTGGACCTGTTCTTCCAGAACGGCAAAGTGAAGGTG
 TTCCAGGGCAACCAGGACAGCTTCACCCCGTGGTGAACAGCCTGGACCCCCCTGCTGACCAGG
 TATCTGAGGATCCACCCCAAGAGCTGGGTGCACCAGATCGCCCTGAGAATGGAAGTGTGGGATGC
 GAGGCCAGGACCTGTACTGA (SEQ ID NO:100)

Figura 40B

CS23m2-FL-NA

ATGCAGATTGAGCTGAGCACCTGCTTCTTCCTGTGCCTGCTGAGGTTCTGCTTCTCTGCCACCAGG
 AGATACTACCTGGGCGCCGTGGAGCTGAGCTGGGACTACATGCAGTCTGACCTGGGCGAGCTGCCT
 GTGGACGCCAGGTTCCCCCCCAGAGTGCCCAAGAGCTTCCCCCTTCAACACCTCAGTGGTGTACAAG
 AAGACCTGTTCGTGGAGTTCACCGACCACCTGTTCAACATCGCCAAGCCCAGGCCCCCTGGATG
 GGCCTGCTGGGCCCCACCATCCAGGCCGAGGTGTACGACACCGTGGTGGTCACCCTGAAGAACATG
 GCCAGCCACCCCGTGAGCCTGCACGCCGTGGGCGTGAGCTACTGGAAGTCTCTGAGGGCGCCGAG
 TATGACGACCAGACCAGCCAGAGGGAGAAGGAGGACGACAAGGTGTTCCCCGGCAAGAGCCACACC
 TACGTGTGGCAGGTGCTGAAGGAGAACGGCCCCACTGCCAGCGACCCCCCTGCCTGACCTACAGC
 TACCTGAGCCACGTGGACCTGGTGAAGGACCTGAACTCTGGCCTGATCGGCGCCCTGCTGGTGTGC
 AGGGAGGGCAGCCTGGCCAAGGAGAAGACCCAGACCCTGCACAAGTTCATCCTGCTGTTTCGCGTG
 TTTCGATGAGGGCAAGAGCTGGCACAGCGAGACCAAGAACAGCCTGATGCAGGACAGGGATGCCGCC
 TCTGCCAGGGCCTGGCCCAAGATGCACACCGTGAACGGCTACGTGAACAGGAGCCTGCCCGGCTG
 ATCGGCTGCCACAGGAAGTCTGTGTACTGGCACGTGATCGGCATGGGCACCACCCCCGAGGTGCAC
 AGCATCTTCCTGGAGGGCCACACCTTCCTGGTGAGGAACCACAGGCAGGCCAGCCTGGAGATCAGC
 CCCATCACCTTCCTGACCGCCCAGACCCTGCTGATGGACCTGGGCCAGTTCTGCTGTTCTGCCAC
 ATCAGCAGCCACCAGCACGACGGCATGGAGGCCTACGTGAAGGTGGACAGCTGCCCCGAGGAGCCC
 CAGCTGAGGATGAAGAACAACGAGGAGGCCGAGGACTATGATGATGACCTGACCGACTCTGAGATG
 GACGTGGTGAGGTTTGATGATGACAACAGCCCCAGCTTCATCCAGATCAGGTCTGTGGCCAAGAAG
 CACCCCAAGACCTGGGTGCACTACATCGCCGCCGAGGAGGAGGACTGGGACTACGCCCCCTGGTG
 CTGGCCCCCGACGACAGGAGCTACAAGAGCCAGTACCTGAACAACGGCCCCCAGAGGATCGGCAGG
 AAGTACAAGAAGGTGAGATTTCATGGCCTACACCGACGAGACCTTCAAGACCAGGGAGGCCATCCAG
 CACGAGTCTGGCATCCTGGGCCCCCTGCTGTACGGCGAGGTGGGCGACACCCTGCTGATCATCTTC
 AAGAACCAGGCCAGCAGGCCCTACAACATCTACCCCCACGGCATCACCGATGTGAGGCCCTGTAC
 AGCAGGAGGCTGCCCCAAGGGCGTGAAGCACCTGAAGGACTTCCCCATCCTGCCCGGCGAGATCTTC
 AAGTACAAGTGACCGTGACCGTGGAGGATGGCCCCACCAAGTCTGACCCAGGTGCCTGACCAGG
 TACTACAGCAGCTTCGTGAACATGGAGAGGGACCTGGCCTCTGGCCTGATCGGCCCCCTGCTGATC
 TGCTACAAGGAGAGCGTGGACCAGAGGGGCAACCAGATCATGTCTGACAAGAGGAACGTGATCCTG
 TTCTCTGTGTTTCGATGAGAACAGGAGCTGGTATCTGACCGAGAACATCCAGAGGTTCTGCCCAAC
 CCGCGCGCGTGCAGCTGGAGGACCCCGAGTTCCAGGCCAGCAACATCATGCACAGCATCAACGGC
 TACGTGTTTCGACAGCCTGCAGCTGTCTGTGTGCTGCACGAGGTGGCCTACTGGTACATCCTGAGC
 ATCGGCGCCCAGACCGACTTCCTGTCTGTGTTCTTCTCTGGCTACACCTTCAAGCACAAGATGGTG
 TACGAGGACACCTGACCTGTTCCCCCTTCAGCGGCGAGACCGTGTTCATGAGCATGGAGAACCCC
 GGCTGTGGATCCTGGGCTGCCACAACAGCGACTTCAGGAACAGGGGCATGACCGCCCTGCTGAAA
 GTCAGCAGCTGCGACAAGAACACCGGCGACTACTACGAGGACAGCTACGAGGACATCAGCGCCTAC
 CTGCTGAGCAAGAACAACGCCATCGAGCCCAGGAGCTTCAGCCAGAACCCCCCGTGTGAAGAGG
 CACCAGAGGGAGATCACCAAGGACCACCTGCAGAGCGACCAGGAGGAGATCGACTATGATGACACC
 ATCAGCGTGGAGATGAAGAAGGAGGACTTCGACATCTACGACGAGGACGAGAACCAGAGCCCCAGG
 AGCTTCCAGAAGAAGACCAGGCACTACTTCATCGCCGCCGTGGAGAGGCTGTGGGACTATGGCATG
 AGCAGCAGCCCCACGTGCTGAGGAACAGGGCCCAGAGCGGCAGCGTGCCCCAGTTCAAGAAGGTG

(Continuação)

Figura 41A

GTGTTCCAGGAGTTCACCGACGGCAGCTTCACCCAGCCCCTGTACAGAGGCGAGCTGAACGAGCAC
 CTGGGCCTGCTGGGCCCCCTACATCAGGGCCGAGGTGGAGGACAACATCATGGTGACCTTCAGGAAC
 CAGGCCAGCAGGCCCTACAGCTTCTACAGCAGCCTGATCAGCTACGAGGAGGACCAGAGGCAGGGC
 GCCGAGCCCAGGAAGAACTTCGTGAAGCCCCAACGAGACCAAGACCTACTTCTGGAAGGTGCAGCAC
 CACATGGCCCCCACCAGGACGAGTTCGACTGCAAGGCCTGGGCCTACTTCTCTGATGTGGACCTG
 GAGAAGGACGTGCACAGCGGCCTGATCGGCCCCCTGCTGGTGTGCCACACCAACACCCTGAACCCC
 GCCCACGGCAGGCAGGTGACCGTGCAGGAGTTCGCCCTGTTCTTCACCATCTTCGACGAGACCAAG
 AGCTGGTACTTCACCGAGAACATGGAGAGGAACTGCAGGGCCCCCTGCAACATCCAGATGGAGGAC
 CCCACCTTCAAGGAGAACTACAGGTTCACGCCATCAACGGCTACATCATGGACACCCTGCCCGGC
 CTGGTGTATGGCCCAGGACCAGAGGATCAGGTGGTATCTGCTGAGCATGGGCAGCAACGAGAACATC
 CACAGCATCCACTTCAGCGGCCACGTGTTACCGTGAGGAAGAAGGAGGAGTACAAGATGGCCCTG
 TACAACCTGTACCCCGGCGTGTTCGAGACCGTGGAGATGCTGCCAGCAAGGCCGGCATCTGGAGG
 GTGGAGTGCCTGATCGGCGAGCACCTGCACGCCGGCATGAGCACCTGTTCTTGGTGTACAGCAAC
 AAGTGCCAGACCCCCCTGGGCATGGCCAGCGGCCACATCAGGGACTTCCAGATCACCGCCTCTGGC
 CAGTACGGCCAGTGGGCCCCCAAGCTGGCCAGGCTGCACTACAGCGGCAGCATCAACGCCTGGAGC
 ACCAAGGAGCCCTTCAGCTGGATCAAGGTGGACCTGCTGGCCCCCATGATCATCCACGGCATCAAG
 ACCCAGGGCGCCAGGCAGAAAGTTCAGCAGCCTGTACATCAGCCAGTTCATCATCATGTACAGCCTG
 GACGGCAAGAAGTGGCAGACCTACAGGGGCAACAGCACCGGCACCCTGATGGTGTCTTCGGCAAC
 GTGGACAGCAGCGGCATCAAGCACAACATCTTCAACCCCCCATCATCGCCAGGTACATCAGGCTG
 CACCCCACCCACTACAGCATCAGGAGCACCTGCGGATGGAAGTGTATGGGCTGCGACCTGAACAGC
 TGCAGCATGCCCCCTGGGCATGGAGAGCAAGGCCATCTCTGACGCCCAGATCACCGCCAGCAGCTAC
 TTCACCAACATGTTTCGCCACCTGGAGCCCCAGCAAGGCCAGGCTGCACCTGCAGGGCAGGAGCAAC
 GCCTGGAGGCCCCAGGTGAACAACCCCAAGGAGTGGCTGCAGGTGGACTTCCAGAAGACCATGAAG
 GTGACCGGCGTGACCAACCCAGGGCGTGAAGAGCCTGCTGACCAGCATGTACGTGAAGGAGTTCCTG
 ATCAGCAGCAGCCAGGACGGCCACCAGTGGACCTGTTCTTCCAGAACGGCAAAGTGAAGGTGTTTC
 CAGGGCAACCAGGACAGCTTCACCCCCGTGGTGAACAGCCTGGACCCCCCCTGCTGACCAGGTAT
 CTGAGGATCCACCCCCAGAGCTGGGTGCACCAGATCGCCCTGAGAATGGAAGTGCTGGGATGCGAG
 GCCCAGGACCTGTACTGA (SEQ ID NO:101)

Figura 41B

CS23m1-FL-NA

ATGCAGATTGAGCTGAGCACCTGCTTCTTCCTGTGCCTGCTGAGGTTCTGCTTCTCTGCCACCAGG
 AGATACTACCTGGGCGCCGTGGAGCTGAGCTGGGACTACATGCAGTCTGACCTGGGCGAGCTGCCT
 GTGGACGCCAGGTTCCCCCCCAGAGTGCCCCAAGAGCTTCCCCTTCAACACCTCAGTGGTGTACAAG
 AAGACCCTGTTTCGTGGAGTTCACCGACCACCTGTTCAACATCGCCAAGCCCAGGCCCCCTGGATG
 GGCCTGCTGGGCCCCACCATCCAGGCCGAGGTGTACGACACCGTGGTGATCACCTGAAGAACATG
 GCCAGCCACCCCGTGAGCCTGCACGCCGTGGGCGTGAGCTACTGGAAGGCCTCTGAGGGCGCCGAG
 TATGACGACCAGACCAGCCAGAGGGAGAAGGAGGACGACAAGGTGTTCCCGGGCGGCAGCCACACC
 TACGTGTGGCAGGTGCTGAAGGAGAACGGCCCCATGGCCAGCGACCCCTGTGCCTGACCTACAGC
 TACCTGAGCCACGTGGACCTGGTGAAGGACCTGAACTCTGGCCTGATCGGCGCCCTGCTGGTGTGC
 AGGGAGGGCAGCCTGGCCAAGGAGAAGACCCAGACCCTGCACAAGTTTCATCCTGCTGTTTCGCGTG
 TTTCGATGAGGGCAAGAGCTGGCACAGCGAGACCAAGAACAGCCTGATGCAGGACAGGGATGCCGCC
 TCTGCCAGGGCCTGGCCCAAGATGCACACCGTGAACGGCTACGTGAACAGGAGCCTGCCCGGCTG
 ATCGGCTGCCACAGGAAGTCTGTGTACTGGCACGTGATCGGCATGGGCACCACCCCGAGGTGCAC
 AGCATCTTCCTGGAGGGCCACACCTTCCTGGTGAGGAACCACAGGCAGGCCAGCCTGGAGATCAGC
 CCCATCACCTTCCTGACCGCCCAGACCCTGCTGATGGACCTGGGCCAGTTCTGCTGTCTGCCAC
 ATCAGCAGCCACCAGCACGACGGCATGGAGGCCTACGTGAAGGTGGACAGCTGCCCCGAGGAGCCC
 CAGCTGAGGATGAAGAACAACGAGGAGGCCGAGGACTATGATGATGACCTGACCGACTCTGAGATG
 GACGTGGTGAGGTTTGATGATGACAACAGCCCCAGCTTCATCCAGATCAGGTCTGTGGCCAAGAAG
 CACCCCAAGACCTGGGTGCACTACATCGCCGCCGAGGAGGAGGACTGGGACTACGCCCCCTGGTG
 CTGGCCCCCGACGACAGGAGCTACAAGAGCCAGTACCTGAACAACGGCCCCCAGAGGATCGGCAGG
 AAGTACAAGAAGGTGAGATTTCATGGCCTACACCGACGAGACCTTCAAGACCAGGGAGGCCATCCAG
 CACGAGTCTGGCATCCTGGGCCCCCTGCTGTACGGCGAGGTGGGCGACACCCTGCTGATCATCTTC
 AAGAACCAGGCCAGCAGGCCCTACAACATCTACCCCCACGGCATCACCGATGTGAGGCCCTGTAC
 AGCAGGAGGCTGCCCCAAGGGCGTGAAGCACCTGAAGGACTTCCCCATCCTGCCCGGCGAGATCTTC
 AAGTACAAGTGACCGTGACCGTGGAGGATGGCCCCACCAAGTCTGACCCAGGTGCCTGACCAGG
 TACTACAGCAGCTTCGTGAACATGGAGAGGGACCTGGCCTCTGGCCTGATCGGCCCCCTGCTGATC
 TGCTACAAGGAGAGCGTGGACCAGAGGGGCAACCAGATCATGTCTGACAAGAGGAACGTGATCCTG
 TTCTCTGTGTTTCGATGAGAACAGGAGCTGGTATCTGACCGAGAACATCCAGAGGTTCTGCCCAAC
 CCCGCCGGCGTGACGCTGGAGGACCCCGAGTTCCAGGCCAGCAACATCATGCACAGCATCAACGGC
 TACGTGTTTCGACAGCCTGCAGCTGTCTGTGTGCTGCACAGGTTGGCCTACTGGTACATCCTGAGC
 ATCGGCGCCCAGACCGACTTCCTGTCTGTGTTCTTCTCTGGCTACACCTTCAAGCACAAGATGGTG
 TACGAGGACACCCTGACCTGTTCCCCCTTCAGCGGCGAGACCGTGTTCATGAGCATGGAGAACCCC
 GGCTGTGGATCCTGGGCTGCCACAACAGCGACTTCAGGAACAGGGGCATGACCGCCCTGCTGAAA
 GTCAGCAGCTGCGACAAGAACACCGGCGACTACTACGAGGACAGCTACGAGGACATCAGCGCCTAC
 CTGCTGAGCAAGAACAACGCCATCGAGCCCAGGAGCTTCAGCCAGAACCCCCCGTGTGAAGAGG
 CACCAGAGGGAGATCACCAAGGACCACCTGCAGAGCGACCAGGAGGAGATCGACTATGATGACACC
 ATCAGCGTGGAGATGAAGAAGGAGGACTTCGACATCTACGACGAGGACGAGAACCAGAGCCCCAGG
 AGCTTCCAGAAGAAGACCAGGCACTACTTCATCGCCGCCGTGGAGAGGCTGTGGGACTATGGCATG
 AGCAGCAGCCCCACGTGCTGAGGAACAGGGCCCAGAGCGGCAGCGTGCCCCAGTTCAAGAAGGTG

(Continuação)

Figura 42A

GTGTTCCAGGAGTTCACCGACGGCAGCTTCACCCAGCCCCTGTACAGAGGCGAGCTGAACGAGCAC
 CTGGGCCTGCTGGGCCCCCTACATCAGGGCCGAGGTGGAGGACAACATCATGGTGACCTTCAGGAAC
 CAGGCCAGCAGGCCCTACAGCTTCTACAGCAGCCTGATCAGCTACGAGGAGGACCAGAGGCAGGGC
 GCCGAGCCCAGGAAGAACTTCGTGAAGCCCCAACGAGACCAAGACCTACTTCTGGAAGGTGCAGCAC
 CACATGGCCCCCACCAGGACGAGTTCGACTGCAAGGCCTGGGCCTACTTCTCTGATGTGGACCTG
 GAGAAGGACGTGCACAGCGGCCTGATCGGCCCCCTGCTGGTGTGCCACACCAACACCCTGAACCCC
 GCCCACGGCAGGCAGGTGACCGTGCAGGAGTTCGCCCTGTTCTTCACCATCTTCGACGAGACCAAG
 AGCTGGTACTTCACCGAGAACATGGAGAGGAACTGCAGGGCCCCCTGCAACATCCAGATGGAGGAC
 CCCACCTTCAAGGAGAACTACAGGTTCACGCCATCAACGGCTACATCATGGACACCCTGCCCGGC
 CTGGTGTATGGCCCAGGACCAGAGGATCAGGTGGTATCTGCTGAGCATGGGCAGCAACGAGAACATC
 CACAGCATCCACTTCAGCGGCCACGTGTTACCGTGAGGAAGAAGGAGGAGTACAAGATGGCCCTG
 TACAACCTGTACCCCGGCGTGTTCGAGACCGTGGAGATGCTGCCAGCAAGGCCGGCATCTGGAGG
 GTGGAGTGCCTGATCGGCGAGCACCTGCACGCCGGCATGAGCACCTGTTCTTGGTGTACAGCAAC
 AAGTGCCAGACCCCCCTGGGCATGGCCAGCGGCCACATCAGGGACTTCCAGATCACCGCCTCTGGC
 CAGTACGGCCAGTGGGCCCCCAAGCTGGCCAGGCTGCACTACAGCGGCAGCATCAACGCCTGGAGC
 ACCAAGGAGCCCTTCAGCTGGATCAAGGTGGACCTGCTGGCCCCCATGATCATCCACGGCATCAAG
 ACCCAGGGCGCCAGGCAGAAAGTTCAGCAGCCTGTACATCAGCCAGTTCATCATCATGTACAGCCTG
 GACGGCAAGAAGTGGCAGACCTACAGGGGCAACAGCACCGGCACCCTGATGGTGTCTTCGGCAAC
 GTGGACAGCAGCGGCATCAAGCACAACATCTTCAACCCCCCATCATCGCCAGGTACATCAGGCTG
 CACCCCAACCACTACAGCATCAGGAGCACCTGCGGATGGAAGTGTATGGGCTGCGACCTGAACAGC
 TGCAGCATGCCCCCTGGGCATGGAGAGCAAGGCCATCTCTGACGCCCAGATCACCGCCAGCAGCTAC
 TTCACCAACATGTTTCGCCACCTGGAGCCCCAGCAAGGCCAGGCTGCACCTGCAGGGCAGGAGCAAC
 GCCTGGAGGCCCCAGGTGAACAACCCCAAGGAGTGGCTGCAGGTGGACTTCCAGAAGACCATGAAG
 GTGACCGGCGTGACCAACCCAGGGCGTGAAGAGCCTGCTGACCAGCATGTACGTGAAGGAGTTCCTG
 ATCAGCAGCAGCCAGGACGGCCACCAAGTGGACCTGTTCTTCCAGAACGGCAAAGTGAAGGTGTTTC
 CAGGGCAACCAGGACAGCTTCACCCCCGTGGTGAACAGCCTGGACCCCCCCTGCTGACCAGGTAT
 CTGAGGATCCACCCCCAGAGCTGGGTGCACCAGATCGCCCTGAGAATGGAAGTGCTGGGATGCGAG
 GCCCAGGACCTGTACTGA (SEQ ID NO:102)

Figura 42B

CS23m23-FL-NA

ATGCAGATTGAGCTGAGCACCTGCTTCTTCCTGTGCCTGCTGAGGTTCTGCTTCTCTGCCACCAGG
 AGATACTACCTGGGCGCCGTGGAGCTGAGCTGGGACTACATGCAGTCTGACCTGGGCGAGCTGCCT
 GTGGACGCCAGGTTCCCCCCCAGAGTGCCCAAGAGCTTCCCCTTCAACACCTCAGTGGTGTACAAG
 AAGACCCTGTTCTGTGGAGTTCACCGACCACCTGTTCAACATCGCCAAGCCCAGGCCCCCTGGATG
 GGCCTGCTGGGCCCCACCATCCAGGCCGAGGTGTACGACACCGTGGTGGTCACCTGAAGAACATG
 GCCAGCCACCCCGTGAGCCTGCACGCCGTGGGCGTGAGCTACTGGAAGTCTCTGAGGGCGCCGAG
 TATGACGACCAGACCAGCCAGAGGGAGAAGGAGGACGACAAGGTGTTCCCGGCAAGAGCCACACC
 TACGTGTGGCAGGTGCTGAAGGAGAACGGCCCCACTGCCAGCGACCCCCCTGCCTGACCTACAGC
 TACCTGAGCCACGTGGACCTGGTGAAGGACCTGAACTCTGGCCTGATCGGCGCCCTGCTGGTGTGC
 AGGGAGGGCAGCCTGGCCAAGGAGAAGACCCAGACCCTGCACAAGTTTCATCCTGCTGTTTCGCGTG
 TTTCATGAGGGCAAGAGCTGGCACAGCGAGACCAAGAACAGCCTGATGCAGGACAGGGATGCCGCC
 TCTGCCAGGGCCTGGCCCAAGATGCACACCGTGAACGGCTACGTGAACAGGAGCCTGCCCGGCTG
 ATCGGCTGCCACAGGAAGTCTGTGTACTGGCACGTGATCGGCATGGGCACCAACCCCGAGGTGCAC
 AGCATCTTCCTGGAGGGCCACACCTTCCTGGTGAGGAACACAGGCAGGCCAGCCTGGAGATCAGC
 CCCATCACCTTCCTGACCGCCCAGACCCTGCTGATGGACCTGGGCCAGTTCTGCTGTTCTGCCAC
 ATCAGCAGCCACCAGCACGACGGCATGGAGGCCTACGTGAAGGTGGACAGCTGCCCCGAGGAGCCC
 CAGCTGAGGATGAAGAACAACGAGGAGGCCGAGGACTATGATGATGACCTGACCGACTCTGAGATG
 GACGTGGTGAGGTTTGATGATGACAACAGCCCCAGCTTCATCCAGATCAGGTCTGTGGCCAAGAAG
 CACCCCAAGACCTGGGTGCACTACATCGCCGCCGAGGAGGAGGACTGGGACTACGCCCCCTGGTG
 CTGGCCCCCGACGACAGGAGCTACAAGAGCCAGTACCTGAACAACGGCCCCCAGAGGATCGGCAGG
 AAGTACAAGAAGGTGAGATTTCATGGCCTACACCGACGAGACCTTCAAGACCAGGGAGGCCATCCAG
 CACGAGTCTGGCATCCTGGGCCCCCTGCTGTACGGCGAGGTGGGCGACACCCTGCTGATCATCTTC
 AAGAACCAGGCCAGCAGGCCCTACAACATCTACCCCCACGGCATCACCGATGTGAGGCCCTGTAC
 AGCAGGAGGCTGCCCCAAGGGCGTGAAGCACCTGAAGGACTTCCCCATCCTGCCCGGCGAGATCTTC
 AAGTACAAGTGACCGTGACCGTGGAGGATGGCCCCACCAAGTCTGACCCAGGTGCCTGACCAGG
 TACTACAGCAGCTTCGTGAACATGGAGAGGGACCTGGCCTCTGGCCTGATCGGCCCCCTGCTGATC
 TGCTACAAGGAGAGCGTGGACCAGAGGGGCAACCAGATCATGTCTGACAAGAGGAACGTGATCCTG
 TTCTCTGTGTTTCGATGAGAACAGGAGCTGGTATCTGACCGAGAACATCCAGAGGTTCTGCCCAAC
 CCCGCCGGCGTGACGCTGGAGGACCCCGAGTTCCAGGCCAGCAACATCATGCACAGCATCAACGGC
 TACGTGTTTCGACAGCCTGCAGCTGTCTGTGTGCTGCACGAGGTGGCCTACTGGTACATCCTGAGC
 ATCGGCGCCCAGACCGACTTCCTGTCTGTGTTCTTCTCTGGCTACACCTTCAAGCACAAGATGGTG
 TACGAGGACACCTGACCTGTTCCCCCTTCAGCGGCGAGACCGTGTTCATGAGCATGGAGAACCCC
 GGCTGTGGATCCTGGGCTGCCACAACAGCGACTTCAGGAACAGGGGCATGACCGCCCTGCTGAAA
 GTCAGCAGCTGCGACAAGAACACCGGCGACTACTACGAGGACAGCTACGAGGACATCAGCGCCTAC
 CTGCTGAGCAAGAACAACACCACCTACGTGAACCGCTCCCTGAGCCAGAACCCCCCGTGTGAAG
 AGGCACCAGAGGGAGATCACCGAGACCACCTGCAGAGCGACCAGGAGGAGATCGACTATGATGAC
 ACCATCAGCGTGGAGATGAAGAAGGAGGACTTCGACATCTACGACGAGGACGAGAACCAGAGCCCC
 AGGAGCTTCCAGAAGAAGACAGGCACTACTTCATCGCCGCCGTGGAGAGGCTGTGGGACTATGGC
 ATGAGCAGCAGCCCCACGTGCTGAGGAACAGGGCCCAGAGCGGCAGCGTGCCCCAGTTCAAGAAG

(Continuação)

Figura 43A

GTGGTGTTCAGGAGTTCACCGACGGCAGCTTCACCCAGCCCCTGTACAGAGGCGAGCTGAACGAG
 CACCTGGGCCTGCTGGGCCCCCTACATCAGGGCCGAGGTGGAGGACAACATCATGGTGACCTTCAGG
 AACCAGGCCAGCAGGCCCCCTACAGCTTCTACAGCAGCCTGATCAGCTACGAGGAGGACCAGAGGCAG
 GGCGCCGAGCCCAGGAAGAACTTCGTGAAGCCCAACGAGACCAAGACCTACTTCTGGAAGGTGCAG
 CACCACATGGCCCCCACCAAGGACGAGTTCGACTGCAAGGCCTGGGCCTACTTCTCTGATGTGGAC
 CTGGAGAAGGACGTGCACAGCGGCCTGATCGGCCCCCTGCTGGTGTGCCACACCAACACCCTGAAC
 CCCGCCCACGGCAGGCAGGTGACCGTGCAGGAGTTCGCCCTGTTCTTCACCATCTTCGACGAGACC
 AAGAGCTGGTACTTCACCGAGAACATGGAGAGGAACTGCAGGGCCCCCTGCAACATCCAGATGGAG
 GACCCACCTTCAAGGAGAACTACAGGTTCCACGCCATCAACGGCTACATCATGGACACCCTGCCC
 GGCCTGGTGATGGCCCAGGACCAGAGGATCAGGTGGTATCTGCTGAGCATGGGCAGCAACGAGAAC
 ATCCACAGCATCCACTTCAGCGGCCACGTGTTCCACCGTGAGGAAGAAGGAGGAGTACAAGATGGCC
 CTGTACAACCTGTACCCCGGCGTGTTCCGAGACCGTGAGATGCTGCCCAGCAAGGCCGGCATCTGG
 AGGGTGGAGTGCTGATCGGCGAGCACCTGCACGCCGGCATGAGCACCTGTTCTTGGTGTACAGC
 AACAAGTGCCAGACCCCCCTGGGCATGGCCAGCGGCCACATCAGGGACTTCCAGATCACCGCCTCT
 GGCCAGTACGGCCAGTGGGCCCCCAAGCTGGCCAGGCTGCACTACAGCGGCAGCATCAACGCCTGG
 AGCACCAAGGAGCCCTTCAGCTGGATCAAGGTGGACCTGCTGGCCCCCATGATCATCCACGGCATC
 AAGACCCAGGGCGCCAGGCAGAAAGTTCAGCAGCCTGTACATCAGCCAGTTCATCATCATGTACAGC
 CTGGACGGCAAGAAGTGGCAGACCTACAGGGGCAACAGCACCGGCACCCTGATGGTGTCTTCGGC
 AACGTGGACAGCAGCGGCATCAAGCACAACTCTTCAACCCCCCATCATCGCCAGGTACATCAGG
 CTGCACCCCCACCACTACAGCATCAGGAGCACCTGCGGATGGAAGTGTGGGCTGCGACCTGAAC
 AGCTGCAGCATGCCCCCTGGGCATGGAGAGCAAGGCCATCTCTGACGCCCAGATCACCGCCAGCAGC
 TACTTCACCAACATGTTTCGCCACCTGGAGCCCCAGCAAGGCCAGGCTGCACCTGCAGGGCAGGAGC
 AACGCCTGGAGGCCCCAGGTGAACAACCCCAAGGAGTGGCTGCAGGTGGACTTCCAGAAGACCATG
 AAGGTGACCGGCGTGACCACCCAGGGCGTGAAGAGCCTGCTGACCAGCATGTACGTGAAGGAGTTC
 CTGATCAGCAGCAGCCAGGACGGCCACCAGTGGACCTGTTCTTCCAGAACGGCAAAGTGAAGGTG
 TTCCAGGGCAACCAGGACAGCTTCACCCCCGTGGTGAACAGCCTGGACCCCCCCTGCTGACCAGG
 TATCTGAGGATCCACCCCCAGAGCTGGGTGCACCAGATCGCCCTGAGAATGGAAGTGTGGGATGC
 GAGGCCAGGACCTGTACTGA (SEQ ID NO:103)

Figura 43B

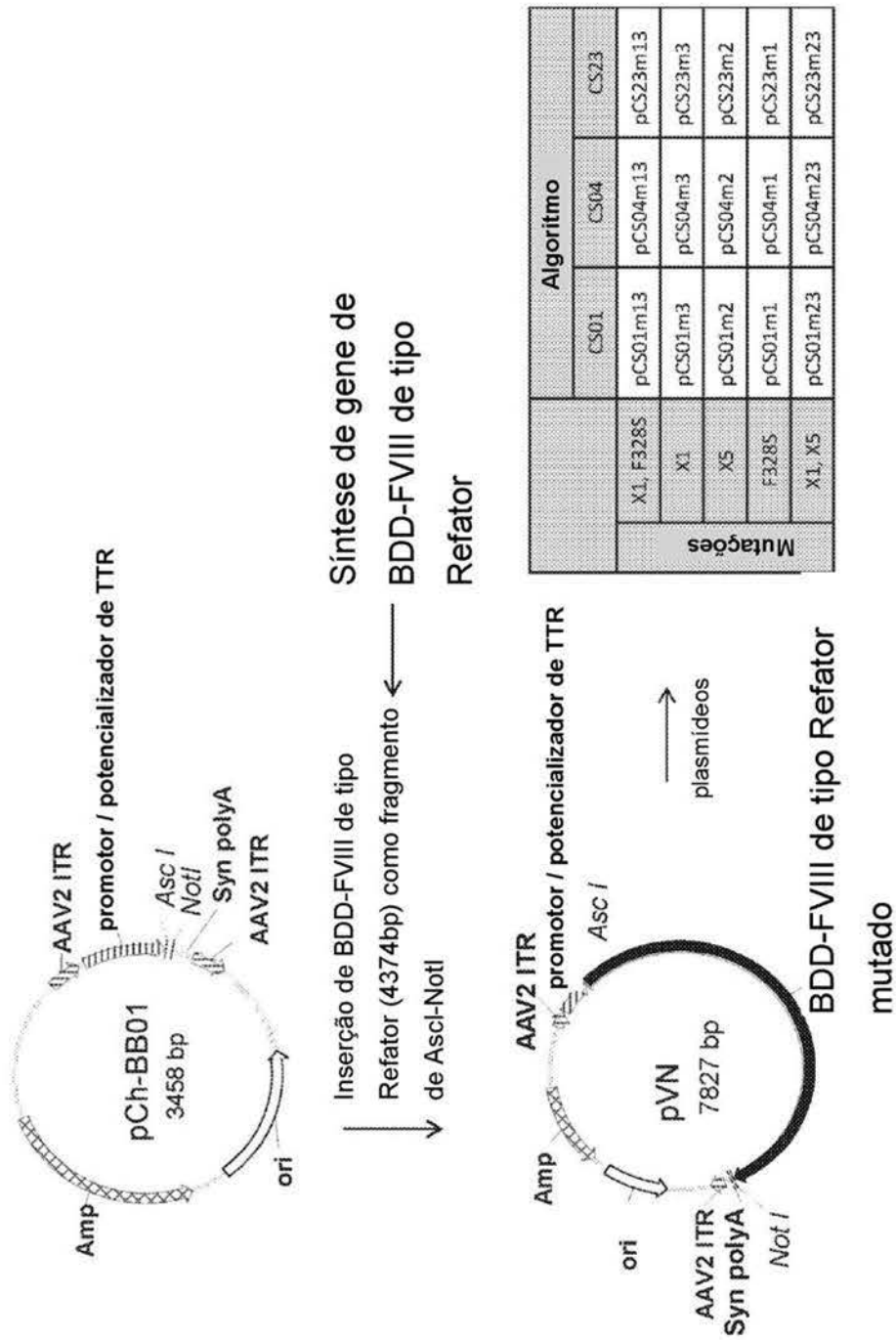


Figura 44

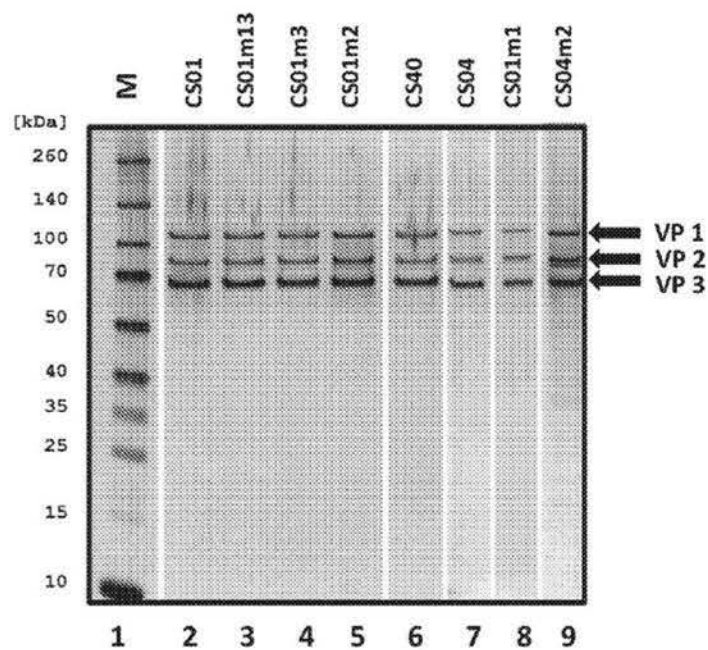


Figura 45

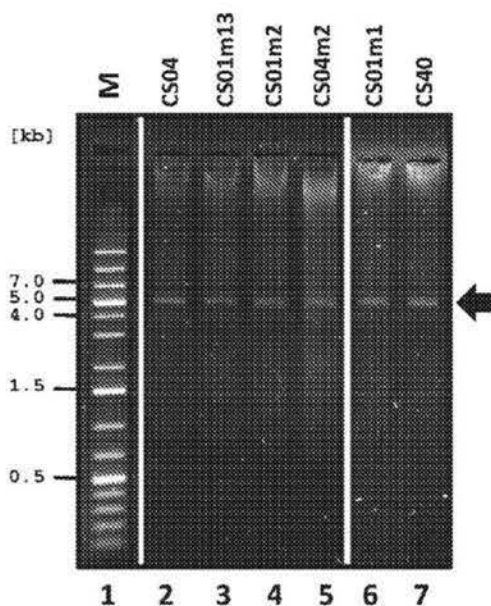


Figura 46

CS01-HC-NA

```

                                gcc
accaggagat actacctggg ggctgtggaa ctttcttggg actacatgca gtctgacctg
ggagagctgc ctgtggatgc caggttccca cccagagtgc ccaagtcctt cccattcaac
acctctgtgg tctacaagaa gacactcttt gtggaattca ctgaccacct gttcaacatt
gcaaaaccca gaccacctg gatgggactc ctgggaccca ccattcaggc tgagggtgat
gacactgtgg tcatcacctt caagaacatg gcatcccacc ctgtgtctct gcatgctgtg
ggagtctcat actggaaagc ctctgaaggg gctgagtatg atgaccagac atcccagaga
gagaaagagg atgacaaggt gttccctggg ggatctcaca cctatgtgtg gcaagtcctc
aaggagaatg gacctatggc atctgaccca ctctgcctga catactccta cctttctcat
gtggacctgg tcaaggacct caactctgga ctgattgggg cactgctggt gtgcagggaa
ggatccctgg ccaaggagaa aaccagaca ctgcacaagt tcattctcct gtttgcgtgc
tttgatgagg gcaagtcttg gcactctgaa acaaagaact cctgatgca agacagggat
gctgcctctg ccagggcctg gcccaagatg cacactgtga atggctatgt gaacagatca
ctgcctggac tcattggctg ccacaggaaa tctgtctact ggcatgtgat tggcatgggg
acaacccctg aagtgcactc cttttctctg gagggacaca ccttctggt cagggaaccac
agacaagcct ctctggagat ctctcccatc accttctca ctgcacagac actgctgatg
gaccttggac agttcctgct gttctgccac atctcttccc accagcatga tggcatggaa
gcctatgtca aggtggactc atgcctgag gaaccacagc tcaggatgaa gaacaatgag
gaggctgagg actatgatga tgacctgact gactctgaga tggatgtggt cagatttgat
gatgacaact ctccatcctt cattcagatc aggtctgtgg caaagaaaca cccaagaca
tgggtgcact acattgctgc tgagggaagag gactgggact atgcaccact ggtcctggcc
cctgatgaca ggagctacaa gtctcagtac ctcaacaatg gccacaaaag aattggaaga
aagtacaaga aagtcagatt catggcctac actgatgaaa ccttcaagac aagagaagcc
attcagcatg agtctggcat tctgggacca ctctgtatg gggaagtggg agacaccctg
ctcatcatct tcaagaacca ggctccagg ccctacaaca tctaccaca tggcatcact
gatgtcaggc ccctgtacag caggagactg ccaaaggggg tgaaacacct caaggacttc
cccattctgc ctggagagat cttcaagtac aagtggactg tcaactgtga ggatggacca
acaaagtctg accccaggtg cctcaccaga tactactcct cttttgtgaa catggagaga
gacctggcat ctggactgat tggaccactg ctcatctgct acaaggagtc tgtggaccag
agaggcaacc agatcatgtc tgacaagaga aatgtgatcc tgttctctgt ctttgatgag
aacagatcat ggtacctgac tgagaacatt cagagattcc tgcccaacct tgctggggtg
caactggaag acctgagtt ccaggcaagc aacatcatgc actocatcaa tggctatgtg
tttgactctc tccagcttcc tgtctgctg catgaggtgg cctactggta cattctttct
attggggcac aaactgactt cctttctgtc ttcttctctg gatacacctt caagcacaag
atgggtgatg aggacacctt gacactcttc ccattctctg gggaaactgt gttcatgagc
atggagaacc ctggactgtg gattctggga tgccacaact ctgacttcag aaacagggga
atgactgcac tgctcaaagt ctctctctgt gacaagaaca ctggggacta ctatgaggac
tcttatgagg acatctctgc ctacctgctc agcaagaaca atgccattga gccccaga
(SEQ ID NO:24X)

```

Figura 47

CS01-LC-NA

```

                                g agatcaccag gacaaccctc
cagtctgacc aggaagagat tgactatgat gacaccattt ctgtggagat gaagaaggag
gactttgaca tctatgatga ggacgagaac cagtctccaa gatcattcca gaagaagaca
agacactact tcattgctgc tgtggaaaga ctgtgggact atggcatgtc ttctctccc
catgtcctca ggaacagggc acagtctggc tctgtgccac agttcaagaa agtggctctc
caggagtcca ctgatggctc attcaccag cccctgtaca gaggggaact gaatgagcac
ctgggactcc tgggaccata catcagggtc gaggtggaag acaacatcat ggtgacattc
agaaaccagg cctccaggcc ctacagcttc tactcttccc tcatcagcta tgaggaagac
cagagacaag gggctgagcc aagaaagaac tttgtgaaac ccaatgaaac caagacctac
ttctggaaag tccagcacca catggcaccc accaaggatg agtttgactg caaggcctgg
gcatacttct ctgatgtgga cctggagaaa gatgtgcact ctggcctgat tggccactc
ctgggtctgcc acaccaacac cctgaaccct gcacatggaa ggcaagtgc tgtgcaggag
tttgccctct tcttcaccat ctttgatgaa accaagtcac ggtacttcac tgagaacatg
gagagaaaact gcagagcacc atgcaacatt cagatggaag accccacctt caaggagaac
tacaggttcc atgccatcaa tggctacatc atggacaccc tgcctgggct tgtcatggca
caggaccaga gaatcagatg gtacctgctt tctatgggat ccaatgagaa cattcactcc
atccacttct ctgggcatgt cttcactgtg agaaagaagg aggaatacaa gatggccctg
tacaacctct accctggggc ctttgagact gtggagatgc tgccctccaa agctggcatc
tggaggggtg aatgcctcat tggggagcac ctgcatgctg gcatgtcaac cctgttctg
gtctacagca acaagtgcc aacacccctg ggaatggcct ctggccacat cagggacttc
cagatcactg cctctggcca gtatggccag tgggcaccca aactggccag gctccactac
tctggctcca tcaatgcatg gtcaaccaag gagcattct cttggatcaa ggtggacctg
ctggcaccca tgatcattca tggcatcaag acacaggggg caagacagaa attctcctct
ctgtacatct cacagttcat catcatgtac tctctggatg gcaagaagtg gcagacatac
agaggcaact cactggcac cctcatggct tcttttggca atgtggacag ctctggcatc
aagcacaaca tcttcaacce tccatcatt gccagataca tcaggctgca cccacccac
tactcaatca gatcaacct caggatggaa ctgatgggat gtgacctgaa ctctgtctca
atgcccctgg gaatggagag caaggccatt tctgatgcc agatcactgc atcctcttac
ttcaccaaca tgtttgccac ctggtcacca tcaaaagcca ggctgcacct ccagggaaga
agcaatgcct ggagaccca ggtcaacaac ccaaaggaat ggctgcaagt ggacttccag
aagacaatga aagtcactgg ggtgacaacc caggggtca agtctctgct cacctcaatg
tatgtgaagg agttctgat ctcttctca caggatggcc accagtggac actcttcttc
cagaatggca aagtcagggt gttccagggc aaccaggact ctttcacacc tgtggtgaac
tactggacc cccctctct gacaagatac ctgagaatte acccccagtc ttgggtccac
cagattgccc tgagaatgga agtctctggga tgtgaggcac aagacctgta c
(SEQ ID NO:25)

```

Figura 48

CS01Δ(760-1667) - CS01-SC1-NA

ATGCAGATTGAGCTGTCCACCTGCTTCTTTCTGTGCCTGCTGAGATTCTGCTTCTTGCCACCAGGAGATAC
TACCTGGGGGCTGTGGAACCTTTCTTGGGACTACATGCAGTCTGACCTGGGAGAGCTGCCTGTGGATGCCAGG
TTCCACCCAGAGTGCCCAAGTCCCTTCCCATTTCAACACCTCTGTGGTCTACAAGAAGACACTCTTTGTGGAA
TTCAGTGAACACCTGTTCAACATTGCAAAAACCCAGACCACCTGGATGGGACTCCTGGGACCCACCATTTCAG
GCTGAGGTGTATGACACTGTGGTCATCACCCCTCAAGAACATGGCATCCCACCTGTGTCTCTGCATGCTGTG
GGAGTCTCATACTGGAAAGCCTCTGAAGGGGCTGAGTATGATGACCAGACATCCCAGAGAGAGAAAGAGGAT
GACAAGGTGTTCCCTGGGGGATCTCACACCTATGTGTGGCAAGTCCCTCAAGGAGAATGGACCCATGGCATCT
GACCCACTCTGCCTGACATACTCCTACCTTTCTCATGTGGACCTGGTCAAGGACCTCAACTCTGGACTGATT
GGGGCACTGCTGGTGTGCAGGGAAGGATCCCTGGCCAAGGAGAAAACCCAGACACTGCACAAGTTTCACTCTC
CTGTTTGTCTCTTTGATGAGGGCAAGTCTTGGCACTCTGAAACAAAGAACTCCCTGATGCAAGACAGGGAT
GCTGCCCTCTGCCAGGGCATGGCCCAAGATGCACACTGTGAATGGCTATGTGAACAGATCACTGCCCTGGACTC
ATTGGCTGCCACAGGAAATCTGTCTACTGGCATGTGATTGGCATGGGGACAACCCCTGAAGTGCACCTCCATT
TTCCTGGAGGGACACACCTTCCCTGGTCAGGAACCCACAGACAAGCCTCTCTGGAGATCTCTCCCATCACCTTC
CTCACTGCACAGACACTGCTGATGGACCTTGGACAGTTCCCTGCTGTTCTGCCACATCTCTTCCACCCAGCAT
GATGGCATGGAAGCCTATGTCAAGGTGGACTCATGCCCTGAGGAACCCACAGCTCAGGATGAAGAACAATGAG
GAGGCTGAGGACTATGATGATGACCTGACTGACTCTGAGATGGATGTGGTCAGATTGATGATGACAACTCT
CCATCCTTCATTTCAGATCAGGTCTGTGGCAAAGAAACACCCCAAGACATGGGTGCACCTACATTGCTGCTGAG
GAAGAGGACTGGGACTATGCACCACTGGTCCTGGCCCTGATGACAGGAGCTACAAGTCTCAGTACCTCAAC
AATGGCCCAAGAAATTTGGAAGAAAGTACAAGAAAGTCAGATTTCATGGCCTACACTGATGAAACCTTCAAG
ACAAGAGAAGCCATTCAGCATGAGTCTGGCATTCTGGGACCACTCCTGTATGGGGAAGTGGGAGACACCCCTG
CTCATCATCTTCAAGAACCAGGCCCTCCAGGCCCTACAACATCTACCCACATGGCATCACTGATGTCAGGCCC
CTGTACAGCAGGAGACTGCCAAAAGGGGTGAAACACCTCAAGGACTTCCCCATTCTGCCTGGAGAGATCTTC
AAGTACAAGTGGACTGTCACTGTGGAGGATGGACCAACAAAGTCTGACCCCAAGTGCCTCACCAGATACTAC
TCCTCTTTTGTGAACATGGAGAGAGACCTGGCATCTGGACTGATTGGACCACTGCTCATCTGCTACAAGGAG
TCTGTGGACCAGAGAGGCAACCAGATCATGTCTGACAAGAGAAATGTGATTCTGTCTCTGTCTTTGATGAG
AACAGATCATGGTACCTGACTGAGAACATTTCAGAGATTCCCTGCCCAACCTGCTGGGGTGCAACTGGAAGAC
CCTGAGTTCCAGGCAAGCAACATCATGCACTCCATCAATGGCTATGTGTTTGACTCTCTCCAGCTTTCTGTC
TGCCTGCATGAGGTGGCCTACTGGTACATTCTTTCTATTGGGGCACAACTGACTTCCTTTCTGTCTTCTTC
TCTGGATACACCTTCAAGCACAAAGATGGTGTATGAGGACACCCCTGACACTCTTCCCATTCTCTGGGGAACT
GTGTTTCATGAGCATGGAGAACCCTGGACTGTGGATTCTGGGATGCCACAACCTGACTTCAGAAACAGGGGA
ATGACTGCACTGCTCAAAGTCTCCTCCTGTGACAAGAACACTGGGACTACTATGAGGACTCTTATGAGGAC
ATCTCTGCCTACCTGCTCAGCAAGAACAATGCCATTGAGCCAGAGAGATCACCAGGACAACCTCCAGTCT
GACCAGGAAGAGATTGACTATGATGACACCATTTCTGTGGAGATGAAGAAGGAGGACTTTGACATCTATGAT
GAGGACGAGAACCAGTCTCCAAGATCATTCAGAAGAAGACAAGACACTACTTCATTGCTGCTGTGGAAAGA
CTGTGGGACTATGGCATGTCTTCTCTCCCCATGTCTCAGGAACAGGGCACAGTCTGGCTCTGTGCCACAG
TTCAAGAAAGTGGTCTTCCAGGAGTTCACTGATGGCTCATTCACCCAGCCCTGTACAGAGGGGAACATGAAT
GAGCACCTGGGACTCCTGGGACCATACATCAGGGCTGAGGTGGAAGACAACATCATGGTGACATTTCAGAAAC
CAGGCCCTCCAGGCCCTACAGCTTCTACTCTTCCCTCATCAGCTATGAGGAAGACCAGAGACAAGGGGCTGAG
CCAAGAAAGAACTTTGTGAAACCAATGAAACCAAGACCTACTTCTGGAAGTCCAGCACCATGGCACCC

(Continuação)

Figura 49A

ACCAAGGATGAGTTTGACTGCAAGGCCTGGGCATACTTCTCTGATGTGGACCTGGAGAAAGATGTGCACTCT
 GGCCTGATTGGCCCACTCCTGGTCTGCCACACCAACACCCTGAACCCTGCACATGGAAGGCAAGTGACTGTG
 CAGGAGTTTGCCCTCTTCTTCACCATCTTTGATGAAACCAAGTCATGGTACTTCACTGAGAACATGGAGAGA
 AACTGCAGAGCACCATGCAACATTCAGATGGAAGACCCACCTTCAAGGAGAACTACAGGTTCCATGCCATC
 AATGGCTACATCATGGACACCCTGCCTGGGCTTGTCTGTCACAGGACCAGAGAATCAGATGGTACCTGCTT
 TCTATGGGATCCAATGAGAACATTCACCTCCATCCACTTCTCTGGGCATGTCTTCACTGTGAGAAAGAAGGAG
 GAATACAAGATGGCCCTGTACAACTCTACCCTGGGGTCTTTGAGACTGTGGAGATGCTGCCCTCCAAAGCT
 GGCATCTGGAGGGTGGAATGCCTCATTGGGGAGCACCTGCATGCTGGCATGTCAACCCTGTTCTGGTCTAC
 AGCAACAAGTGCCAGACACCCCTGGGAATGGCCTCTGGCCACATCAGGGACTTCCAGATCACTGCCCTCTGGC
 CAGTATGGCCAGTGGGCACCCAACTGGCCAGGCTCCACTACTCTGGCTCCATCAATGCATGGTCAACCAAG
 GAGCCATTCTCTTGATCAAGGTGGACCTGCTGGCACCCATGATCATTGATGGCATCAAGACACAGGGGGCA
 AGACAGAAATTCTCCTCTCTGTACATCTCACAGTTCATCATCATGTAATCTCTGGATGGCAAGAAGTGGCAG
 ACATACAGAGGCAACTCCACTGGCACCCCTCATGGTCTTCTTTGGCAATGTGGACAGCTCTGGCATCAAGCAC
 AACATCTTCAACCCTCCCATCATTTGCCAGATACATCAGGCTGCACCCACCCACTACTCAATCAGATCAACC
 CTCAGGATGGAACTGATGGGATGTGACCTGAACTCCTGCTCAATGCCCTGGGAATGGAGAGCAAGGCCATT
 TCTGATGCCAGATCACTGCATCCTCTTACTTCACCAACATGTTTGCCACCTGGTCACCATCAAAAGCCAGG
 CTGCACCTCCAGGGAAGAAGCAATGCCTGGAGACCCAGGTCAACAACCCAAAGGAATGGCTGCAAGTGGAC
 TTCCAGAAGACAATGAAAGTCACTGGGGTGACAACCCAGGGGGTCAAGTCTCTGCTCACCTCAATGTATGTG
 AAGGAGTTCCTGATCTCTTCTCACAGGATGGCCACCAGTGGACACTCTTCTCCAGAATGGCAAAGTCAAG
 GTGTTCCAGGGCAACCAGGACTCTTTCACACCTGTGGTGAACCTCACTGGACCCCCCCTCCTGACAAGATAC
 CTGAGAATTCACCCCAGTCTTGGGTCCACCAGATTGCCCTGAGAATGGAAGTCTGGGATGTGAGGCACAA
 GACCTGTACTGA (SEQ ID NO:26)

Figura 49B

CS01Δ(772-1667) - CS01-SC2-NA

ATGCAGATTGAGCTGTCCACCTGCTTCTTTCTGTGCCTGCTGAGATTCTGCTTCTCTGCCACCAGG
AGATACTACCTGGGGGCTGTGGAACTTTCTTGGGACTACATGCAGTCTGACCTGGGAGAGCTGCCT
GTGGATGCCAGGTTCCCACCCAGAGTGCCCAAGTCCTTCCCATTCAACACCTCTGTGGTCTACAAG
AAGACACTCTTTGTGGAATTCAGTACCACCTGTTCAACATTGCAAAACCCAGACCACCCTGGATG
GGACTCCTGGGACCCACCATTCAGGCTGAGGTGTATGACACTGTGGTCATCACCTCAAGAACATG
GCATCCACCCCTGTGTCTCTGTCATGCTGTGGGAGTCTCATACTGGAAAGCCTCTGAAGGGGCTGAG
TATGATGACCAGACATCCAGAGAGAGAAAAGAGGATGACAAGGTGTTCCCTGGGGGATCTCACACC
TATGTGTGGCAAGTCTCAAGGAGAATGGACCCATGGCATCTGACCCACTCTGCCTGACATACTCC
TACCTTTCTCATGTGGACCTGGTCAAGGACCTCAACTCTGGACTGATTGGGGCACTGCTGGTGTGC
AGGGAAGGATCCCTGGCCAAGGAGAAAACCCAGACACTGCACAAGTTTATTCTCTGTTTGCTGTC
TTTGATGAGGGCAAGTCTTGGCACTCTGAAACAAAGAACTCCCTGATGCAAGACAGGGATGCTGCC
TCTGCCAGGGCATGGCCCAAGATGCACACTGTGAATGGCTATGTGAACAGATCACTGCCTGGACTC
ATTGGCTGCCACAGGAAATCTGTCTACTGGCATGTGATTGGCATGGGGACAACCCCTGAAGTGCAC
TCCATTTTCTGAGGGGACACACCTTCCTGGTCAGGAACACAGACAAGCCTCTCTGGAGATCTCT
CCCATCACCTTCCTCACTGCACAGACACTGCTGATGGACCTTGGACAGTTTCTGCTGTTCTGCCAC
ATCTCTTCCCACCAGCATGATGGCATGGAAGCCTATGTCAAGGTGGACTCATGCCCTGAGGAACCA
CAGCTCAGGATGAAGAACAATGAGGAGGCTGAGGACTATGATGATGACCTGACTGACTCTGAGATG
GATGTGGTCAGATTTGATGATGACAACTCTCCATCCTTCATTGAGATCAGGTCTGTGGCAAAGAAA
CACCCCAAGACATGGGTGCACTACATTGCTGCTGAGGAAGAGGACTGGGACTATGCACCACTGGTC
CTGGCCCCCTGATGACAGGAGCTACAAGTCTCAGTACCTCAACAATGGCCACAAAGAATTGGAAGA
AAGTACAAGAAAGTCAGATTGATGGCCTACACTGATGAAACCTTCAAGACAAGAGAAGCCATTGAG
CATGAGTCTGGCATTCTGGGACCACTCCTGTATGGGGAAGTGGGAGACACCCTGCTCATCATCTTC
AAGAACCAGGCCTCCAGGCCCTACAACATCTACCCACATGGCATCACTGATGTGAGGCCCTGTAC
AGCAGGAGACTGCCAAAAGGGGTGAAACACCTCAAGGACTTCCCCATTCTGCCTGGAGAGATCTTC
AAGTACAAGTGGACTGTCACTGTGGAGGATGGACCAACAAAGTCTGACCCAGGTGCCTCACCAGA
TACTACTCCTCTTTTGTGAACATGGAGAGAGACCTGGCATCTGGACTGATTGGACCACTGCTCATC
TGCTACAAGGAGTCTGTGGACCAGAGAGGCAACCAGATCATGTCTGACAAGAGAAATGTGATTCTG
TTCTCTGTCTTTGATGAGAACAGATCATGGTACCTGACTGAGAACATTGAGAGATTCTTCCCCAAC
CCTGCTGGGGTGCAACTGGAAGACCCTGAGTTCCAGGCAAGCAACATCATGCACTCCATCAATGGC
TATGTGTTTGACTCTCTCCAGCTTTCTGTCTGCCTGCATGAGGTGGCCTACTGGTACATTCTTTCT
ATTGGGGCACAACTGACTTCCTTTCTGTCTTCTTCTCTGGATACACCTTCAAGCACAGATGGTG
TATGAGGACACCCTGACACTCTTCCATTCTCTGGGGAACCTGTGTTTATGAGCATGGAGAACCCT
GGACTGTGGATTCTGGGATGCCACAACTCTGACTTCAGAAACAGGGGAATGACTGCACTGCTCAAA
GTCTCCTCCTGTGACAAGAACAACCTGGGGACTACTATGAGGACTCTTATGAGGACATCTCTGCCTAC
CTGCTCAGCAAGAACAATGCCATTGAGCCCAGAAGCTTCTCTCAGAATTCCAGACACCCAGCACC
AGGGAGATCACCAGGACAACCCTCCAGTCTGACCAGGAAGAGATTGACTATGATGACACCATTTCT
GTGGAGATGAAGAAGGAGGACTTTGACATCTATGATGAGGACGAGAACCAGTCTCCAAGATCATTC

(Continuação)

Figura 50A

CAGAAGAAGACAAGACACTACTTCATTGCTGCTGTGGAAAGACTGTGGGACTATGGCATGTCTTCC
 TCTCCCCATGTCTCAGGAACAGGGGCACAGTCTGGCTCTGTGCCACAGTTCAAGAAAGTGGTCTTC
 CAGGAGTTCAGTGATGGCTCATTACCCAGCCCCCTGTACAGAGGGGAAGTGAATGAGCACCTGGGA
 CTCCTGGGACCATAACATCAGGGCTGAGGTGGAAGACAACATCATGGTGACATTGAGAAACCAGGCC
 TCCAGGCCCTACAGCTTCTACTCTTCCCTCATCAGCTATGAGGAAGACCAGAGACAAGGGGCTGAG
 CCAAGAAAGAACTTTGTGAAACCCAATGAAACCAAGACCTACTTCTGGAAAGTCCAGCACCATG
 GCACCCACCAAGGATGAGTTTGACTGCAAGGCCTGGGCATACTTCTCTGATGTGGACCTGGAGAAA
 GATGTGCACTCTGGCCTGATTGGCCCACTCCTGGTCTGCCACACCAACACCCTGAACCCTGCACAT
 GGAAGGCAAGTGACTGTGCAGGAGTTTGCCCTCTTCTTACCATCTTTGATGAAACCAAGTCATGG
 TACTTCACTGAGAACATGGAGAGAACTGCAGAGCACCATGCAACATTCAGATGGAAGACCCCCACC
 TTCAAGGAGAACTACAGGTTCCATGCCATCAATGGCTACATCATGGACACCCTGCCTGGGCTTGTC
 ATGGCACAGGACCAGAGAAATCAGATGGTACCTGCTTTCTATGGGATCCAATGAGAACATTCACTCC
 ATCCACTTCTCTGGGCATGTCTTCACTGTGAGAAAGAAGGAGGAATACAAGATGGCCCTGTACAAC
 CTCTACCCCTGGGGTCTTTGAGACTGTGGAGATGCTGCCCTCCAAAGCTGGCATCTGGAGGGTGGAA
 TGCCTCATTGGGGAGCACCTGCATGCTGGCATGTCAACCCTGTTCTTGGTCTACAGCAACAAGTGC
 CAGACACCCCTGGGAATGGCCTCTGGCCACATCAGGGACTTCCAGATCACTGCCTCTGGCCAGTAT
 GGCCAGTGGGCACCCAAACTGGCCAGGCTCCACTACTCTGGCTCCATCAATGCATGGTCAACCAAG
 GAGCCATTCTCTTGGATCAAGGTGGACCTGCTGGCACCCATGATCATTTCATGGCATCAAGACACAG
 GGGGCAAGACAGAAATTCTCCTCTGTACATCTCACAGTTCATCATCATGTACTCTCTGGATGGC
 AAGAAGTGGCAGACATACAGAGGCAACTCCACTGGCACCCCTCATGGTCTTCTTTGGCAATGTGGAC
 AGCTCTGGCATCAAGCACAAACATCTTCAACCCTCCCATCATTGCCAGATACATCAGGCTGCACCCC
 ACCCACTACTCAATCAGATCAACCCTCAGGATGGAAGTATGGGATGTGACCTGAACTCCTGCTCA
 ATGCCCCCTGGGAATGGAGAGCAAGGCCATTTCTGATGCCAGATCACTGCATCCTCTTACTTCACC
 AACATGTTTGGCACCTGGTCACCATCAAAAGCCAGGCTGCACCTCCAGGGAAGAAGCAATGCCTGG
 AGACCCAGGTCAACAACCCAAAGGAATGGCTGCAAGTGGACTTCCAGAAGACAATGAAAGTCACT
 GGGGTGACAACCCAGGGGGTCAAGTCTCTGCTCACCTCAATGTATGTGAAGGAGTTCCTGATCTCT
 TCCTCACAGGATGGCCACCAGTGGACACTCTTCTTCCAGAATGGCAAAGTCAAGGTGTTCCAGGGC
 AACCAGGACTCTTTCACACCTGTGGTGAACCTCACTGGACCCCCCTCCTGACAAGATACCTGAGA
 ATTACCCCCAGTCTTGGGTCCACCAGATTGCCCTGAGAATGGAAGTCTTGGGATGTGAGGCACAA
 GACCTGTACTGA (SEQ ID NO:27)

Figura 50B

CS23Δ(760-1667) - CS23-SC1-NA

ATGCAGATTGAGCTGAGCACCTGCTTCTTCTGTGCCTGCTGAGGTTCTGCTTCTCTGCCACCAGGAGATAC
TACCTGGGCGCCGTGGAGCTGAGCTGGGACTACATGCAGTCTGACCTGGGCGAGCTGCCTGTGGACGCCAGG
TTCCCCCCCAGAGTGCCCAAGAGCTTCCCTTCAACACCTCAGTGGTGTACAAGAAGACCCTGTTCTGTGGAG
TTCACCGACCACCTGTTCAACATCGCCAAGCCCAGGCCCCCTGGATGGGCTGCTGGGCCCCACCATCCAG
GCCGAGGTGTACGACACCGTGGTGATCACCTGAAGAACATGGCCAGCCACCCCGTGAGCCTGCACGCCGTG
GGCGTGAGCTACTGGAAGGCCCTTGAGGGCGCCGAGTATGACGACCAGACCAGCCAGAGGGAGAAGGAGGAC
GACAAGGTGTTCCCGGCGGCAGCCACACCTACGTGTGGCAGGTGCTGAAGGAGAACGGCCCCATGGCCAGC
GACCCCTGTGCCTGACCTACAGTACCTGAGCCACGTGGACCTGGTGAAGGACCTGAACCTCTGGCTGATC
GGCGCCCTGCTGGTGTGCAGGGAGGGCAGCCTGGCCAAGGAGAAGACCCAGACCCTGCACAAGTTTCATCCTG
CTGTTCCGCGTGTTCGATGAGGGCAAGAGCTGGCACAGCGAGACCAAGAACAGCCTGATGCAGGACAGGGAT
GCCGCTCTGCCAGGGCCTGGCCCAAGATGCACACCGTGAACGGCTACGTGAACAGGAGCCTGCCCGGCCCTG
ATCGGCTGCCACAGGAAGTCTGTGTACTGGCACGTGATCGGCATGGGCACCACCCCGAGGTGCACAGCATC
TTCCTGGAGGGCCACACCTTCTGGTGGAGAACACAGGCGAGGCCAGCCTGGAGATCAGCCCCATCACCTTC
CTGACCGCCAGACCCTGCTGATGGACCTGGGCCAGTTTCTGCTGTTCTGCCACATCAGCAGCCACCAGCAC
GACGGCATGGAGGCCTACGTGAAGGTGGACAGCTGCCCGAGGAGCCCCAGCTGAGGATGAAGAACAACGAG
GAGGCCGAGGACTATGATGATGACCTGACCGACTCTGAGATGGACGTGGTGAAGTTTATGATGATGACAACAGC
CCCAGCTTCATCCAGATCAGGTCTGTGGCCAAGAAGCACCCCAAGACCTGGGTGCACTACATCGCCGCGGAG
GAGGAGGACTGGGACTACGCCCCCTGCTGCTGGCCCCGACGACAGGAGCTACAAGAGCCAGTACCTGAAC
AACGGCCCCCAGAGGATCGGCAGGAAGTACAAGAAGGTGAGATTTCATGGCCTACACCGACGAGACCTTCAAG
ACCAGGGAGGCCATCCAGCACGAGTCTGGCATCCTGGCCCCCTGCTGTACGGCGAGGTGGGCGACACCCTG
CTGATCATCTTCAAGAACCAGGCCAGCAGGCCCTACAACATCTACCCCCACGGCATCACCGATGTGAGGCC
CTGTACAGCAGGAGGCTGCCCAAGGGCGTGAAGCACCTGAAGGACTTCCCCATCCTGCCCGGCGAGATCTTC
AAGTACAAGTGGACCGTGACCGTGGAGGATGGCCCCACCAAGTCTGACCCCAGGTGCCTGACCAGGTACTAC
AGCAGCTTCGTGAACATGGAGAGGACCTGGCCTCTGGCCTGATCGGCCCCCTGCTGATCTGCTACAAGGAG
AGCGTGGACCAGAGGGGCAACCAGATCATGTCTGACAAGAGGAACGTGATCCTGTTCTCTGTGTTTCGATGAG
AACAGGAGCTGGTATCTGACCGAGAACATCCAGAGGTTTCTGCCCAACCCCGCGGCGTGCAGCTGGAGGAC
CCCGAGTTCCAGGCCAGCAACATCATGCACAGCATCAACGGCTACGTGTTTCGACAGCCTGCAGCTGTCTGTG
TGCTGTCAGGAGGTGGCCTACTGGTACATCCTGAGCATCGGCGCCAGACCGACTTCTGTCTGTGTTCTTC
TCTGGCTACACCTTCAAGCACAGATGGTGTACGAGGACACCCTGACCCTGTTCCTTTCAGCGGCGAGACC
GTGTTTCATGAGCATGGAGAACCCCGGCCTGTGGATCCTGGGCTGCCACAACAGCGACTTCAGGAACAGGGGC
ATGACCGCCCTGCTGAAAGTCAGCAGCTGCGACAAGAACACCCGCGACTACTACGAGGACAGCTACGAGGAC
ATCAGCGCCTACCTGCTGAGCAAGAACAACGCCATCGAGCCAGGGAGATCACCAGGACCACTTGCAGAGC
GACCAGGAGGAGATCGACTATGATGACACCATCAGCGTGGAGATGAAGAAGGAGGACTTCGACATCTACGAC
GAGGACGAGAACCAGAGCCCCAGGAGCTTCCAGAAGAAGACCAGGCACACTTTCATCGCCGCGTGGAGAGG
CTGTGGGACTATGGCATGAGCAGCAGCCCCACGTGCTGAGGAACAGGGCCAGAGCGGCAGCGTGGCCAG
TTCAAGAAGGTGGTGTTCAGGAGTTTACCGACGGCAGCTTACCCAGCCCCGTACAGAGGCGAGCTGAAC
GAGCACCTGGGCTGCTGGGCCCCATCATCAGGGCCGAGGTGGAGGACAACATCATGGTGACCTTCAGGAAC
CAGGCCAGCAGGCCCTACAGCTTCTACAGCAGCCTGATCAGCTACGAGGAGGACCAGAGGCAGGGCGCCGAG

(Continuação)

Figura 51A

CCCAGGAAGAACTTCGTGAAGCCCAACGAGACCAAGACCTACTTCTGGAAGGTGCAGCACCACATGGCCCCC
 ACCAAGGACGAGTTCGACTGCAAGGCCTGGGCCTACTTCTCTGATGTGGACCTGGAGAAGGACGTGCACAGC
 GGCCTGATCGGCCCCCTGCTGGTGTGCCACACCAACACCCTGAACCCCGCCACGGCAGGCAGGTGACCGTG
 CAGGAGTTCGCCCTGTTCTTCACCATCTTCGACGAGACCAAGAGCTGGTACTTCACCGAGAACATGGAGAGG
 AACTGCAGGGCCCCCTGCAACATCCAGATGGAGGACCCACCTTCAAGGAGAACTACAGGTTCCACGCCATC
 AACGGCTACATCATGGACACCCTGCCCCGGCCTGGTGTATGGCCCAGGACCAGAGGATCAGGTGGTATCTGCTG
 AGCATGGGCAGCAACGAGAACATCCACAGCATCCACTTCAGCGGCCACGTGTTACCCGTGAGGAAGAAGGAG
 GAGTACAAGATGGCCCTGTACAACCTGTACCCCGGCGTGTTCGAGACCGTGGAGATGCTGCCAGCAAGGCC
 GGCATCTGGAGGGTGGAGTGCCTGATCGGCGAGCACCTGCACGCCGGCATGAGCACCCCTGTTCTTGGTGTAC
 AGCAACAAGTGCCAGACCCCCCTGGGCATGGCCAGCGGCCACATCAGGGACTTCCAGATCACCGCCTCTGGC
 CAGTACGGCCAGTGGGCCCCCAAGCTGGCCAGGCTGCACTACAGCGGCAGCATCAACGCCTGGAGCACCAG
 GAGCCCTTCAGCTGGATCAAGGTGGACCTGCTGGCCCCCATGATCATCCACGGCATCAAGACCCAGGGCGCC
 AGGCAGAAGTTCAGCAGCCTGTACATCAGCCAGTTCATCATCATGTACAGCCTGGACGGCAAGAAGTGGCAG
 ACCTACAGGGGCAACAGCACCGGCCACCCCTGATGGTGTCTTCGGCAACGTGGACAGCAGCGGCATCAAGCAC
 AACATCTTCAACCCCCCATCATCGCCAGGTACATCAGGCTGCACCCACCCACTACAGCATCAGGAGCACC
 CTGCGGATGGAAGTGTATGGGCTGCGACCTGAACAGCTGCAGCATGCCCCCTGGGCATGGAGAGCAAGGCCATC
 TCTGACGCCCAGATCACCGCCAGCAGCTACTTCACCAACATGTTTCGCCACCTGGAGCCCCAGCAAGGCCAGG
 CTGCACCTGCAGGGCAGGAGCAACGCCTGGAGGCCCCAGGTGAACAACCCCAAGGAGTGGCTGCAGGTGGAC
 TTCCAGAAGACCATGAAGGTGACCGGCGTGACCACCCAGGGCGTGAAGAGCCTGCTGACCAGCATGTACGTG
 AAGGAGTTCCTGATCAGCAGCAGCCAGGACGGCCACCAGTGGACCCTGTTCTTCCAGAACGGCAAAGTGAAG
 GTGTTCCAGGGCAACCAGGACAGCTTCACCCCGTGGTGAACAGCCTGGACCCCCCCTGCTGACCAGGTAT
 CTGAGGATCCACCCCCAGAGCTGGGTGCACCAGATCGCCCTGAGAATGGAAGTGCTGGGATGCGAGGCCAG
 GACCTGTACTGA (SEQ ID NO:28)

Figura 51B

CS23Δ(772-1667) - CS23-SC2-NA

ATGCAGATTGAGCTGAGCACCTGCTTCTTCTGTGCCTGCTGAGGTTCTGCTTCTCTGCCACCAGG
AGATACTACCTGGGCGCCGTGGAGCTGAGCTGGGACTACATGCAGTCTGACCTGGGCGAGCTGCCT
GTGGACGCCAGGTTCCCCCCCAGAGTGCCCAAGAGCTTCCCCTTCAACACCTCAGTGGTGTACAAG
AAGACCTGTTCGTGGAGTTCACCGACCACCTGTTCAACATCGCCAAGCCCAGGCCCCCCCTGGATG
GGCCTGCTGGGCCCCACCATCCAGGCCGAGGTGTACGACACCGTGGTGATCACCTGAAGAACATG
GCCAGCCACCCCGTGAGCCTGCACGCCGTGGGCGTGAGCTACTGGAAGGCCTCTGAGGGCGCCGAG
TATGACGACCAGACCAGCCAGAGGGAGAAGGAGGACGACAAGGTGTTCCCGGGCGGCAGCCACACC
TACGTGTGGCAGGTGCTGAAGGAGAACGGCCCCATGGCCAGCGACCCCTGTGCCTGACCTACAGC
TACCTGAGCCACGTGGACCTGGTGAAGGACCTGAACTCTGGCCTGATCGGCGCCCTGCTGGTGTGC
AGGGAGGGCAGCCTGGCCAAGGAGAAGACCCAGACCCTGCACAAGTTTCATCCTGCTGTTTCGCCGTG
TTCGATGAGGGCAAGAGCTGGCACAGCGAGACCAAGAACAGCCTGATGCAGGACAGGGATGCCGCC
TCTGCCAGGGCCTGGCCCCAAGATGCACACCGTGAACGGCTACGTGAACAGGAGCCTGCCCGGCCTG
ATCGGCTGCCACAGGAAGTCTGTGTACTGGCACGTGATCGGCATGGGCACCAACCCCCGAGGTGCAC
AGCATCTTCTGGAGGGGCCACACCTTCCTGGTGAGGAACACAGGCAGGCCAGCCTGGAGATCAGC
CCCATCACCTTCCTGACCGCCCAGACCCCTGCTGATGGACCTGGGCCAGTTTCCTGCTGTTCTGCCAC
ATCAGCAGCCACCAGCACGACGGCATGGAGGCCTACGTGAAGGTGGACAGCTGCCCGGAGGAGCCC
CAGCTGAGGATGAAGAACAACGAGGAGGGCCGAGGACTATGATGATGACCTGACCGACTCTGAGATG
GACGTGGTGAGGTTTGATGATGACAACAGCCCCAGCTTCATCCAGATCAGGTCTGTGGCCAAGAAG
CACCCCAAGACCTGGGTGCACTACATCGCCGCCGAGGAGGAGGACTGGGACTACGCCCCCTGGTG
CTGGCCCCCGACGACAGGAGCTACAAGAGCCAGTACCTGAACAACGGCCCCCAGAGGATCGGCAGG
AAGTACAAGAAGGTGAGATTGATGGCCTACACCGACGAGACCTTCAAGACCAGGGAGGCCATCCAG
CACGAGTCTGGCATCCTGGGCCCCCTGCTGTACGGCGAGGTGGGCGACACCCTGCTGATCATCTTC
AAGAACCAGGCCAGCAGGCCCTACAACATCTACCCCCACGGCATCACCGATGTGAGGCCCCCTGTAC
AGCAGGAGGCTGCCCAAGGGCGTGAAGCACCTGAAGGACTTCCCCATCCTGCCCGGCGAGATCTTC
AAGTACAAGTGGACCGTGACCGTGGAGGATGGCCCCACCAAGTCTGACCCAGGTGCCTGACCAGG
TACTACAGCAGCTTCGTGAACATGGAGAGGGACCTGGCCTCTGGCCTGATCGGCCCCCTGCTGATC
TGCTACAAGGAGAGCGTGGACCAGAGGGGCAACCAGATCATGTCTGACAAGAGGAACGTGATCCTG
TTCTCTGTGTTTCGATGAGAACAGGAGCTGGTATCTGACCGAGAACATCCAGAGGTTTCCTGCCAAC
CCCGCCGGCGTGACGCTGGAGGACCCCGAGTTCCAGGCCAGCAACATCATGCACAGCATCAACGGC
TACGTGTTTCGACAGCCTGCAGCTGTCTGTGTGCCTGCACGAGGTGGCCTACTGGTACATCCTGAGC
ATCGGCGCCCAGACCGACTTCCTGTCTGTGTTCTTCTCTGGCTACACCTTCAAGCACAGATGGTG
TACGAGGACACCCCTGACCTGTTCCTTTCAGCGGCGAGACCGTGTTTCATGAGCATGGAGAACCCC
GGCCTGTGGATCCTGGGCTGCCACAACAGCGACTTCAGGAACAGGGGCATGACCGCCCTGCTGAAA
GTCAGCAGCTGCGACAAGAACACCGGCGACTACTACGAGGACAGCTACGAGGACATCAGCGCCTAC
CTGCTGAGCAAGAACAACGCCATCGAGCCCAGGAGCTTCAGCCAGAACTCCAGACACCCAGCACC

(Continuação)

Figura 52A

AGGGAGATCACCAGGACCACCCTGCAGAGCGACCAGGAGGAGATCGACTATGATGACACCATCAGC
 GTGGAGATGAAGAAGGAGGACTTCGACATCTACGACGAGGACGAGAACCAGAGCCCCAGGAGCTTC
 CAGAAGAAGACCAGGCACTACTTCATCGCCGCCGTGGAGAGGCTGTGGGACTATGGCATGAGCAGC
 AGCCCCACGTGCTGAGGAACAGGGCCCAGAGCGGCAGCGTGCCCCAGTTCAAGAAGGTGGTGTTC
 CAGGAGTTCACCGACGGCAGCTTCACCCAGCCCCCTGTACAGAGGCGAGCTGAACGAGCACCTGGGC
 CTGCTGGGCCCCCTACATCAGGGCCGAGGTGGAGGACAACATCATGGTGACCTTCAGGAACCAGGCC
 AGCAGGCCCTACAGCTTCTACAGCAGCCTGATCAGCTACGAGGAGGACCAGAGGCAGGGCGCCGAG
 CCCAGGAAGAAGTTCGTGAAGCCCCAACGAGACCAAGACCTACTTCTGGAAGGTGCAGCAACCACATG
 GCCCCACCAAGGACGAGTTCGACTGCAAGGCCCTGGGCCCTACTTCTCTGATGTGGACCTGGAGAAG
 GACGTGCACAGCGGCCCTGATCGGCCCCCCCTGCTGGTGTGCCACACCAACACCCTGAACCCCGCCAC
 GGCAGGCAGGTGACCGTGCAGGAGTTCGCCCTGTTCTTACCATCTTCGACGAGACCAAGAGCTGG
 TACTTCAACGAGAACATGGAGAGGAACTGCAGGGCCCCCTGCAACATCCAGATGGAGGACCCCCACC
 TTCAAGGAGAACTACAGGTTCCACGCCATCAACGGCTACATCATGGACACCCTGCCCGGCCCTGGTG
 ATGGCCCAGGACCAGAGGATCAGGTGGTATCTGCTGAGCATGGGCAGCAACGAGAACATCCACAGC
 ATCCACTTCAGCGGCCACGTGTTCCCGTGAGGAAGAAGGAGGAGTACAAGATGGCCCTGTACAAC
 CTGTACCCCGCGTGTTCGAGACCGTGGAGATGCTGCCAGCAAGGCCGGCATCTGGAGGGTGGAG
 TGCCTGATCGGCGAGCACCTGCACGCCGGCATGAGCACCTGTTCTCTGGTGTACAGCAACAAGTGC
 CAGACCCCCCTGGGCATGGCCAGCGGCCACATCAGGGACTTCCAGATCACCGCCTCTGGCCAGTAC
 GGCCAGTGGGCCCCCAAGCTGGCCAGGCTGCACTACAGCGGCAGCATCAACGCCTGGAGCACCAG
 GAGCCCTTCAGCTGGATCAAGGTGGACCTGCTGGCCCCCATGATCATCCACGGCATCAAGACCCAG
 GCGGCCAGGCAGAAGTTCAGCAGCCTGTACATCAGCCAGTTCATCATCATGTACAGCCTGGACGGC
 AAGAAGTGGCAGACCTACAGGGGCAACAGCACCGGCACCCTGATGGTGTTCCTCGGCAACGTGGAC
 AGCAGCGGCATCAAGCACAACATCTTCAACCCCCCATCATCGCCAGGTACATCAGGCTGCACCCC
 ACCACTACAGCATCAGGAGCACCTGCGGATGGAAGTATGGGCTGCGACCTGAACAGCTGCAGC
 ATGCCCCCTGGGCATGGAGAGCAAGGCCATCTCTGACGCCCAGATCACCGCCAGCAGCTACTTCACC
 AACATGTTCCGCCACCTGGAGCCCCAGCAAGGCCAGGCTGCACCTGCAGGGCAGGAGCAACGCCTGG
 AGGCCCCAGGTGAACAACCCCAAGGAGTGGCTGCAGGTGGACTTCCAGAAGACCATGAAGGTGACC
 GCGGTGACCACCCAGGGCGTGAAGAGCCTGCTGACCAGCATGTACGTGAAGGAGTTCCTGATCAGC
 AGCAGCCAGGACGGCCACCAGTGGACCCTGTTCTTCCAGAACGGCAAAGTGAAGGTGTTCCAGGGC
 AACCAGGACAGCTTCACCCCCGTGGTGAACAGCCTGGACCCCCCTGCTGACCAGGTATCTGAGG
 ATCCACCCCCAGAGCTGGGTGCACCAGATCGCCCTGAGAATGGAAGTGTGGGATGCGAGGCCAG
 GACCTGTACTGA (SEQ ID NO:29)

Figura 52B

CS01m23-FL-AA (SEQ ID NO: 104)

MQIELSTCFFLCLLRFCFSATTRYYLGAVELSWDYMQSDLGELPVDARFPFPRVPKSFPFN
TSVVYKKTFLVEFTDHLFNIAPRPPWMGLLGPTIQAEVYDTVVVTLKNMASHPVSLHAV
GVSYWKSSEGAEYDDQTSQREKEDDKVFPGKSHTYVWQVLKENGPTASDPPCLTYSYLSH
VDLVKDLNSGLIGALLVCREGLAKEKTQTLHKFILLFAVFDEGKSWHSETKNSLMQDRD
AASARAWPKMHTVNGYVNRSLPGLIGCHRKSVMVHVGIMGTTPEVHSIFLEGHTFLVRNH
RQASLEISPITFLTAQTLLMDLGQFLLFCHISSHQHDGMEAYVKVDSCPEEPQLRMKNNE
EAEDYDDDLTDSEMDVVRFDDDNSPSFIQIRSVAKKHPKTWVHYIAAEEEDWDYAPLVLA
PDDRSYKSQYLNNGPQRIGRKYKKVRFMAYTDETFKTREAIQHESGILGPLLYGEVGD
TLIIIFKNQASRPYNIYPHGITDVRPLYSRRLPKGVKHLKDFPILPGEIFKYKWTVTVEDGP
TKSDPRCLTRYSSFVNMERDLASGLIGPLLYCYKESVDQQRGNQIMSDKRNVLFSVFDE
NRSWYL TENIQRFLPNPAGVQLEDPEFQASNIMHSINGYVFDLQSLVCLHEVAYWYILS
IGAQTDFLSVFFSGYTFKHKMVYEDTLTLFPFSGETVFMENPGLWILGCHNSDFRNRG
MTALLKVSSCDKNTGDYEDSYEDISAYLLSKNNTTYVNRSLSQNPVVKRHOEITRTT
LQSDQEEIDYDDTISVEMKKEDFDIYDEDENQSPRSFQKKTRHYFIAAVERLWDYGMSSS
PHVLRNRAQSGSVPPQFKKVVQEFQTDGSGFTQPLYRGELNEHLGLLGPYIRAEVEDNIMVT
FRNQASRPYSFYSSLISYEEDQRQGAEPKRFVKNETKTYFWKVQHMAPTKDEFDCKA
WAYFSDVDLEKDVHSGLIGPLLVCHTNTLNPAHGRQVTVQEFALFFTIFDETKSWYFTEN
MERNCRAPCNIQMEDPTFKENYRFHAINGYIMDTLPGLVMAQDQIRWYLLSMGSNENIH
SIHFSGHVFTVRKKEEYKMALYNLYPGVFETVEMLPSKAGIWRVECLIGEHLHAGMSTLF
LVYSNKCQTPGLMASGHIRDFQITASGQYQWAPKLARLHYSGSINAWSTKEPFPSWIKVD
LLAPMIIHGIKTQGARQKFSSLYISQFIIMYSLDGKKWQTYRGNSTGTLMVFFGNVDSSG
IKHNIIFNPPIIARYIRLHPHTYSIRSTLRMELMGCDLNSCSMPLGMESKAISDAQITASS
YFTNMFATWSPSKARLHLQGRSNAWRPQVNNPKEWLQVDFQKTMKVTGVTTQGVKSLTS
MYVKEFLISSQDGHQWTLFFQNGKVVFQGNQDSFTPVVNSLDPPLLTRYLRIHPQSWV
HQIALRMEVLGCEAQDLY

Figura 53

CS04m3-FL-AA (SEQ ID NO: 105)

MQIELSTCFFLCLLRFCFSATTRYYLGAVELSWDYMQSDLGELPVDARFPFPRVPKSFPPN
TSVVYKKTFLVEFTDHLFNIAPRPPWMGLLGPTIQAEVYDTVVITLKNMASHPVSLHAV
GVSYWKASEGAEYDDQTSQREKEDDKVFPGGSHTYVWQVLKENGPMASDPLCLTYSYLSH
VDLVKDLNSGLIGALLVCREGLAKEKTQTLHKFILLFAVFDEGKSWHSETKNSLMQDRD
AASARAWPKMHTVNGYVNRSLPGLIGCHRKSVYWHVIGMGTTPEVHSIFLEGHTFLVRNH
RQASLEISPITFLTAQTLMDLGQFLLFCHISSHQHDGMEAYVKVDSCPEEPQLRMKNNE
EAEDYDDDLTDSEMDVVRFDNNSPSFIQIRSVAKKHPKTWVHYIAAEEEDWDYAPLVLA
PDDRSYKSQYLNNGPQRIGRKYKKVRFMAYTDETFKTREAIQHESGILGPLLYGEVGDTL
LIIIFKNQASRPYNIYPHGITDVRPLYSRRLPKGVKHLKDFPILPGEIFKYKWTVTVEDGP
TKSDPRCLTRYSSFVNMERDLASGLIGPLLYCYKESVDQQRGNQIMSDKRNVLFSVFDE
NRSWYL TENIQRFLPNPAGVQLEDPEFQASNIMHSINGYVFDLQSLVCLHEVAYWYILS
IGAQTDFLSVFFSGYTFKHKMVYEDTLTLFPFSGETVFMENPGLWILGCHNSDFRNRG
MTALLKVSSCDKNTGDYEDSYEDISAYLLSKNNTTYVNRSLSQNPVLRHQREITRTT
LQSDQEEIDYDDTISVEMKKEDFDIYDEDENQSPRSFQKKTRHYFIAAVERLWDYGMSSS
PHVLRNRAQSGSVPPQFKKVVFQEFDTGSGFTQPLYRGELNEHLGLLGPYIRAEVEDNIMVT
FRNQASRPYSFYSSLISYEEDQRQGAEPKRFVKNETKTYFWKVQHMAPTKDEFDCKA
WAYFSDVDLEKDVHSGLIGPLLVCHTNTLNPAHGRQVTVQEFALFFTIFDETKSWYFTEN
MERNCRAPCNIQMEDPTFKENYRFHAINGYIMDTLPGLVMAQDQIRWYLLSMGSNENIH
SIHFSGHVFTVRKKEEYKMALYNLYPGVFETVEMLPSKAGIWRVECLIGEHLHAGMSTLF
LVYSNKCQTPLGMA SGHIRDFQITASGQYQWAPKLARLHYSGSINAWSTKEPFSWIKVD
LLAPMIIHGIKTQGARQKFSSLYISQFIIMYSLDGKKWQTYRGNSTGTLMVFFGNVDSSG
IKHNI FNPPIIARYIRLHPHTYSISRSTLRMELMGCDLNSCSMPLGMESKAISDAQITASS
YFTNMFATWSPSKARLHLQGRSNAWRPQVNNPKEWLQVDFQKTMKVTGVTTQGVKSLTS
MYVKEFLISSSQDGHQWTLFFQNGKVVFQGNQDSFTPVVNSLDPPLLTRYLRIHPQSWV
HQIALRMEVLGCEAQDLY

Figura 54

CS01-FL-AAm12 (SEQ ID NO: 106)

MQIELSTCFFLCLLRFCFSATTRYYLGAVELSWDYMOSDLGELPVDARFPFPRVPKSFPENTSVVYK
 KTLFVEFTDHLFENIAKPRPPWMGLLGPTIQAEVYDTVVVTLKNMASHPVSLHAVGVSYWKSSEGAE
 YDDQTSQREKEDDKVFPGKSHTYVWQVLKENGPTASDPPCLTYSYLSHVDLVKDLNSGLIGALLVC
 REGSLAKEKTQTLHKFILLFAVFDEGKSWHSETKNSLMQDRDAASARAWPKMHTVNGYVNRSLPGL
 IGCHRKSVYWHVIGMGTTPPEVHSIFLEGHTFLVRNHRQASLEISPITFLTAQTLMLDLGQFLLSCH
 ISSHQHDGMEAYVKVDSCPEEPQLRMKNNEEAEDYDDDLTDSEMDVVRFDDDNPSFIQIRSVAKK
 HPKTWVHYIAAEEEDWDYAPLV LAPDDRSYKSQYLNNGPQORIGRKYKKVRFMAYTDETFKTREAIQ
 HESGILGPLLYGEVGDITLLIIFKNQASRPYNIYPHGITDVRPLYSRRLPKGVKHLKDFPILPGEIF
 KYKWTVTVEDGPTKSDPRCLTRYSSFVNMERDLASGLIGPLLYCYKESVDQQRGNQIMSDKRNVL
 FSVFDENRSWYL TENIQRFLEPNPAGVQLEDPEFQASNIMHSINGYVFDSLQLSVCLHEVAYWYILS
 IGAQTDFLSVFFSGYTFKHKMVYEDTLTLFPFSGETVFMSENPGLWILGCHNSDFRNRGMTALLK
 VSSCDKNTGDYYEDSYEDISAYLLSKNNAIEPRSFSONPPVLKRHQREITRTTLQSDQEEIDYDDT
 ISVEMKKEDFDIYDEDENQSPRSFQKKTRHYFIAAVERLWDYGMSSSPHVLNRNRAQSGSVPPQFKKV
 VFQEFDTGDSFTQPLYRGELNEHLGGLGPYIRAEVEDNIMVTFRNQASRPYSFYSSLISYEEDQRQG
 AEPRKNFVKPNETKTYFWKVQHMAPTKDEFDCKAWAYFSDVDLEKDVHSGGLIGPLLVCHTNTLNP
 AHGRQVTVQEFALFFTIIFDETKSWYFTENMERNCRAPCNIQMEDPTFKENYRFHAINGYIMDTLPG
 LVMAQDQIRIRWYLLSMGSNENIHSIHFSGHVFTVRKKEEYKMALYNLYPGVFETVEMLPKAGIWR
 VECLIGEHLHAGMSTLFLVYSNKCQTPLGMASGHIRDFQITASGQYGQWAPKLARLHYSGSINAW
 TKEPFSWIKVDLLAPMIIHGIKTQGARQKFSSLYISQFIIMYSLDGKKWQTYRGNSTGTLMVFFGN
 VDSSGIKHNI FNPPIIARYIRLHPHTHYSIRSTLRMELMGCDLNSCSMPLGMESKAISDAQITASSY
 FTNMFATWSPSKARLHLQGRSNAWRPQVNNPKEWLQVDFQKTMKVTGVTQGVKSLLTSMYVKEFL
 ISSSQDGHQWTLFFQNGKVVFQGNQDSFTPVVNSLDPPLLTRYLRHPQSWVHQIALRMEVLGCE
 AQDLY

Figura 55

CS04-FL-AAm12 (SEQ ID NO: 107)

MQIELSTCFLLRFCFSATTRYYLGAVELSWDYMOSDLGELPVDARFPFPRVPKSPFNTSVVYK
 KTLFVEFTDHLFENIAKPRPPWMGLLGPTIQAEVYDTVVVTLKNMASHPVSLHAVGVSYWKSSEGAE
 YDDQTSQREKEDDKVFPGKSHTYVWQVLKENGPTASDPPCLTYSYLSHVDLVKDLNSGLIGALLVC
 REGSLAKEKTQTLHKFILLFAVFDEGKSWHSETKNSLMQDRDAASARAWPKMHTVNGYVNRSLPGL
 IGCHRKSVYWHVIGMGTTPEVHSIFLEGHTFLVRNHRQASLEISPITFLTAQTLMLDLGQFLLSCH
 ISSHQHDGMEAYVKVDSCPEEPQLRMKNNEEAEDYDDDLTDSEMDVVRFDDDNPSFIQIRSVAKK
 HPKTWVHYIAAEEEDWDYAPLV LAPDDRSYKSQYLNNGPQIRGRKYKKVRFMAYTDETFKTREAIQ
 HESGILGPLLYGEVGDITLLIIFKNQASRPYNIYPHGITDVRPLYSRRLPKGVKHLKDFPILPGEIF
 KYKWTVTVEDGPTKSDPRCLTRYSSFVNMERDLASGLIGPLLYCYKESVDQQRGNQIMSDKRNVL
 FSVFDENRSWYL TENIQRFLEPNPAGVQLEDPEFQASNIMHSINGYVFDLSQLSVCLHEVAYWYILS
 IGAQTDFLSVFFSGYTFKHKMVYEDTLTLFPFSGETVFMENPGLWILGCHNSDFRNRGMTALLK
 VSSCDKNTGDYYEDSYEDISAYLLSKNNAIEPRSFSONPPVLKRHQREITRTTLQSDQEEIDYDDT
 ISVEMKKEDFDIYDEDENQSPRSFQKKTRHYFIAAVERLWDYGMSSSPHVLNRNRAQSGSVPPQFKKV
 VFQEFDTGDSFTQPLYRGELNEHLGGLGPYIRAEVEDNIMVTFRNQASRPYSFYSSLISYEEDQRQG
 AEPRKNFVKPNETKTYFWKVQHMAPTKDEFDCKAWAYFSDVDLEKDVHSGGLIGPLLVCHTNTLNP
 AHGRQVTVQEFALFFTIIFDETKSWYFTENMERNCRAPCNIQMEDPTFKENYRFHAINGYIMDTLPG
 LVMAQDQIRIRWYLLSMGSNENIHSIHFSGHVFTVRKKEEYKMALYNLYPGVFETVEMLPKAGIWR
 VECLIGEHLHAGMSTLFLVYSNKCQTPLGMASGHIRDFQITASGQYGQWAPKLARLHYSGSINAW
 TKEPFSWIKVDLLAPMIIHGIKTQGARQKFSSLYISQFIIMYSLDGKKWQTYRGNSTGTLMVFFGN
 VDSSGIKHNI FNPPIIARYIRLHPHTHYSIRSTLRMELMGCDLNSCSMPLGMESKAISDAQITASSY
 FTNMFATWSPSKARLHLQGRSNAWRPQVNNPKEWLQVDFQKTMKVTGVTQGVKSLLTSMYVKEFL
 ISSSQDGHQWTLFFQNGKVVFQGNQDSFTPVVNSLDPPLLTRYLRHPQSWVHQIALRMEVLGCE
 AQDLY

Figura 56

CS01-FL-NAm12 (SEQ ID NO: 108)

ATGCAGATTGAGCTGTCCACCTGCTTCTTTCTGTGCCTGCTGAGATTCTGCTTCTCTGCCACCAGG
AGATACTACCTGGGGGCTGTGGAACTTTCTTGGGACTACATGCAGTCTGACCTGGGAGAGCTGCCT
GTGGATGCCAGGTTCCACCCAGAGTGCCCAAGTCTTCCCATTCAACACCTCTGTGGTCTACAAG
AAGACACTCTTTGTGGAATTCAGTACCACCTGTTCAACATTGCAAAACCCAGACCACCCTGGATG
GGACTCCTGGGACCCACCATTCAGGCTGAGGTGTATGACACTGTGGTCTGTCACCTCAAGAATG
GCATCCACCCCTGTGTCTCTGCATGCTGTGGGAGTCTCATACTGGAAATCCTCTGAAGGGGCTGAG
TATGATGACCAGACATCCCAGAGAGAGAAAAGAGGATGACAAGGTGTTCCCTGGGAAGTCTCACACC
TATGTGTGGCAAGTCTCAAGGAGAAATGGACCCACTGCATCTGACCCACCCTGCCTGACATACTCC
TACCTTTCTCATGTGGACCTGGTCAAGGACCTCAACTCTGGACTGATTGGGGCACTGCTGGTGTGC
AGGGAAGGATCCCTGGCCAAGGAGAAAACCCAGACACTGCACAAGTTCAATTCTCTGTTTGTGCTGTC
TTTGATGAGGGCAAGTCTTGGCACTCTGAAACAAAGAATCCCTGATGCAAGACAGGGATGCTGCC
TCTGCCAGGGCATGGCCCAAGATGCACACTGTGAATGGCTATGTGAACAGATCACTGCCTGGACTC
ATTGGCTGCCACAGGAAAATCTGTCTACTGGCATGTGATTGGCATGGGGACAACCCCTGAAGTGCAC
TCCATTTTCTGAGGGGACACACCTTCTGGTCAAGAACACAGACAAGCCTCTCTGGAGATCTCT
CCCATCACCTTCTCACTGCACAGACACTGCTGATGGACCTTGGACAGTTCTCTGTCTCTGCCAC
ATCTCTTCCCACCAGCATGATGGCATGGAAGCCTATGTCAAGGTGGACTCATGCCCTGAGGAACCA
CAGCTCAGGATGAAGAACAATGAGGAGGCTGAGGACTATGATGATGACCTGACTGACTCTGAGATG
GATGTGGTCAGATTTGATGATGACAACTCTCCATCCTTCATTGATCAGGTCTGTGGCAAAGAAA
CACCCCAAGACATGGGTGCACTACATTGCTGCTGAGGAAGAGGACTGGGACTATGCACCACTGGTC
CTGGCCCTGATGACAGGAGCTACAAGTCTCAGTACCTCAACAATGGCCACAAGAATTGGAAGA
AAGTACAAGAAAGTCAGATTCATGGCCTACACTGATGAAACCTTCAAGACAAGAGAAGCCATTGAG
CATGAGTCTGGCATTCTGGGACCACTCCTGTATGGGGAAGTGGGAGACACCCTGCTCATCATCTTC
AAGAACCAGGCCTCCAGGCCCTACAACATCTACCCACATGGCATCACTGATGTGAGGCCCTGTAC
AGCAGGAGACTGCCAAAAGGGGTGAAACACCTCAAGGACTTCCCATTCTGCCTGGAGAGATCTTC
AAGTACAAGTGGACTGTCACTGTGGAGGATGGACCAACAAAGTCTGACCCAGGTGCCTCACCAGA
TACTACTCCTCTTTTGTGAACATGGAGAGAGACCTGGCATCTGGACTGATTGGACCACTGCTCATC
TGCTACAAGGAGTCTGTGGACCAGAGAGGCAACCAGATCATGTCTGACAAGAGAAATGTGATTCTG
TTCTCTGTCTTTGATGAGAACAGATCATGGTACCTGACTGAGAACATTGAGAGATTCTGCCCCAAC
CCTGCTGGGGTGCAACTGGAAGACCCTGAGTTCCAGGCAAGCAACATCATGCACTCCATCAATGGC
TATGTGTTTACTCTCTCCAGCTTCTGTCTGCCTGATGAGGTGGCCTACTGGTACATTCTTTCT
ATTGGGGCACAACTGACTTCCTTTCTGTCTTCTTCTCTGGATACACCTTCAAGCACAGATGGTG
TATGAGGACACCCTGACACTCTTCCCATTCTCTGGGGAACCTGTGTTTATGAGCATGGAGAACCCT
GGACTGTGATTCTGGGATGCCACAACCTCTGACTTCAGAAACAGGGGAATGACTGCACTGCTCAAA
GTCTCCTCCTGTGACAAGAACAACCTGGGGACTACTATGAGGACTCTTATGAGGACATCTCTGCCTAC
CTGCTCAGCAAGAACAATGCCATTGAGCCCAGAAGCTTCTCTCAGAATCCACCTGTCTGAAGAGA
CACCAGAGAGAGATCACCAGGACAACCCTCCAGTCTGACCAGGAAGAGATTGACTATGATGACACC
ATTTCTGTGGAGATGAAGAAGGAGGACTTTGACATCTATGATGAGGACGAGAACCAGTCTCCAAGA
TCATTCCAGAAGAAGACAAGACACTACTTCATTGCTGCTGTGGAAAGACTGTGGGACTATGGCATG
TCTTCTCTCCCCATGTCTCAGGAACAGGGCACAGTCTGGCTCTGTGCCACAGTTCAAGAAAGTG

(Continuação)

Figura 57A

GTCTTCCAGGAGTTCACTGATGGCTCATTACCCAGCCCCTGTACAGAGGGGAACGAATGAGCAC
 CTGGGACTCCTGGGACCATACATCAGGGCTGAGGTGGAAGACAACATCATGGTGACATTCAGAAAC
 CAGGCCTCCAGGCCCTACAGCTTCTACTCTTCCCTCATCAGCTATGAGGAAGACCAGAGACAAGGG
 GCTGAGCCAAGAAAGAACTTTGTGAAACCCAATGAAACCAAGACCTACTTCTGGAAAGTCCAGCAC
 CACATGGCACCCACCAAGGATGAGTTTGACTGCAAGGCCTGGGCATACTTCTCTGATGTGGACCTG
 GAGAAAGATGTGCACTCTGGCCTGATTGGGCCACTCCTGGTCTGCCACACCAACACCCTGAACCT
 GCACATGGAAGGCAAGTGACTGTGCAGGAGTTTGCCCTCTTCTTCACCATCTTTGATGAAACCAAG
 TCATGGTACTTCACTGAGAACATGGAGAGAACTGCAGAGCACCATGCAACATTGAGATGGAAGAC
 CCCACCTTCAAGGAGAACTACAGGTTCCATGCCATCAATGGCTACATCATGGACACCCTGCCTGGG
 CTTGTTCATGGCACAGGACCAGAGAATCAGATGGTACCTGCTTTCTATGGGATCCAATGAGAACATT
 CACTCCATCCACTTCTCTGGGCATGTCTTCACTGTGAGAAAGAAGGAGGAATACAAGATGGCCCTG
 TACAACCTCTACCCTGGGGTCTTTGAGACTGTGGAGATGCTGCCCTCCAAAGCTGGCATCTGGAGG
 GTGGAATGCCTCATTGGGGAGCACCTGCATGCTGGCATGTCAACCCTGTTCTGGTCTACAGCAAC
 AAGTGCCAGACACCCCTGGGAATGGCCTCTGGCCACATCAGGGACTTCCAGATCACTGCCTCTGGC
 CAGTATGGCCAGTGGGCACCCAACTGGCCAGGCTCCACTACTCTGGCTCCATCAATGCATGGTCA
 ACCAAGGAGCCATTCTCTTGGATCAAGGTGGACCTGCTGGCACCCATGATCATTGATGGCATCAAG
 ACACAGGGGGCAAGACAGAAATTCTCCTCTCTGTACATCTCACAGTTCATCATCATGTACTCTCTG
 GATGGCAAGAAGTGGCAGACATACAGAGGCAACTCCACTGGCACCCCTCATGGTCTTCTTTGGCAAT
 GTGGACAGCTCTGGCATCAAGCACAACATCTTCAACCCTCCCATCATTGCCAGATACATCAGGCTG
 CACCCACCCACTACTCAATCAGATCAACCCTCAGGATGGAAGTATGGGATGTGACCTGAACTCC
 TGCTCAATGCCCCCTGGGAATGGAGAGCAAGGCCATTTCTGATGCCAGATCACTGCATCCTCTTAC
 TTCACCAACATGTTTGCCACCTGGTCACCATCAAAAGCCAGGCTGCACCTCCAGGGAAGAAGCAAT
 GCCTGGAGACCCAGGTCAACAACCCAAAGGAATGGCTGCAAGTGGACTTCCAGAAGACAATGAAA
 GTCACCTGGGGTGACAACCCAGGGGGTCAAGTCTCTGCTCACCTCAATGTATGTGAAGGAGTTCCTG
 ATCTCTTCTCACAGGATGGCCACCAAGTGGACACTCTTCTTCCAGAATGGCAAAGTCAAGGTGTTT
 CAGGGCAACCAGGACTCTTTCACACCTGTGGTGAACCTCACTGGACCCCCCTCCTGACAAGATAC
 CTGAGAATTACCCCCAGTCTTGGGTCCACCAGATTGCCCTGAGAATGGAAGTCTGGGATGTGAG
 GCACAAGACCTGTACTGA

Figura 57B

(Continuação)

Petição 870180039850, de 14/05/2018, pág. 252/255

CAGGCCTCCAGGCCCTACAGCTTCTACAGCTCCCTCATCAGCTATGAGGAGGACCAGAGGCAGGGG
 GCTGAGCCACGCAAGAACCTTTGTGAAACCCAATGAAACCAAGACCTACTTCTGGAAGTCCAGCAC
 CACATGGCCCCCACCAGGATGAGTTTGACTGCAAGGCCTGGGCCTACTTCTCTGATGTGGACCTG
 GAGAAGGATGTGCACTCTGGCCTGATTGGCCCACTCCTGGTCTGCCACACCAACACCCTGAACCT
 GCCCATGGAAGGCAAGTGACTGTGCAGGAGTTTGCCCTCTTCTTACCATCTTTGATGAAACCAAG
 AGCTGGTACTTCACTGAGAACATGGAGCGCAACTGCAGGGCCCCATGCAACATTGAGATGGAGGAC
 CCCACCTTCAAAGAGAACTACCGCTTCCATGCCATCAATGGCTACATCATGGACACCCTGCCTGGG
 CTTGTTCATGGCCCAGGACCAGAGGATCAGSTGGTACCTGCTTTCTATGGGCTCCAATGAGAACATT
 CACTCCATCCACTTCTCTGGGCATGTCTTCACTGTGCGCAAGAAGGAGGAGTACAAGATGGCCCTG
 TACAACCTCTACCCCTGGGGTCTTTGAGACTGTGGAGATGCTGCCCTCCAAAGCTGGCATCTGGAGG
 GTGGAGTGCCTCATTGGGGAGCACCTGCATGCTGGCATGAGCACCTGTTTCTGGTCTACAGCAAC
 AAGTGCCAGACCCCCCTGGGAATGGCCTCTGGCCACATCAGGGACTTCCAGATCACTGCCTCTGGC
 CAGTATGGCCAGTGGGCCCCCAAGCTGGCCAGGCTCCACTACTCTGGATCCATCAATGCCTGGAGC
 ACCAAGGAGCCATTGAGCTGGATCAAAGTGGACCTGCTGGCCCCCATGATCATCCATGGCATCAAG
 ACCCAGGGGGCCAGGCAGAACTTCTCCAGCCTGTACATCAGCCAGTTCATCATCATGTACAGCCTG
 GATGGCAAGAAATGGCAGACCTACAGAGGCAACTCCACTGGAACACTCATGGTCTTCTTTGGCAAT
 GTGGACAGCTCTGGCATCAAGCACAAACATCTTCAACCCCCCAATCATCGCCAGATACATCAGGCTG
 CACCCACCCACTACAGCATCCGCAGCACCTCAGGATGGAGCTGATGGGCTGTGACCTGAACTCC
 TGCAGCATGCCCCCTGGGCATGGAGAGCAAGGCCATTTCTGATGCCAGATCACTGCCTCCAGCTAC
 TTCACCAACATGTTTGCCACCTGGAGCCCAAGCAAGGCCAGGCTGCACCTCCAGGGAAGGAGCAAT
 GCCTGGAGGGCCCCAGGTCAACAACCCAAAGGAGTGGCTGCAGGTGGACTTCCAGAAGACCATGAAG
 GTCATGGGGTGACCACCCAGGGGGTCAAGAGCCTGCTCACCAGCATGTATGTGAAGGAGTTCTTG
 ATCAGCTCCAGCCAGGATGGCCACCAGTGGACCTCTTCTTCCAGAATGGCAAGGTCAAGGTGTTT
 CAGGGCAACCAGGACAGCTTCACCCCTGTGGTGAACAGCCTGGACCCCCCTCCTGACCAGATAC
 CTGAGGATTACCCCCAGAGCTGGGTCCACCAGATTGCCCTGAGGATGGAGGTCTGGGATGTGAG
 GCCCAGGACCTGTACTGA

Figura 58B