



República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

(21) **PI0620240-3 A2**

(22) Data de Depósito: 20/12/2006
(43) Data da Publicação: 08/11/2011
(RPI 2131)



(51) *Int.Cl.:*
C07K 16/22
A61K 39/395

(54) **Título:** ANTICORPO MONOCLONAL, USO DO MESMO E COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA

(30) **Prioridade Unionista:** 23/12/2005 US 60/753,956

(73) **Titular(es):** Eli Lilly And Company

(72) **Inventor(es):** Brian Edward Jones, James D. Pancook, Scott William Rowlinson

(74) **Procurador(es):** Dannemann, Siemsen, Bigler & Ipanema Moreira

(86) **Pedido Internacional:** PCT US2006062397 de 20/12/2006

(87) **Publicação Internacional:** WO 2007/076391 de 05/07/2007

(57) **Resumo:** ANTICORPO MONOCLONAL, USO DO MESMO E COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA. A presente invenção fornece anticorpos de afinidade muito alta, ou fragmentos de ligação de antígeno desses, que neutralizam TGF β 1, TGF β 2, e TGF β 3 maduros humanos. Os anticorpos da invenção são úteis para tratar distúrbios proliferativos celulares em um mamífero.

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "ANTICORPO MONOCLONAL, USO DO MESMO E COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA".

CAMPO DA INVENÇÃO

A invenção refere-se ao tratamento de doenças, distúrbios e condições proliferativas celulares associadas com TGF- β . Em particular, a invenção fornece anticorpos e fragmentos de ligação a antígeno dos mesmos que neutralizam TGF- β 1, - β 2, e - β 3 maduros, humanos.

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

A família de proteínas TGF- β consiste em três isoformas distintas (TGF- β 1, - β 2, e - β 3) cujas vias ativam e regulam respostas de múltiplos genes que influenciam estados de doença tais como, por exemplo, condições celulares proliferativas, inflamatórias e cardiovasculares. A expressão de isoforma de TGF- β no câncer é complexa e variável com diferentes combinações de isoformas de TGF- β que têm papéis diferentes em cânceres particulares. Por exemplo, TGF- β 1 e - β 3 desempenham um papel maior no câncer ovariano e sua progressão do que TGF- β 2; enquanto que a expressão de TGF- β 1 e β 2 é maior em tumores de condrossarcoma de grau elevado do que - β 3. No câncer de mama humano, TGF- β 1 e β 3 são altamente expressos, com a expressão de β 3 se correlacionando com a sobrevida global – pacientes com metástases nodais e expressão positiva de TGF- β 3 têm evolução prognóstica ruim. Entretanto, no câncer de cólon, TGF- β 1 e β 2 são mais altamente expressos do que β 3 e estão presentes em níveis circulantes maiores do que em indivíduos livres de câncer. No câncer de glioma, TGF- β 2 é essencial para a migração celular. Conseqüentemente, existe uma necessidade de modular a expressão de múltiplas isoformas de TGF- β em condições de proliferação celular tais como câncer.

US 5.571.714 descreve o uso de anticorpos anti-TGF no tratamento de malignidades e câncer metastático e, em particular, descreve um anticorpo de murino designado 1D11.16 (ATCC No. HB9849), que é dito se ligar a ambos TGF- β 1 e - β 2. Esse documento estabelece que o anticorpo 1D11.16 se liga ao TGF- β 2 com um K_a de apenas $3,4 \times 10^8$ L/mol ($K_d = 1/K_a$).

O tratamento de distúrbios proliferativos celulares, tais como malignidades e cânceres, pode ser melhorado pelo uso de anticorpos que neutralizam TGF- β 1, - β 2, e - β 3 maduros, humanos, com cinética de ligação e afinidade melhoradas. Estabilidade física e química substanciais, farmacocinética adequada e boa solubilidade também são desejáveis para um produto farmacêutico. Conseqüentemente, permanece uma necessidade não atingida por anticorpos que têm características adequadas para o tratamento farmacêutico de distúrbios proliferativos celulares.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

A presente invenção fornece composições de anticorpo monoclonal que neutralizam TGF- β 1, - β 2 e - β 3 maduros humanos com um K_d menor do que 4 pM para TGF- β 1 maduro humano e uma K_d menor do que 8 pM para TGF- β 2 maduro humano e uma k_d menor do que 4 pM para TGF- β 3 maduro humano. A invenção também fornece anticorpos que têm as seguintes combinações de seqüências de região variável de cadeia leve (LCRV) e de região variável de cadeia pesada (HCVR): SEQ ID NO: 27 e 51, 27 e 59, 27 e 60, 27 e 61, 27 e 62, 27 e 63, 27 e 64, 28 e 52, 29 e 51, 30 e 53, 31 e 54, 32 e 55, 33 e 56, 34 e 51, 34 e 57, 35 e 58, 36 e 51, 36 e 69, 36 e 75, 37 e 51, 38 e 51, 39 e 51, 40 e 51, 41 e 64, 41 e 67, 42 e 66, 43 e 68, 44 e 66, 45 e 51, 45 e 69, 46 e 70, 46 e 71, 47 e 71, 48 e 72, 49 e 73, 50 e 65, ou 50 e 74.

A invenção também inclui fragmentos de ligação de antígeno de tais anticorpos, assim como anticorpos e fragmentos que têm regiões de arcabouços e constantes humanas ou humanizadas. Os anticorpos e fragmentos da invenção são úteis para tratar doenças, distúrbios e condições proliferativas celulares.

Em uma modalidade, os anticorpos da presente invenção neutralizam TGF- β 1 maduro humano, TGF- β 2 maduro humano e TGF- β 3 maduro humano, e têm um IC_{50} menor do que ou igual a cerca de 100 pM para TGF- β 1 maduro humano, uma IC_{50} menor do que ou igual a cerca de 400 pM para TGF- β 2 maduro humano e um IC_{50} menor do que ou igual a cerca de 200 pM para TGF- β 3 maduro humano em um ensaio de neutralização de

Célula HT-2 *in vitro*.

Em uma modalidade, os anticorpos da presente invenção compreendem uma região variável de cadeia pesada (HCVR) e uma região variável de cadeia leve (LCVR), em que a dita HCVR compreende um peptídeo em CDRH1 com a sequência mostrada em SEQ ID NO: 96 ou SEQ ID NO: 100, um peptídeo em CDRH2 com a sequência mostrada em SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO:99, SEQ ID NO: 101 ou SEQ ID NO: 102 e um peptídeo em CDRH3 com a sequência mostrada em SEQ ID NO: 98 e em que a dita LCVR compreende um peptídeo em CDRL1 com a sequência mostrada em SEQ ID NO: 88, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 92, ou SEQ ID NO: 93, um peptídeo em CDRL2 com a sequência mostrada na SEQ ID NO:89 ou SEQ ID NO: 94 e um peptídeo em CDRL3 com a sequência mostrada na SEQ ID NO:90 ou SEQ ID NO:95.

Em uma modalidade, anticorpos da presente invenção ainda compreendem uma região de arcabouço humana.

Em outra modalidade, os anticorpos da presente invenção compreendem uma HCVR com a sequência selecionada a partir do grupo que consiste em SEQ ID NO: 64, 68, 69, 70 e 74 e uma LCVR com a sequência selecionada a partir do grupo que consiste em SEQ ID NO: 41, 43, 45, 46, e 50.

Em outra modalidade, os anticorpos da presente invenção compreendem uma HCVR com a sequência mostrada em SEQ ID NO: 69 e uma LCVR a sequência mostrada em SEQ ID NO: 45.

Em uma modalidade, os anticorpos da presente invenção compreendem uma cadeia pesada a sequência selecionada a partir do grupo que consiste em SEQ ID NO: 77, 79, 81, 83 e 85 e uma cadeia leve com a sequência selecionada a partir do grupo do grupo que consiste em SEQ ID NO: 76, 78, 80, 82, e 84.

Em uma modalidade, os anticorpos da presente invenção compreendem uma cadeia pesada a sequência mostrada em SEQ ID NO: 81 e uma cadeia leve com a sequência mostrada em SEQ ID NO: 80.

A invenção fornece um método de tratar distúrbios proliferativos celulares em um mamífero, preferivelmente um primata e mais preferivel-

mente um ser humano, que compreende administrar a um mamífero que necessita de tal tratamento uma quantidade eficaz de um anticorpo da invenção ou um fragemento do mesmo.

5 A invenção fornece um método de tratar uma doença ou condição, na qual a fibrogênese e/ou angiogênese mediadas por TGF- β estão implicadas, em um mamífero, preferivelmente um primata e mais preferivelmente um ser humano, incluindo síndrome mielodisplásica (MDS)/distúrbio mieloproliferativo (MPD), câncer de mama, câncer de próstata, câncer ovariano, carcinoma hepatocelular, câncer pancreático, mieloma múltiplo, câncer
10 colorretal, outras malignidades hematológicas (leucemia de células pilosas, CML, AML, etc), que compreende administrar a um mamífero que necessita de tal tratamento uma quantidade eficaz de um anticorpo da invenção ou um fragmento do mesmo. Isso pode ainda compreender administrar ao mamífero uma quantidade eficaz de um agente terapêutico diferente dos anticorpos
15 anti-TGF- β , tal como um agente quimioterápico, agente antiangiogênico ou quimioterápico citotóxico.

Em outra modalidade, a invenção fornece um método para tratar um paciente com câncer de mama metastático que superexpressa HER-2, que compreende administrar ao paciente uma quantidade eficaz de um anti-
20 corpo da invenção e de um anticorpo que bloqueia a sinalização através do receptor de HER-2, isto é trastuzumab.

A presente invenção também fornece uma composição farmacêutica que compreende um anticorpo da invenção em combinação com um veículo, diluente ou excipiente farmacêuticamente aceitável.

25 Essa invenção também fornece o uso de um anticorpo da invenção para a produção de um medicamento para tratamento de distúrbios proliferativos celulares em mamíferos. Além disso, essa invenção fornece uma composição farmacêutica adaptada para tratamento de distúrbios proliferativos celulares que compreende um anticorpo da invenção em combinação
30 com um ou mais excipientes, veículos ou diluentes farmacêuticamente aceitáveis do mesmo. A invenção também fornece o uso de um anticorpo da invenção para a produção de um medicamento para tratamento de uma doen-

ça ou condição capaz de ser melhorada ou prevenida pela neutralização das atividades de TGF- β .

Essa invenção também fornece o uso de um anticorpo da invenção para a produção de um medicamento para tratamento de uma doença ou condição na qual a fibrogênese e/ou angiogênese mediadas por TGF- β estão implicadas, em um mamífero, preferivelmente um primata e mais preferivelmente um ser humano, incluindo MDS/MPD, câncer de mama, câncer de próstata, câncer ovariano, carcinoma hepatocelular, câncer pancreático, mieloma múltiplo, câncer colorretal, outras malignidades hematológicas (leucemia de células pilosas, CML, AML, etc), que compreende administrar a um mamífero que necessita de tal tratamento uma quantidade eficaz de um anticorpo da invenção ou um fragmento do mesmo. Isso pode ainda compreender administrar ao mamífero uma quantidade eficaz de um agente terapêutico diferente dos anticorpos anti-TGF- β , tal como um agente quimioterápico, agente antiangiogênico ou agente citotóxico ou uma citocina. Além disso, essa invenção fornece uma composição farmacêutica adaptada para o tratamento de condições nas quais a neutralização ou redução de atividades de TGF- β poderia ser benéfica em um mamífero, incluindo MDS/MPD, câncer de mama, câncer de próstata, câncer ovariano, carcinoma hepatocelular, câncer pancreático, mieloma múltiplo, câncer colorretal, outras malignidades hematológicas (leucemia de células pilosas, CML, AML, etc), que compreende um anticorpo da invenção em combinação com um ou mais excipientes, veículos ou diluentes farmacêuticamente aceitáveis. A invenção também fornece o uso de um anticorpo da invenção para a produção de um medicamento para tratar uma doença ou condição capaz de ser melhorada ou prevenida pela neutralização ou redução de atividades de TGF- β .

BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

FIGS. 1A e B mostram as seqüências de aminoácidos das regiões variáveis de cadeia pesada e cadeia leve dos anticorpos preferidos da invenção, respectivamente. Os domínios de CDR estão em negrito.

FIGURAS. 2A e B mostram o alinhamento da seqüência de aminoácidos dos domínios de CDR dos anticorpos preferidos da presente in-

venção. As variações estão em **negrito e sublinhadas**.

FIGURA 3 lista as seqüências de aminoácidos de cadeia leve e cadeia pesada de um anticorpo monoclonal da invenção, isto é mAb 12.7.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

5 O termo um "anticorpo monoclonal" refere-se a uma composição com uma população de anticorpos homogênea, que compreende quatro cadeias peptídicas, duas cadeias pesadas (H) e duas cadeias leves (L) interligadas por ligações de dissulfeto. A porção aminoterminal de cada cadeia inclui uma região variável de cerca de 100-110 ou mais aminoácidos. Essa

10 região variável de cada cadeia inclui três regiões de determinação de complementaridade (CDRs) que reconhecem e se ligam a um antígeno em particular. Um "anticorpo monoclonal" pode ser um anticorpo intacto (que compreende uma cadeia leve completa e uma cadeia pesada completa), um anticorpo substancialmente intacto, ou uma porção ou fragmento de um anti-

15 corpo que compreende uma porção de ligação de antígeno, por exemplo, um fragmento Fab, ou fragmento F(ab')₂ de um anticorpo. Além disso, um "anticorpo monoclonal" pode ser um fragmento variável de cadeia única (scFv), que consiste na região variável de cadeia pesada (VH) e na região variável de cadeia leve (VL) de um anticorpo unidas por um ligante peptídico flexível.

20 Uma "população de anticorpo homogênea" refere-se a uma população de anticorpo homogênea ou substancialmente homogênea (isto é, pelo menos cerca de 85%, 87%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, mais preferivelmente pelo menos cerca de 97% ou 98% ou o mais preferivelmente pelo menos 99% dos anticorpos na população poderiam competir

25 em um ensaio de ELISA pelo mesmo antígeno ou epitopo). Anticorpos podem ou não ser glicosilados e ainda estão dentro dos limites da invenção. Anticorpos monoclonais podem ser homogêneos se eles tiverem seqüência de aminoácido idêntica embora eles possam diferir em uma modificação pós-traducional, por exemplo padrão de glicosilação.

30 O termo "quantidade eficaz" é tido como significando uma dose de um composto necessária para se obter o efeito farmacológico desejado.

O termo "epitopo" refere-se àquela porção de uma molécula ca-

paz de ser reconhecida e ligada por um anticorpo em uma ou mais das regiões de ligação ao antígeno do anticorpo. Epitopos consistem frequentemente em um agrupamento de superfície quimicamente ativa de moléculas tais como aminoácidos ou cadeias laterais de açúcar e têm características estruturais tridimensionais específicas assim como características de carga específicas.

O termo "Kd" refere-se à constante de dissociação de uma interação anticorpo-antígeno em particular. Ela é calculada pela fórmula $k_{off}/k_{on} = Kd$. O termo " k_{on} " refere-se à associação ou constante de ligação (on rate), ou taxa de reação específica, da reação ativadora, ou formadora de complexo, medida em unidades: M-1sec-1. O termo " k_{off} " refere-se à dissociação ou constante de desligamento (off rate), ou taxa de reação específica para a dissociação de um anticorpo do complexo anticorpo/antígeno, medida em unidades: 1/segundo. A afinidade de um anticorpo monoclonal da presente invenção está frequentemente correlacionada com uma k_{off} menor do que com uma k_{on} maior, entretanto, não estando limitado pela teoria, modalidades de ambas k_{off} e k_{on} melhoradas são abrangidas. Em uma modalidade mais preferida, anticorpos monoclonais da presente invenção são anticorpos de alta potência ou fragmentos dos mesmos, geralmente exibindo valores de k_{off} baixos.

O termo "neutralizar" como usado aqui com relação a uma atividade de um anticorpo monoclonal da invenção significa a habilidade de antagonizar, impedir, evitar, reprimir, retardar, interromper, eliminar, parar, reduzir ou reverter substancialmente, por exemplo, a progressão ou severidade daquilo que está sendo inibido incluindo, mas não-limitado, a atividade ou propriedade biológica, uma doença ou condição. A inibição ou neutralização é preferivelmente pelo menos 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% ou maior.

Com relação às capacidades de ligação e neutralização de anticorpos da invenção, o TGF- β referido aqui é a forma madura, humana, biologicamente ativa de TGF- β 1, TGF- β 2, e TGF- β 3 (SEQ ID NO: 1, 2, e 3). Veja também, por exemplo, No. de acesso NCBI: P01137, NP_003229, e

NP_003230 que descrevem as seqüências de DNA e aminoácido de, respectivamente, TGF- β 1, - β 2, e - β 3 humanos (incluindo seus domínios precursores e porções maduras). Um TGF- β 1, - β 2, ou - β 3 homodimérico ligado por dissulfeto maduro contém dois polipeptídeos de 112 aminoácidos e tem uma massa molecular prevista de aproximadamente 25 kDa. Anticorpos da invenção se ligam e neutralizam tais isoformas de TGF- β maduras, mas não mostram ligação significativa de isoformas de TGF- β 1, - β 2, e - β 3 latentes sob condições similares.

Melhorias na afinidade e na cinética de ligação solucionam problemas de anticorpos, por exemplo, por auxiliar a aumentar os perfis farmacocinéticos e de segurança; pela redução da dose, toxicidade, e custo da terapia; e pela melhora da eficácia biológica. A constante de dissociação (K_d) de um anticorpo pode ser encontrada usando métodos na técnica, por exemplo, Kinexa[®] (veja, por exemplo, Darling, *et al.*, 2004 ASSAY and Drug Development Technologies 2:647-57) ou BIAcore[®] AB (Upsala, Suécia), ou adaptando Karlsson *et al.*, 1991 J. Immunol. Methods 145, 299-340. O termo " k_{on} " refere-se aqui à associação ou constante de ligação "on-rate", ou taxa de reação específica, da reação ativadora, ou formadora de complexo de anticorpo: antígeno, $M^{-1}sec^{-1}$. O termo " k_{off} " refere-se aqui à dissociação ou constante de desligamento "off rate", ou taxa de reação específica, para a dissociação de um anticorpo de um complexo anticorpo:antígeno (sec^{-1}). O termo " K_d " refere-se aqui à constante de dissociação de um complexo de anticorpo:antígeno em particular calculado como $K_d = k_{off}/k_{on}$. K_a é o inverso de K_d .

A K_d de um anticorpo da invenção para TGF- β 1 humano maduro está na faixa de cerca de 0,0001 pM a cerca de 5,0 pM. Mais preferivelmente, está na faixa de cerca de 0,001 pM a cerca de 3,0 pM. O mais preferivelmente, está na faixa de cerca de 0,01 pM a cerca de 0,5 pM. A K_d de um anticorpo da invenção para TGF- β 2 maduro humano está na faixa de cerca de 0,01 pM a cerca de 5,0 pM. Mais preferivelmente, na faixa de cerca de 0,05 pM a cerca de 2,0 pM, e o mais preferivelmente, está na faixa de cerca de 0,1 pM a cerca de 1,5 pM. A K_d de um anticorpo da invenção para TGF-

β3 maduro humano está na faixa de cerca de 0,005 pM a cerca de 3 pM. Mais preferivelmente, ela está na faixa de cerca de 0,05 pM a cerca de 2,8 pM. O mais preferivelmente, ela está na faixa de cerca de 0,2 pM a cerca de 2 pM. Preferivelmente os anticorpos da invenção são caracterizados por
5 uma K_d de $4,0 \times 10^{-12}$ M ou menos para TGF-β1 maduro humano, uma K_d de $8,0 \times 10^{-12}$ M ou menos para TGF-β2 maduro humano, e uma K_d de $4,0 \times 10^{-12}$ M ou menos para TGF-β3 maduro humano.

A K_d de um anticorpo da invenção para TGF-β1 é pelo menos 2 vezes maior do que a K_d de 1D11.16 para TGF-β1, mais preferivelmente é
10 pelo menos 25 vezes maior, e o mais preferivelmente é pelo menos 50 vezes maior. Para ser claro, afinidade maior significaria um valor de K_d menor. A K_d de um anticorpo da invenção para TGF-β2 é pelo menos 1,5 vezes maior do que a K_d de 1D11.16 para TGF-β2, mais preferivelmente é pelo menos 10 vezes maior, e o mais preferivelmente é pelo menos 20 vezes
15 maior. A K_d de um anticorpo da invenção para TGF-β3 é pelo menos 4 vezes maior do que a K_d de 1D11.16 para TGF-β3, mais preferivelmente é pelo menos 6 vezes maior, e o mais preferivelmente é pelo menos 10 vezes maior.

A K_d de um Fab da invenção para TGF-β1 maduro humano está
20 na faixa de cerca de 0,009 pM a cerca de 75,0 pM, está mais preferivelmente na faixa de cerca de 240 a cerca de 1, mas preferivelmente na faixa de cerca de 50 a cerca de 2, e ainda mais preferivelmente na faixa de cerca de 0,018 pM a cerca de 50 pM, e está o mais preferivelmente na faixa de cerca de 0,02 pM a cerca de 25 pM. A K_d de um Fab da invenção para TGF-β2
25 maduro humano está na faixa de cerca de 0,0045 pM a cerca de 60 pM, mais preferivelmente está na faixa de cerca de 0,002 pM a cerca de 45 pM, e o mais preferivelmente está na faixa de cerca de 0,02 pM a cerca de 35 pM. A K_d de um Fab da invenção para TGF-β1 é pelo menos 30 vezes maior do que a K_d de 1D11.16 para TGF-β1, mais preferivelmente é pelo menos
30 300 vezes maior, e o mais preferivelmente, é pelo menos 1500 vezes maior. A K_d de um Fab da invenção para TGF-β2 é pelo menos 10 vezes maior do que a K_d de 1D11.16 para TGF-β2, mais preferivelmente é pelo menos 100

vezes maior, o mais preferivelmente é pelo menos 500 vezes maior.

Anticorpos da invenção exibem k_{off} para TGF- β 1 maduro humano preferivelmente na faixa de cerca de 110 a cerca de 1 (todos os valores para k_{off} são $\times 10^{-6} s^{-1}$), mais preferivelmente na faixa de cerca de 50 a cerca de 6, e ainda mais preferivelmente na faixa de cerca de 15 a cerca de 4; para TGF- β 2 maduro humano preferivelmente na faixa de cerca de 20 a cerca de 4; e para TGF- β 3 maduro humano na faixa de cerca de 90 a cerca de 1, mais preferivelmente na faixa de cerca de 50 a cerca de 4, e ainda mais preferivelmente na faixa de cerca de 35 a cerca de 6. Anticorpos da invenção exibem aumento de k_{off} sobre 1D11.16 para TGF- β 1, - β 2, e - β 3 na faixa de cerca de 2 a cerca de 50 vezes, mais preferivelmente na faixa de cerca de 2,5 a cerca de 25 vezes, e ainda mais preferivelmente na faixa de cerca de 3 a cerca de 15 vezes.

Em outra modalidade, um anticorpo da invenção tem uma k_{on} maior do que 5 para TGF- β 1 maduro humano, maior do que 2,8 para TGF- β 2 maduro humano, e maior do que 1,56 para TGF- β 3 maduro humano (todos dos valores para k_{on} são $\times 10^7 M^{-1} s^{-1}$). A k_{on} para TGF- β 1 maduro humano está preferivelmente na faixa de cerca de 1,5 a cerca de 60, mais preferivelmente na faixa de cerca de 2 a cerca de 45, e ainda mais preferivelmente na faixa de cerca de 3 a cerca de 30; para TGF- β 2 está preferivelmente na faixa de cerca de 1 a cerca de 40, mais preferivelmente na faixa de cerca de 1 a cerca de 25, e ainda mais preferivelmente na faixa de cerca de 1 a cerca de 15; e para TGF- β 3 maduro humano está preferivelmente na faixa de cerca de 1,2 a cerca de 20, mais preferivelmente na faixa de cerca de 1,2 a cerca de 10, e ainda mais preferivelmente na faixa de cerca de 1,2 a cerca de 5. Anticorpos da invenção exibem um aumento médio de k_{on} sobre 1D11.16 para TGF- β 1, - β 2, e - β 3 preferivelmente na faixa de cerca de 1,5 a cerca de 40 vezes, mais preferivelmente na faixa de cerca de 2 a cerca de 15 vezes, e ainda mais preferivelmente na faixa de cerca de 2 a cerca de 10 vezes. Em uma modalidade preferida, um anticorpo da invenção se liga à TGF- β 1 mais que a TGF- β 2 e β 3.

Um anticorpo é dito "neutralizar" seu antígeno se a ligação do

anticorpo ao antígeno resultar em inibição ou redução, completa ou parcial, de uma função biológica do antígeno. Neutralização da atividade biológica de uma isoforma de TGF- β é avaliada por medir a inibição ou redução, completa ou parcial, de um ou mais indicadores *in vitro* ou *in vivo* de atividade de TGF- β , tal como, ligação ao receptor, um efeito inibidor sobre o crescimento celular; quimiotaxia, apoptose, fosforilação de proteína intracelular, ou transdução de sinal. O mais preferivelmente, a habilidade de neutralizar a atividade de TGF- β é avaliada, como descrito aqui, por um ensaio de proliferação de célula HT-2 ou por medir a inibição de fosforilação de Smad2.

Anticorpos da invenção neutralizam TGF- β 1 maduro humano, TGF- β 2 maduro humano, e TGF- β 3 maduro humano, e tem uma IC₅₀ de menos do que ou igual a cerca de 100 pM, 75 pM, 50 pM, 25 pM, 17.5 pM, 10 pM, 4 pM, ou 3pM para TGF- β 1 maduro humano, uma IC₅₀ de menos do que ou igual a cerca de 400 pM, 345 pM, 200 pM, 100 pM, 77,5 pM, 50 pM, 40 pM, ou 23 pM para TGF- β 2 maduro humano, e um do que IC₅₀ de menos do que ou igual a cerca de 200 pM, 115 pM, 105 pM, 75 pM, 50 pM, 45 pM, ou 35 pM para TGF- β 3 maduro humano em um ensaio de neutralização de célula HT-2 *in vitro*.

Atividade neutralizante melhorada aumenta os perfis de farmacocinética e segurança; reduz a dosagem, toxicidade, e custo da terapia; e melhora a eficácia biológica. Em uma modalidade preferida, a IC₅₀ de um anticorpo da invenção no ensaio de proliferação/neutralização de célula HT-2 como descrito aqui é de menos do que cerca de 20 pM para TGF- β 1, menos do que cerca de 325 pM para TGF- β 2, e de menos do que cerca de 125 pM para TGF- β 3. Contra TGF- β 1, um anticorpo da invenção preferivelmente tem uma IC₅₀ na faixa de cerca de 0,1 a cerca de 50 pM, mais preferivelmente na faixa de cerca de 0,1 a cerca de 30 pM, e o mais preferivelmente na faixa de cerca de 0,1 a cerca de 20 pM. Contra TGF- β 2, um anticorpo da invenção tem preferivelmente uma IC₅₀ na faixa de cerca de 1 a cerca de 400 pM, mais preferivelmente na faixa de cerca de 10 a cerca de 350 pM, e o mais preferivelmente na faixa de cerca de 15 a cerca de 325 pM. Contra TGF- β 3, um anticorpo da invenção tem preferivelmente uma IC₅₀ na faixa de

cerca de 0,1 a cerca de 200 pM, mais preferivelmente na faixa de cerca de 1 a cerca de 150 pM, e o mais preferivelmente na faixa de cerca de 10 a cerca de 125 pM.

Em outra modalidade, anticorpos da invenção exibem em média
 5 um aumento de IC_{50} sobre 1D11.16 em um ensaio de proliferação de célula HT-2 para TGF- β 1 na faixa de cerca de 100 a cerca de 600 vezes, mais preferivelmente na faixa de cerca de 200 a cerca de 500 vezes, e ainda mais preferivelmente na faixa de cerca de 300 a cerca de 400 vezes; para TGF- β 2 na faixa de cerca de 10 a cerca de 400 vezes, mais preferivelmente na faixa
 10 de cerca de 25 a cerca de 300 vezes, e ainda mais preferivelmente na faixa de cerca de 50 a cerca de 200; e para TGF- β 3 na faixa de cerca de 2 a cerca de 200 vezes, mais preferivelmente na faixa de cerca de 4 a cerca de 50 vezes, e ainda mais preferivelmente na faixa de cerca de 6 a cerca de 25.

A concentração de um anticorpo necessária para neutralizar
 15 uma atividade de TGF- β é dependente de vários parâmetros, tal como, por exemplo, concentração de citocina, tipo celular, condições de crescimento e, tipo de atividade estudada. O caráter de neutralização de um anticorpo da invenção é avaliado por medir o grau de inibição da fosforilação da proteína Smad2 em um modelo de xenoenxerto de tumor humano U87MG, como
 20 descrito aqui. Em outra modalidade preferida, um anticorpo da invenção tem uma TED_{50} (dose terapêutica eficaz) em tal ensaio na faixa de cerca de 100 a cerca de 200 mg/kg, mais preferivelmente na faixa de cerca de 50 a cerca de 80 mg/kg; e ainda mais preferivelmente na faixa de cerca de 5 a cerca de 25 mg/kg.

25 Certos anticorpos e fragmentos da invenção têm CDRs específicas: VHCDR1 X_1X_2WMN [SEQ ID NO: 10, onde X_1 é T ou S; e X_2 é E ou Y]; VHCDR2 $QIFPX_1X_2GSTNYX_3EMX_4EG$ [SEQ ID NO: 11, onde X_1 é A, ou F; X_2 é S, T, ou L; X_3 é N, G, S, D, ou A; X_4 é F, ou Y]; VHCDR3 $GX_1GNYALDAMDY$ [SEQ ID NO: 12, onde X_1 é D, I, M, Y, L, V, Q, ou F];
 30 VLCDR1 $RASESVDX_1X_2GNSFMH$ [SEQ ID NO: 13, onde X_1 é S, Y, F, ou L; X_2 é Y ou W]; VLCDR2 $X_1ASNLES$ [SEQ ID NO: 14, onde X_1 é L, ou Y]; e VLCDR3 $X_1QX_2X_3EDPLT$ [SEQ ID NO: 15, onde X_1 é Q, T, ou C; X_2 é N, ou

H; X₃ é N, I, M, D, T, ou A].

Ainda abrangidos são anticorpos criados com CDRs das tais fórmulas após manipulação das CDRs (na orientação apropriada) em seqüências de arcabouços de anticorpo humano ou humanizado para produzir composições da invenção que neutralizam TGF- β 1, - β 2, e - β 3 maduros, humanos. Qualquer método conhecido na técnica pode ser usado para incorporar CDRs específicas dentro de seqüências de arcabouços. Como descrito, seqüências de arcabouços humanas ou humanizadas variáveis podem ser derivadas de qualquer domínio variável germinativo ou rearranjado ou, por exemplo, domínio variável sintético baseado em seqüências consenso de domínios variáveis humanos conhecidos. Seqüências de arcabouços de domínio variável preferidas são aquelas que não afetam significativamente as propriedades biológicas de uma modalidade de anticorpo anti-TGF- β 1, - β 2, e - β 3 - isto é, a habilidade de se ligar com alta afinidade e neutralizar TGF- β 1, - β 2, e - β 3 maduros humanos. Preferivelmente, tais arcabouços não fazem surgir adicionalmente reações imunogênicas significativas quando administrados a um ser humano. Seqüências de arcabouço podem ser seqüências de anticorpos humanos de ocorrência natural ou seqüências consenso de vários anticorpos humanos.

Exemplos não-limitantes de seqüências de arcabouço para a região variável de cadeia pesada de modalidades de anticorpo da invenção incluem o segmento VH, DP-5 (Tomlinson, *et al.* 1992 *J. Mol. Biol.* 227:776-98) e o segmento J, JH4, JH1 ou JH5 (Ravetch, *et al.* 1981 *Cell* 27:583-91). O segmento Vk, L1 (Cox, *et al.* 1994 *Eur. J. Immunol.* 24:827-36) e o segmento J, Jk4 (Hieter, *et al.* 1982 *J. Biol. Chem.* 10:1516-22) são exemplos não-limitantes de seqüências de arcabouço para a região variável de cadeia leve.

Em uma modalidade preferida, o arcabouço FR1 de HCVR compreende [SEQ ID NO: 16]; e o arcabouço FR2 de HCVR compreende [SEQ ID NO: 17]; o arcabouço FR3 de HCVR compreende [SEQ ID NO: 18]; e o arcabouço FR4 de HCVR compreende [SEQ ID NO: 19]. Em outra modalidade preferida, o arcabouço FR1 de LCVR compreende [SEQ ID NO: 20]; o

arcabouço FR2 de LCVR compreende [SEQ ID NO: 21], o arcabouço FR3 de LCVR compreende [SEQ ID NO: 22]; e o arcabouço FR4 de LCVR compreende [SEQ ID NO: 23]. Em outra modalidade preferida, um arcabouço de HCVR compreende [SEQ ID NO: 86] em que X_1 é S, Y, F, ou L; X_2 é Y ou W; X_3 é A, ou F; X_4 é S, T, ou L; X_5 é N, G, S, D, ou A; X_6 é F, ou Y; e X_7 é D, I, M, Y, L, V, Q, ou F. Em outra modalidade preferida, um arcabouço de LCVR compreende [SEQ ID NO: 87] em que X_1 é T ou S; X_2 é E, ou Y; X_3 é L, ou Y; X_4 é Q, T, ou C; X_5 é N, ou H; e X_6 é N, I, M, D, T, ou A.

Em outra modalidade preferida, regiões de arcabouço e constantes podem conter alterações, deleções, adições, substituições, ou qualquer combinação dos mesmos quando comparadas com seqüências humanas. Regiões de arcabouço e constantes nas quais 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, ou 10 são substituídos, deletados ou adicionados em qualquer combinação são preferidas. Em outra modalidade, o arcabouço tem 85-99% de identidade de seqüência a um arcabouço descrito aqui.

Em uma modalidade, uma região constante de cadeia pesada preferida para uso com uma composição de ligação de anticorpo da invenção é uma região constante de IgG. Em uma modalidade mais preferida, a região constante de IgG é uma região constante de IgG1 ou uma região constante de IgG4 (ainda mais preferivelmente são regiões constantes de [SEQ ID NO: 24]; ou [SEQ ID NO: 25]). Uma seqüência de região constante de cadeia leve preferida da invenção é [SEQ ID NO: 26]. Em outra modalidade preferida, anticorpo, composições de ligação contêm região constante de cadeia pesada de IgG1 ou a região constante de cadeia pesada de IgG4 e a região constante de cadeia leve *kappa*.

Também abrangidas são seqüências de polinucleotídeo que codificam anticorpos da invenção. Quando se manipula anticorpos usando CDRs da invenção, a identificação de resíduos dentro de arcabouços de anticorpos que provavelmente influenciam seqüências doadoras e aceptoras de ligação de antígeno pode ser determinada por alinhar a moldes de seqüência derivados de repertórios de anticorpo. "Resíduos invariantes" (Kabat *et al.*, 1991) e "resíduos chave" (Chothia *et al.*, 1989) podem ser identifica-

dos, e atribuições de classes canônicas dos loops de ligação de antígeno doadores L1–L3, H1 e H2, respectivamente, podem ser determinadas por rastreamento de uma sequência proposta contra moldes de sequência (veja, por exemplo, Martin & Thornton, 1996 Mol. Biol. 263:800–15). Resíduos na interface VH/VL (Chothia *et al.*, 1985) e resíduos conhecidos por serem estruturalmente conservados nos sítios centrais (Chothia *et al.*, 1998) são comparados com resíduos doadores e aceptores correspondentes. Resíduos de arcabouço doador eceptor não-pareados nesses sítios são analisados com base em informação de outros anticorpos de estrutura conhecida (Berman, *et al.*, 2000 Nucl. Acids Res. 28(1): 235-42). A seleção de arcabouços humanos como moldes para humanização de regiões V não-humanas pode definir decisões subseqüentes relacionadas a quais resíduos humanizar. A escolha de moldes homólogos de anticorpos com estrutura cristalina conhecida, a partir de seqüências germinativas, não-germinativas ou consenso derivadas de bases de dados disponíveis pode ser empregada (veja, por exemplo, Routledge *et al.* (Routledge, *et al.*, 1993 em Protein Engineering of Antibody Molecules for Prophylactic and Therapeutic Applications in Man (Clark, M., ed) pp. 14-44, Academic Titles, Nottingham, UK; e B. Lo, 2004 Antibody Engineering: Methods and Protocols, Humana Press)). Outra forma de manipular anticorpos é escolher a sequência germinativa humana mais próxima como o arcabouço para receber CDRs doadoras (Tomlinson *et al.*, 1992) usando uma estratégia "best-fit" para buscar seqüências germinativas em bases de dados. O método de arcabouço de linhagem germinativa é útil porque seqüências germinativas humanas não apresentam hipermutações somáticas, que são potencialmente imunogênicas. Moléculas de ácido nucleico que codificam anticorpos da invenção variantes de uma combinação de regiões de arcabouço e CDRs da invenção inseridas dentro de arcabouços humanos modificados podem ser manipuladas usando uma estratégia de linhagem germinativa humana consenso onde um subgrupo humano é usado como o arcabouço (veja, por exemplo, Presta *et al.*, 1993 J. Immunol 151:2623–32; Couto *et al.*, 1994 Hybridoma, 13:215–9; Couto *et al.*, 1995 Cancer Res. (Supl.), 55, 5973s–7s; Werther *et al.*, 1996 J. Immunol.,

157:4986–95; O'Connor *et al.*, 1998 Protein Engng 11:321–8).

Fragmentos de anticorpo (como descrito), ou parte de uma sequência ou SEQ ID NO aqui contida, também são abrangidos. Tais fragmentos de proteína e/ou polipeptídeo podem ser "auto-suficientes", ou compreender parte de um polipeptídeo ou proteína maior, do qual os fragmentos formam uma porção ou região, por exemplo, uma região contínua única de uma SEQ ID NO: aqui contida tal como, por exemplo, conectados em uma proteína de fusão. Polinucleotídeos que codificam tais fragmentos também são abrangidos.

Anticorpos da invenção são manipulados por qualquer método conhecido na técnica, tal como, por exemplo, síntese química; ou engenharia recombinante, genética ou molecular e não são restritos por método de criação. Tipicamente, ácidos nucleicos que codificam anticorpos da invenção incluem uma sequência de polinucleotídeo de controle de expressão operativamente ligada às sequências codificantes, incluindo regiões promotoras associadas naturalmente ou heterólogas. Preferivelmente sequências de controle de expressão são sistemas promotores eucarióticos em vetores que transformam ou transfectam células hospedeiras eucarióticas, mas sequências de controle para hospedeiros procarióticos também podem ser usadas. Uma vez que o vetor é incorporado em uma célula hospedeira apropriada, ela é propagada sob condições adequadas para expressar sequências, e, conforme desejado, para a coleta e purificação das cadeias leves, cadeias pesadas, dímeros de cadeia leve/cadeia pesada, ou anticorpos intactos, fragmentos de ligação ou outras formas de imunoglobulina. Sequências de DNA de região constante são isoladas por métodos conhecidos na técnica a partir de uma variedade de células humanas, mas preferivelmente a partir de células B imortalizadas. Células de fontes adequadas para as sequências de polinucleotídeo e células hospedeiras para expressão e secreção de imunoglobulina são obtidas a partir de fontes conhecidas na técnica.

A invenção abrange sequências de polipeptídeos funcionais com similaridade ou identidade de sequência substancial a uma sequência contida aqui (por exemplo, pelo menos: 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%,

94%, 95%, 96%, 97%, 98%, ou 99% idêntica a uma seqüência da invenção (ou fragmento)) usando métodos conhecidos na técnica tal como, por exemplo, otimização de pareamentos de resíduos. Tais seqüências incluem qualquer uma com uma característica funcional de um anticorpo da invenção (por exemplo, ligação e neutralização de TGF- β 1, - β 2, e - β 3 maduros humanos em um ensaio descrito aqui). Tais modalidades funcionalmente relacionadas incluem adições, substituições e/ou deleções de resíduos de aminoácidos de uma seqüência da invenção em uma CDR ou uma região constante. Substituições e/ou adições de aminoácidos podem ser baseadas em similaridade em polaridade, carga, solubilidade, hidrofobicidade, e/ou natureza anfipática dos resíduos envolvidos. Ainda, aminoácidos não-clássicos ou análogos químicos de aminoácidos podem ser substituídos ou adicionados na seqüência de polipeptídeo. Todas as tais variantes estão no escopo daqueles versados na técnica de biologia molecular dada nos ensinamentos aqui especificando fórmulas únicas ou seqüências de polipeptídeo e as limitações funcionais da invenção.

Modalidades preferidas da composição da invenção têm uma ou mais das seguintes características: K_d menor do que 2×10^{-13} M para TGF- β 1, menor do que 5×10^{-13} M para TGF- β 2, menor do que 8×10^{-13} M para TGF- β 3; k_{off} menor do que $8 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$ para TGF- β 1, menor do que $11 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$ para TGF- β 2, menor do que $13 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$ para TGF- β 3; k_{on} maior do que $5 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ para TGF- β 1, maior do que $2 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ para TGF- β 2, e maior do que $1,5 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ para TGF- β 3; aumento de K_d de uma composição de Fab para TGF- β 1 com relação a Fab de 1D11.16 para TGF- β 1 de pelo menos 6000 vezes; aumento de K_d de uma composição de anticorpo com relação a 1D11.16 maior do que cerca de 34 vezes para TGF- β 1, maior que do que cerca de 13 vezes para TGF- β 2, e maior do que cerca de 9 vezes para TGF- β 3; IC_{50} maior do que cerca de 300 vezes maior do que aquele de um valor de IC_{50} de um 1D11.16 em um ensaio de HT-2; um valor de ED_{50} na faixa de cerca de 11 a cerca de 17 mg/kg em um modelo de xenoenxerto de tumor humano U87MG para a inibição de fosforilação de Smad2 de (como descrito aqui); menos do que 5,0% de agregação de uma composição da

invenção como determinado por cromatografia de exclusão de tamanho após armazenamento por 30 dias em uma concentração de 1 mg/mL, 40°C, em tampão padrão (tal como, por exemplo, Citrato (20 mM); Fosfato (10 mM); ou PBS (fosfato 10 mM, contendo NaCl 150 mM)), e um pH (5.0, 6.5, ou 7.4); menos do que 1% de produtos de degradação ou nenhuma forma ácida - como determinado por cromatografia de troca cátion (CEX) - após armazenamento por 30 dias a 1 mg/ml, menos do que 35°C, em tampão padrão (tal como, por exemplo, Citrato (20 mM); Fosfato (10 mM) ou PBS (fosfato 10mM, contendo NaCl 150 mM)), e < pH 7.0; e maior do que 80% de recuperação de proteína de uma composição da invenção usando métodos conhecidos na técnica após armazenamento em uma concentração de 2 mg/mL a 4°C por duas semanas, e recuperação de diálise a pH 6.0.

Composições da invenção são úteis como terapêuticos para modular, tratar, inibir, melhorar, ou evitar uma doença, distúrbio, estado, síndrome ou condição associada com um ou mais de TGF- β 1, e - β 2, e - β 3. Anticorpos podem ser administrados usando qualquer método conhecido na técnica e podem ser combinados para uso com veículos, diluentes, estabilizadores, e excipientes farmacologicamente aceitáveis convencionais. Essas combinações podem ser colocadas em formas de dosagem tal como por liofilização em frascos de dosagem lacrados ou sob armazenamento em preparações aquosas estabilizadas. Veículos, diluentes, estabilizadores, e excipientes farmacologicamente aceitáveis são conhecidos na técnica ou descritos, por exemplo, no Merck Index, Merck & Co., Rahway, NJ.

Em particular, anticorpos (ou fragmentos) da invenção são úteis para tratar distúrbios proliferativos celulares, incluindo qualquer doença, síndrome, distúrbio, condição, ou estado, que afeta qualquer célula, tecido, qualquer local ou qualquer combinação de órgãos, tecidos, ou partes do corpo que são caracterizadas por uma proliferação anormal em um único local ou múltiplos locais, de células, grupos de células, ou tecidos, quer sejam benignos ou malignos. Como definido aqui, um distúrbio proliferativa celular abrange, por exemplo, malignidades hematológicas (tal como, por exemplo, MDS ou MPD, tal como, por exemplo, com envolvimento de megacariócitos.

(veja, por exemplo, Sakamaki, *et al.*, 1999 Blood 94(6):1961-70)), leucemia de células pilosas, e outras malignidades hematológicas, tais como, por exemplo, leucemia mielóide crônica (CML), leucemia linfocítica crônica (CLL), leucemia linfoblástica aguda (ALL), leucemia mielóide aguda (AML), etc.);

5 câncer de pulmão de células não-pequenas; câncer de mama; câncer de próstata; (incluindo refratário a hormônio); câncer de ovário; câncer hepatocelular; câncer pancreático; mieloma múltiplo; câncer colorretal; um neoplasma do cólon, abdômen, osso, mama, sistema digestivo, fígado, pâncreas, peritônio, sistema endócrino (por exemplo, uma glândula adrenal,

10 uma glândula paratireóide, da pituitária, dos testículos, do ovário, do timo, ou da tireóide), olhos, cabeça, pescoço, sistema nervoso, (central ou periférico), do sistema linfático, pelve, pele, baço, tórax, e sistema urogenital. Adicionalmente, um anticorpo da invenção é útil para doença do músculo esquelético — tal como, por exemplo, tratamento de enfraquecimento muscular, (por

15 exemplo, caquexia); promoção de crescimento muscular (por exemplo, após doença, trauma, reconstrução ou substituição).

Um agente "quimioterápico" é um composto químico útil no tratamento de câncer. Exemplos de agentes quimioterápicos incluem agentes alquilantes, tal como ciclofosfamida e fluorouracila; antimetabolitos tal como

20 fluorouracila e gencitabina; antibióticos tais como adriamicina; e agentes antimitóticos, tal como vincristina e vinorelbina.

Um agente "antiangiogênico" refere-se a um composto que bloqueia, ou interfere com, em algum grau, o desenvolvimento de vasos sanguíneos. O agente antiangiogênico pode ser, por exemplo, uma pequena

25 molécula ou anticorpo que se liga ao fator de crescimento ou receptor de fator do crescimento envolvido em promover angiogênese.

O termo "quimioterapia citotóxica" como usado aqui refere-se a uma substância que inibe ou evita a função de células e/ou causa destruição de células, incluindo isótopos radioativos (por exemplo, At.²¹¹, I¹³¹, I¹²⁵, Y⁹⁰,

30 Re¹⁸⁶, Re¹⁸⁸, Sm¹⁵³, Bi²¹², P³² e isótopos radioativos de Lu), e toxinas tais como toxinas de pequenas moléculas ou toxinas enzimaticamente ativas de origem bacteriana, fúngica, de planta ou animal, incluindo fragmentos e/ou

variantes desses.

Um polinucleotídeo é "operativamente ligado" quando ele é colocado em relação funcional com outro polinucleotídeo. Por exemplo, um promotor ou intensificador é operativamente ligado a uma sequência codificante se ele afeta a transcrição da sequência. Um peptídeo é "operativamente ligado" a outro peptídeo quando os polinucleotídeos que os codificam são operativamente ligados, preferivelmente eles estão na mesma fase de leitura.

O termo "vetor" inclui uma molécula de ácido nucléico capaz de transportar outro ácido nucléico ao qual ele foi ligado, incluindo, mas não-limitado a, plasmídeos e vetores virais. Certos vetores são capazes de replicação autônoma em uma célula hospedeira dentro da qual eles estão inseridos enquanto que outros vetores podem ser integrados no genoma de uma célula hospedeira por introdução na célula hospedeira, e assim, são replicados junto com o genoma do hospedeiro. Além disso, certos vetores são capazes de direcionar a expressão de genes aos quais eles estão operativamente ligados. Tais vetores são referidos aqui como "vetores de expressão recombinantes" (ou simplesmente "vetores de expressão") e vetores exemplares são bem-conhecidos na técnica.

Como usado aqui, as expressões "célula", "célula hospedeira", "linhagem celular" e "cultura de células" são usadas intercambiavelmente e incluem uma célula individual ou cultura celular que é uma receptora de qualquer polinucleotídeo isolado da invenção ou qualquer(is) vetor(es) recombinante(s) que compreende(m) uma sequência que codifica uma HC-VR, LCVR ou anticorpo monoclonal da invenção. Células hospedeiras incluem progênie de uma única célula hospedeira, e a progênie pode não necessariamente ser completamente idêntica (em morfologia ou no complemento de DNA total) à célula parental original devido à mutação e/ou alteração natural, acidental ou deliberada. Uma célula hospedeira inclui células transformadas, transduzidas ou infectadas *in vivo* ou *in vitro* com um ou mais vetores recombinantes ou um polinucleotídeo que expressa um anticorpo monoclonal da invenção ou uma cadeia leve ou cadeia pesada do mesmo. Uma

célula hospedeira que compreende um vetor recombinante da invenção (tanto incorporado estavelmente no cromossoma hospedeiro ou não) também pode ser referida como "célula hospedeira recombinante". Células hospedeiras preferidas para uso na invenção são células CHO (por exemplo, ATCC CRL-9096), células NS0, células SP2/0 e células COS (ATCC por exemplo., CRL-1650, CRL-1651), HeLa (ATCC CCL-2). Células hospedeiras adicionais para uso na invenção incluem células de planta, células de levedura, outras células de mamífero e células procarióticas.

Expressão e purificação de anticorpo

10 Para expressar um anticorpo da invenção, um DNA que codifica uma cadeia leve e/ou pesada parcial ou de extensão completa é inserido em um vetor de expressão tal que o gene seja operativamente ligado a seqüências de controle transcricional e traducional. O vetor de expressão e seqüências de controle de expressão são escolhidos para serem compatíveis com a

15 célula hospedeira de expressão usada. O gene da cadeia leve do anticorpo e o gene da cadeia pesada do anticorpo podem ser inseridos em vetores separados, ou mais tipicamente, ambos os genes são inseridos no mesmo vetor de expressão. Os genes do anticorpo são inseridos no vetor de expressão por métodos padrão. Adicionalmente, o vetor de expressão recom-

20 binante pode codificar um peptídeo de sinal que facilita a secreção da cadeia leve e/ou pesada do anticorpo monoclonal anti-TGF- β a partir de uma célula hospedeira. O gene da cadeia leve e/ou pesada do anticorpo monoclonal anti-TGF- β pode ser clonado no vetor tal que o peptídeo de sinal seja operativamente ligado *in-frame* à terminação amino do gene da cadeia do anticorpo.

25 O peptídeo de sinal pode ser um peptídeo de sinal de imunoglobulina ou um peptídeo de sinal heterólogo.

Além do(s) gene(s) de cadeia pesada e/ou leve do anticorpo, um vetor de expressão recombinante da invenção carrega seqüências regulatórias que controlam a expressão do(s) gene(s) da cadeia do anticorpo em

30 uma célula hospedeira. O termo "seqüência regulatória" pretende incluir promotores, intensificadores e outros elementos de controle de expressão (por exemplo, sinais de poliadenilação), conforme necessário, que controlam

a transcrição ou tradução do(s) gene(s) da cadeia do anticorpo. O desenho do vetor de expressão, incluindo a seleção de seqüências regulatórias pode depender de tais fatores, como a escolha da célula hospedeira a ser transformada, o nível de expressão desejado da proteína. Seqüências regulatórias preferidas para expressão em célula de hospedeiro de mamífero incluem elementos virais que direcionam altos níveis de expressão de proteína em células de mamífero, tais como promotores e/ou intensificadores derivados de citomegalovírus (CMV), Simian Vírus 40 (SV40), adenovírus (por exemplo, o promotor tardio principal de adenovírus (AdMLP)) e vírus de polio-
 10 oma.

Além dos genes de cadeia pesada e/ou leve do anticorpo e seqüências regulatórias, os vetores de expressão recombinantes da invenção podem carregar seqüências adicionais, tais como seqüências que regulam a replicação do vetor em células hospedeiras (por exemplo, origens de repli-
 15 cação) e um ou mais genes marcadores selecionáveis. O gene marcador selecionável facilita a seleção de células hospedeiras dentro das quais o vetor foi introduzido. Por exemplo, tipicamente o gene marcador confere resistência a fármacos, tais como G418, higromicina, ou metotrexato, em uma célula hospedeira dentro da qual o vetor tenha sido introduzido. Genes mar-
 20 cadores selecionáveis incluem o gene de diidrofolato redutase (DHFR) (para uso em células hospedeiras DHFR-*minus* com seleção/amplificação por metotrexato), o gene *neo* (para seleção de G418), e glutamina sintetase (GS) em uma linhagem celular negativa para GS (tal como NS0) para seleção / amplificação.

25 Para expressão das cadeias leve e/ou pesada, o(s) vetor(es) de expressão que codifica(m) as cadeias pesada e/ou leve é(são) introduzidos em uma célula hospedeira por técnicas padrão, por exemplo, eletroporação, precipitação com fosfato de cálcio, transfecção de DEAE-dextrano, transdu-
 30 ção, infecção ou similar. Embora seja teoricamente possível expressar os anticorpos da invenção tanto em células procarióticas como eucarióticas, células eucarióticas são preferidas, e o mais preferivelmente células hospedeiras de mamíferos, porque tais células, mais provavelmente irão montar e

secretar um anticorpo apropriadamente enovelado e imunologicamente ativo. Células hospedeiras de mamíferos preferidas para expressar os anticorpos recombinantes da invenção incluem células de Ovário de Hamster Chinês (CHO) (incluindo células DHFR-CHO, descritas em Urlaub & Chasin, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216-20, 1980, usadas com um marcador selecionável de DHFR, por exemplo, como descrito em Kaufman & Sharp, *J. Mol. Biol.* 159:601-21, 1982, e células GS-CHO, descritas em Enosawa, *et al.*, *Cell Transplantation* 6: 537-540, 1997, usadas com um marcador selecionável de glutamina sintetase (GS)), células de mieloma NS0, células COS, e células SP2/0. Quando vetores de expressão recombinantes que codificam genes de anticorpo são introduzidos em células hospedeiras de mamíferos, os anticorpos são produzidos por cultivo das células hospedeiras por um período de tempo suficiente para permitir a expressão do anticorpo nas células hospedeiras, ou mais preferivelmente, secreção do anticorpo no meio de cultura no qual as células hospedeiras são cultivadas. Anticorpos podem ser recuperados a partir da célula hospedeira e/ou do meio de cultura usando métodos de purificação padrão.

Células hospedeiras também podem ser usadas para produzir porções, ou fragmentos de anticorpos intactos, por exemplo, fragmentos Fab ou moléculas de scFv por técnicas que são convencionais. Será compreendido por um versado na técnica que variações no procedimento acima estão dentro do escopo da presente invenção. Por exemplo, pode ser desejável transfectar uma célula hospedeira com DNA que codifica a cadeia leve ou a cadeia pesada de um anticorpo dessa invenção. Tecnologia de DNA recombinante também pode ser usada para remover algum ou todo o DNA que codifica uma ou ambas as cadeias leve e pesada que não são necessárias para ligação a TGF- β . As moléculas expressas a partir de tais moléculas de DNA truncadas também são abrangidas pelos anticorpos da invenção.

Em um sistema preferido para expressão recombinante de um anticorpo da invenção, um vetor de expressão recombinante que codifica tanto a cadeia pesada como a cadeia leve do anticorpo é introduzido em células GS-CHO por eletroporação. Dentro do vetor de expressão recombinan-

te, os genes de cadeias pesada e leve são cada operativamente ligados a elementos regulatórios intensificadores/promotores (por exemplo, derivados de SV40, CMV, adenovírus e similares, tal como um elemento regulatório intensificador de CMV/promotor de AdMLP ou um elemento regulatório intensificador de SV40 / promotor de AdMLP) para direcionar altos níveis de transcrição dos genes. O vetor de expressão recombinante também carrega um gene de DHFR, que permite a seleção de células CHO que foram transfectadas com o vetor usando seleção/amplificação por metotrexato. As células hospedeiras transformantes selecionadas são cultivadas para permitir expressão das cadeias pesada e leve do anticorpo e o anticorpo intacto é recuperado do meio de cultura. Técnicas de biologia molecular padrão são usadas para preparar o vetor de expressão recombinante, transfectar as células hospedeiras, selecionar transformantes, cultivar as células hospedeiras e recuperar o anticorpo do meio de cultura. Anticorpos, ou porções de ligação de antígeno dos mesmos, da invenção podem ser expressos em um animal (por exemplo, um camundongo) que é transgênico para genes de imunoglobulina humana (veja, por exemplo, Taylor, *et al.*, *Nucleic Acids Res.* 20:6287-95, 1992).

Uma vez expressos, os anticorpos intactos, seus dímeros, cadeias leve e pesada individuais, ou outras formas de imunoglobulina da presente invenção podem ser purificados de acordo com procedimentos padrão da técnica, incluindo precipitação com sulfato de amônio, cromatografia de troca de íon, afinidade, fase reversa, coluna de interação hidrofóbica, eletroforese em gel, e similares. Imunoglobulinas substancialmente puras de pelo menos cerca de 90%, 92%, 94% ou 96% de homogeneidade são preferidas, e 98 a 99% ou mais homogeneidade o mais preferido, para usos farmacêuticos. Uma vez purificados, parcialmente ou até homogeneidade conforme desejado, os peptídeos podem então ser usados terapeuticamente ou profilaticamente, como direcionado aqui.

30 Composição

Um anticorpo da invenção pode ser incorporado em composições farmacêuticas adequadas para administração a um indivíduo. Os com-

postos da invenção podem ser administrados sozinhos ou em combinação com um veículo, diluente, e/ou excipientes farmacêuticamente aceitáveis, em doses únicas ou múltiplas. As composições para administração são projetadas para serem apropriadas para o modo de administração selecionado, e diluentes, veículos, e/ou excipientes farmacêuticamente aceitáveis, tais como agentes dispersantes, tampões, tensoativos, conservantes, agentes solubilizantes, agentes de isotonicidade, e similares são usados conforme apropriado. As ditas composições são feitas de acordo com técnicas convencionais, como por exemplo, em Remington, The Science and Practice of Pharmacy, 19^a Edição, Gennaro, Ed., Mack Publishing Co., Easton, PA, 1995; que fornece um compêndio de técnicas de formulação como são geralmente conhecidas por versados.

Uma composição que compreende um anticorpo da invenção pode ser administrada a um indivíduo que exibe patologias ou distúrbios conforme descrito aqui usando técnicas de administração padrão incluindo administração intravenosa, intraperitoneal, subcutânea, pulmonar, transdérmica, intramuscular, intranasal, bucal, sublingual ou supositório.

A via de administração de um anticorpo da invenção pode ser parenteral. Preferivelmente, anticorpos da invenção podem ser incorporados em uma composição farmacêutica adequada para administração parenteral. O termo parenteral como usado aqui inclui administração intravenosa, intramuscular, subcutânea, retal, vaginal ou intraperitoneal. Liberação sistêmica periférica por injeção intravenosa, intraperitoneal, ou subcutânea é preferida.

A composição deve ser tipicamente estéril e estável sob as condições de fabricação e armazenamento no recipiente fornecido, incluindo por exemplo, um frasco ou seringa lacrada. Portanto, composições podem ser esterilizadas por filtração após fazer a formulação, ou tornadas microbiologicamente aceitáveis de outra maneira. Uma composição típica para infusão intravenosa poderia ter um volume de tanto quanto 250 - 1000 ml de fluido, tal como solução de Ringer estéril, salina fisiológica, solução de dextrose ou solução de Hank e uma dose terapeuticamente eficaz (por exemplo, 1 a 100 mg/mL, ou mais) de concentração de anticorpo. A dose pode variar depen-

dendo do tipo e da severidade da doença. Como é bem-conhecido nas técnicas médicas, dosagens para qualquer indivíduo dependem de vários fatores, incluindo o tamanho do paciente, área de superfície corporal, idade, do composto particular a ser administrado, sexo, momento e via de administração, saúde geral, ou outros fármacos que estão sendo administrados concomitantemente. Uma dose típica pode ser, por exemplo, na faixa de 0,001 a 1000 µg; entretanto, doses abaixo ou acima dessa faixa exemplar são previstas, especialmente considerando os fatores mencionados acima. O regime de dose parenteral diária pode ser de cerca de 0,1 µg/kg a cerca de 100 µg/kg de peso corporal total, preferivelmente de cerca de 10 µg/kg a cerca de 5 mg/kg e mais preferivelmente de cerca de 10 µg/kg a 3 mg/kg de peso corporal por dia. O progresso pode ser monitorado por avaliação periódica. Para administrações repetidas ao longo de vários dias ou mais, dependendo da condição, o tratamento é repetido até que uma supressão desejada dos sintomas da doença ocorra. Entretanto, outros regimes de dosagem podem ser úteis e não estão excluídos daqui. A dosagem desejada pode ser liberada pela administração de uma massa única, pela administração de várias massas, ou por administração por infusão contínua de anticorpo, dependendo do padrão de declínio farmacocinético que o praticante deseje obter.

Essas quantidades sugeridas de anticorpo são submetidas a uma grande quantidade de critérios terapêuticos. O fator chave em selecionar uma dose e cronograma apropriado é o resultado obtido. Fatores para consideração nesse contexto incluem o distúrbio particular sendo tratada, o mamífero particular sendo tratado, a condição clínica do paciente individual, a causa do distúrbio, o local de liberação do anticorpo, o tipo particular de anticorpo, o método de administração, e cronograma de administração, e outros fatores conhecidos de médicos.

Agentes terapêuticos da invenção podem se congelados ou liofilizados para armazenamento e reconstituídos em um veículo estéril adequado antes do uso. Liofilização e reconstituição podem levar a graus variados de perda de atividade de anticorpo. As dosagens podem ter que ser ajustadas para compensar. Geralmente, pH entre 6 e 8 é preferido.

Artigos manufaturados

Em outra modalidade da invenção, um artigo manufaturado contendo materiais úteis para o tratamento dos distúrbios ou condições descritas acima é fornecido. O artigo manufaturado compreende um recipiente e um rótulo. Recipientes adequados incluem, por exemplo, garrafas, frascos, seringas, e tubos de teste. Os recipientes podem ser formados a partir de uma variedade de materiais tais como vidro ou plástico. O recipiente contém uma composição da invenção que é eficaz para tratar o distúrbio ou condição e pode ter uma porta de acesso estéril (por exemplo, o recipiente pode ser uma bolsa de solução intravenosa ou um frasco que tem uma tampa perfurável por uma agulha de injeção hipodérmica). O agente ativo na composição é um anticorpo anti-TGF- β da invenção. O rótulo sobre, ou associado com, o recipiente indica que a composição é usada para tratar a condição de escolha. O artigo manufaturado pode ainda compreender um segundo recipiente que compreende um tampão farmacologicamente aceitável, tal como solução salina tamponada com fosfato, solução de Ringer e solução de dextrose. Ele pode ainda incluir outros materiais desejáveis a partir de um ponto de vista comercial e do usuário, incluindo outros tampões, diluentes, filtros, agulhas, seringas, e bulas com instruções para uso.

Os seguintes exemplos são oferecidos apenas para fins ilustrativos, e não são pretendidos para limitar o escopo da presente invenção de nenhuma forma.

Exemplo 1: Produção e Purificação de Anticorpo

Para expressão simultânea da cadeia leve e da cadeia pesada de anticorpos da invenção, ambos os genes que codificam a cadeia pesada e cadeia leve são clonados para formar em um vetor de dois genes com cada gene sob o controle de um promotor de hCMV-MIE separado. As seqüências codificantes corretas são confirmadas por seqüenciamento de DNA de ambas as seqüências codificantes de cadeias leve e pesada.

O plasmídeo de expressão para a expressão simultânea da cadeia leve e cadeia pesada de um anticorpo da invenção é linearizado pela enzima de corte simples *Sal* I, precipitado com acetato de sódio e etanol,

lavado com etanol 70% gelado e seco ao ar em uma cabine de biossegurança estéril. O pélete de DNA é então re-dissolvido com o meio de transfecção e usado para transfectar células CHO. A transfecção é realizada por eletroporar a mistura célula-DNA usando o equipamento GenePulsar (BioRad, Hercules, CA) ajustado em 300 V e 1.120 uFd. Clones que expressam um anticorpo da invenção são então gerados pela diluição limitante e posteriormente expandidos para produção e purificação de anticorpo. Os anticorpos da invenção são então purificados de acordo com procedimentos padrão da técnica, que incluem precipitação em sulfato de amônio, cromatografia de troca de íon, afinidade, fase reversa, coluna de interação hidrofóbica, eletroforese em gel e similares.

Exemplo 2: ELISA

ELISA é corrido usando placas de microtitulação revestidas Costar 3366 (durante a noite a 4°C com 0,4 ug/ml de TGF- β 1, TGF- β 2, ou TGF- β 3). A placa é então lavada (2X) antes de se adicionar (100 uL) de solução de bloqueio (BSA 10 mg/ml em tampão de lavagem) por poço. As diluições de Fab são incubadas em cavidades revestidos (1,5 h, 22°C). Após a lavagem, conjugado de fosfatase alcalina *kappa* anti-humano é adicionado e incubado (1 h, 22°C). Um substrato colorimétrico é adicionado após lavagem intensa e a absorbância é medida (A560).

Em outro exemplo, as composições de ligação são testadas em um ensaio de ELISA competitivo. Tipicamente, um ensaio de fase em solução é realizado no qual um composto que deveria competir com um antígeno pela ligação a um anticorpo, tal como um anticorpo, é combinado primeiro com o anticorpo na fase em solução, então o grau de ligação do anticorpo com o antígeno é subsequentelemente medido. Materiais: Tampão de revestimento de carbonato (carbonato de sódio 50 mM pH 9.6). Antígenos: TGF- β 1 (R&D Systems, Cat # 240-B/CF, 239 ug/ml), TGF- β 2 (RDI, Cat #RDI-1035, 50 ug/ml), e TGF- β 3 (RDI, Cat # RDI-1036/CF, 50 ug/ml) diluídos para 0,4 ug/mL em tampão de revestimento. Tampão de lavagem (Tris 0,02 M pH 7,4, NaCl 0,15 M, Tween 20 0,1% e solução de bloqueio de BSA 10 mg/ml (Sigma A-4503) dissolvida em tampão de lavagem). As proteínas usadas

como controles positivos são de camundongo anti-TGF- β 1, - β 2, ou - β 3 humano (R&D Systems, cat# 1D11), camundongo anti-TGF- β 2 humano (R&D Systems, cat# BAF302) e camundongo anti-TGF- β 3 humano (R&D Systems, cat# BAF243), que são diluídas para 1 ug/ml em tampão de bloqueio. O conjugado de anticorpo de detecção é conjugado anti-*kappa* de camundongo – peroxidase (Southern Biotech, cat# 1050-05), em uma concentração de trabalho de 1:2000 em solução de bloqueio. O substrato da reação de cor são comprimidos de O-fenilenodiamina (OPD) (Sigma cat# P-6912) dissolvidos em tampão de substrato: Na₂HPO₄ 0,1 M, pH para 5.0 com ácido cítrico 0,05 M. A solução de trabalho de OPD (isto é, o volume para uma placa de 196 cavidades) é feita recentemente antes do desenvolvimento de cada placa por dissolver 1x5mg comprimido de OPD em 12,5 mL de tampão de substrato e então por 5 ul de H₂O₂ 30%. Protocolo: uma única placa de 96 cavidades é revestida com antígeno (TGF- β 1, - β 2, ou - β 3 a 0,4 ug/ml e 50 uL dispensados por poço) lacrada com fita e armazenada (16-20h, 4°C). A placa é lavada (2X) em tampão de lavagem antes da adição de solução de bloqueio (100 uL por poço de BSA 10 mg/ml em tampão de lavagem). Após incubação (~1hr-22°C), a placa é lavada (2X) com tampão de lavagem e então 100 uL de cada amostra (diluída em tampão) ou controle (diluída em PBS) são adicionados por poço e incubados (1,5h-22°C). Após a incubação, a placa é lavada (6X) com tampão de lavagem e então conjugado anti- *kappa* de camundongo – peroxidase (diluído para 1:2000 em solução de bloqueio) ou SA-HRP (diluído 1:10.000 em solução de bloqueio) adicionado (100 uL/poço). Amostras de teste são deixadas incubar (1h-22°C) antes de adicionar 100 uL de substrato de OPD /poço. Após o desenvolvimento de cor (~10 min), a placa de 96 cavidades é medida em uma absorbância de 490nm.

Exemplo 3: Constantes cinéticas para Fabs

O instrumento KinExA 3000 (Sapidyne Inst. Inc.) mede a cinética de ligação. Resumidamente, o antígeno é acoplado covalentemente a esferas de azlactone e a ligação de um Fab livre da invenção às esferas é detectada no instrumento. Para medir K_d, tubos individuais contendo 20 pM de

Fab (200 pM para anticorpo) com antígeno em diluição seriada decrescente (0-250 nM), são incubados (1-6d-25°C em PBS contendo BSA 1%, azida 0,02% e Tween20 0,01%). Após a incubação, Fab livre em cada amostra equilibrada é determinado no KinExA 3000 pelas instruções do fabricante.

- 5 Valores de K_d são determinados usando o programa KinExA 3000. Para medir k_{on} , Fabs individuais em 2 nM são misturados com 0-240 nM de antígeno usando o método de injeção de acordo com as instruções do fabricante, e o Fab não ligado é detectado. Os dados resultantes são usados para calcular a k_{on} com o programa KinExA 3000. A k_{off} é calculada usando a fórmula $K_d = k_{off}/k_{on}$.
 10 Dados de afinidade obtidos sob as condições de KinExA® para modalidades de Fab que se ligam à TGF Beta 1 são mostrados abaixo na Tabela 1.

Tabela 1

Fabs	k_{on} (M ⁻¹ s ⁻¹) ($\times 10^6$)	k_{off} (sec ⁻¹) calc, ($\times 10^{-6}$)	K_d (pM)
Fab 3.A	21,0	310	15
Fab 4.17	22,0	6,0	0,28
Fab 12.4	34,0	52	1,55
Fab 12.7	3,7	0,34	0,09
Fab 12.8	26,0	5,5	0,22

- De forma similares, os dados de Fab para afinidade de ligação de TGF- β 2 sob as condições de KinExA © mostraram $K_d < 35$ pM.
 15

Exemplo 4: Constantes cinéticas para Anticorpos

- Métodos alternativos de medir constantes cinéticas são mostrados, por exemplo: afinidade de um anticorpo da invenção para TGF- β 1 (R&D Systems, Cat # 240-B/CF), TGF- β 2 (RDI, Cat #RDI-1035), e TGF- β 3 (RDI, Cat # RDI-1036/CF) é medida por BIAcore® 2000. As medidas de afinidade de ligação para anticorpos monoclonais de extensão completa da invenção são determinadas usando Biacore. Exceto quando observado, todos os reagentes e materiais são adquiridos de BIAcore® AB (Upsala, Sweden). Todas as medidas feitas em temperatura ambiente. As amostras são dissolvidas em tampão HBS-EP (cloreto de sódio 150 mM, EDTA 3 mM, 0,01% (p/v)
 20
 25

tensoativo P-20, e HEPES 10 mM, pH 7,4). Proteína A recombinante é imobilizada em todas as quatro células de fluxo de um chip sensor CM4 em um nível de 400-450 unidades de resposta (RUs) usando um kit de acoplamento de amina. A ligação é avaliada usando múltiplos ciclos analíticos. Cada ciclo é realizado em uma taxa de fluxo de 50 $\mu\text{L}/\text{min}$ consistindo nas etapas: injeção de 12 μL de anticorpo a 0,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$, injeção de 250 μL de TGF- β 1 (começando em 5 nM e usando diluições seriadas duas vezes até 0,13 nM para cada ciclo, com duas injeções para cada concentração) seguido por um retardo curto (5 min) ou longo (120 min) para dissociação, e regeneração usando duas injeções de 50 μL de cloridrato de glicina 10 mM, pH 1,5. As taxas de associação e dissociação por ciclo são feitas pelo ajuste dos dados do biossensor a partir de um modelo de associação simples usando ClampXP (*Center for Biomolecular Interaction Analysis*, Univ. de Utah) para extrair as constantes k_{on} e k_{off} ; a constante de ligação no equilíbrio K_d é calculada a partir de $K_d = k_{\text{off}}/k_{\text{on}}$.

Anticorpos monoclonais de extensão completa da invenção foram construídos por Fabs operativamente ligados a uma região Fc de IgG₄ usando técnica padrão: mAb 3.A compreendendo LC de SEQ ID NO: 76 & HC de SEQ ID NO: 77; LC de mAb 4.17 de SEQ ID NO: 84 & HC de SEQ ID NO: 85; LC de mAb 12.4 de SEQ ID NO: 78 & HC de SEQ ID NO: 79; LC de mAb 12.7 de SEQ ID NO: 80 & HC de SEQ ID NO: 81; e LC de mAb 12.8 de SEQ ID NO: 82 & HC de SEQ ID NO: 83. Quando mAbs são medidos usando o ensaio descrito, os resultados são conforme mostrado na Tabela 1 abaixo.

Tabela 2

		Valores médios		
Mabs	Isoforma	k _{on} (M ⁻¹ s ⁻¹)	k _{off} (s ⁻¹)	KD (M)
Mab				
12.4	TGF-b1	> 4 E+07	6,71E-06	<2,0 E-13
	TGF-b2	2,42E+07	6,00E-06	2,65E-13
	TGF-b3	1,76E+07	15,3E-06	8,51E-13
Mab				
12.7	TGF-b1	> 5E+07	7,93E-06	<2,0 E-13
	TGF-b2	2,80E+07	11,1E-06	4,73E-13
	TGF-b3	1,56E+07	12,8E-06	8,20E-13
Mab				
12.8	TGF-b1	>5 E+07	7,92E-06	<2,0 E-13
	TGF-b2	2,29E+07	1,22E-05	1,00E-12
	TGF-b3	1,85E+07	1,12E-05	5,40E-13
Mab 3.A	TGF-b1	>5 E+07	1,07E-04	<2,0 E-12
	TGF-b2	>5 E+07	2,18E-04	<4 E-12
	TGF-b3	2,90E+07	2,38E-05	9,26E-13
Mab				
4.17	TGF-b1	>5 E+07	9,71E-06	<2,0 E-13
	TGF-b2	2,37E+07	9,86E-06	5,29E-13
	TGF-b3	2,17E+07	2,84E-05	1,53E-12

Exemplo 5: Especificidade

BIAcore é usado para avaliar a especificidade de anticorpos por entidades, tal como, por exemplo, a forma latente de TGF- β 1, - β 2 ou - β 3.

- 5 Todas as medidas são realizadas em temperatura ambiente. As amostras são dissolvidas em tampão HBS-EP (cloreto de sódio 150 mM, EDTA 3 mM, 0,01% (p/v) tensoativo P-20, e HEPES 10 mM, pH 7.4). Proteína A recombinante é imobilizada em todas as quatro células de fluxo de um chip sensor CM4 em um nível de 400-450 unidades de resposta (RUs) usando um kit de acoplamento de amina. A ligação é avaliada usando múltiplos ciclos analítico.
- 10 Cada ciclo é realizado em uma taxa de fluxo de 100 μ L/minuto consistin-

do nas seguintes etapas: injeção de 15 μ L de uma composição de ligação de anticorpo a 1 μ g/mL, injeção de 250 μ L de TGF- β 1 5 nM, TGF- β 2 latente 5 nM, ou TGF- β 3 5 nM seguido por um retardo curto (5 min) para dissociação, e regeneração usando duas injeções de 50 μ L de cloridrato de glicina 10 mM, pH 1,5. A quantidade de sinal após captura do anticorpo então ligante é determinada usando o programa de controle do instrumento. Como o sinal é proporcional à massa de proteína capturada, a estequiometria do ligante capturado é facilmente calculável. Sob tais condições, os dados para anticorpos da invenção não mostram ligação específica significativa de isoformas latentes de TGF.

Exemplo 6: Ensaio de neutralização de célula HT-2

Para testar a habilidade de um anticorpo neutralizar a bioatividade de TGF- β , pode-se adaptar o ensaio de proliferação de célula HT-2 de Tsang, *et al.*, (1995 Cytokine 7:389-97). O ensaio de HT-2 avalia as características de neutralização de um anticorpo sobre a bioatividade de TGF- β pela inibição e/ou diminuição significativa da proliferação celular da linhagem celular HT2 dependente de IL4. Resumidamente, células HT-2 proliferam de uma maneira dependente da dose por IL-4 mas sofrem apoptose por TGF- β . A inibição da proliferação por TGF- β é bloqueada pela adição de um anticorpo anti-TGF- β . Células HT-2 humanas proliferam em resposta a IL-4, mas TGF- β 1, - β 2, ou - β 3 inibem a proliferação induzida por IL-4. Conseqüentemente, um anticorpo é neutralizante se ele impedir o efeito inibitório normal de TGF- β sobre células HT-2 induzidas por IL-4. Conseqüentemente, a proliferação celular induzida por IL-4 deveria ocorrer livremente se quantidade suficiente de uma composição de ligação específica a TGF- β 1, - β 2, e - β 3 fosse adicionada a uma mistura de células HT-2 contendo uma quantidade inibitória da proliferação celular de TGF- β 1, - β 2, ou - β 3. A capacidade neutralizante de resposta à dose é feita usando o ensaio de HT-2 na presença de isoformas de TGF- β particulares e do sinal de proliferação de IL-4.

O grau de proliferação celular é determinado usando um ensaio de proliferação celular comercial (por exemplo, *CellTiter 96® AQueous One Solution Cell Proliferation Assay* de Promega). Células HT-2 são mantidas

em RPMI 1640 suplementado com 10% de FBS, penicilina/estreptomicina (100 U/ml e 100 ug/ml, respectivamente), beta-mercaptoetanol 50 uM e hIL-2 10 ng/ml (R&D Systems). As células são centrifugadas a 1000 RPM em uma centrífuga Jouvan CR422 e re-suspensas em PBS. Após lavar (2X) com PBS, as células são finalmente re-suspensas ($0,15 \times 10^6$ células/ml em meio de Ensaio (RPMI 1640 livre de vermelho de fenol suplementado com 2% de FBS, penicilina/estreptomicina (100 U/ml e 100 ug/ml, respectivamente) e beta-mercaptoetanol 50 uM). A cada poço de uma placa de 96 cavidades são adicionados 50 ul de células em um Meio de Ensaio. Concentrações variadas de um anticorpo da invenção são pré-incubadas com TGF- β 1, - β 2, ou - β 3 recombinante (300 pg/ml em Meio de Ensaio). Após uma pré-incubação de 30 min, 50 ul da mistura de TGF- β /anticorpo são adicionados às células HT-2, seguido imediatamente por 50ul de Meio de Ensaio contendo 6,0 ng/ml de IL-4 de murino (2,0 ng/ml final). Após incubação com o meio de ensaio (20-48 hr, 37°C em uma atmosfera com 5% de CO₂, umidificada), 35ul de solução aquosa CellTiter 96 (Promega Corp) são adicionados. Após incubação adicional (2-3 hr, conforme acima), o ensaio é quantificado em um leitor de placa de ELISA a 490 nM usando o ensaio colorimétrico CellTiter 96® (a quantidade de produto de formazana - medida pela quantidade de absorbância a 490nm - é diretamente proporcional ao número de células vivas). Comparado a 1D11.16; ATCC-HB9849, anticorpos da invenção exibem neutralização melhorada de morte celular induzida por TGF- β 1-, - β 2-, e - β 3 e potência de neutralização (por exemplo, IC₅₀ < 0,1 mg/mL ou <125 pM) como mostrada na Tabela 3 abaixo.

25 Tabela 3

		mAb 3.A		mAb 4.17		mAb 12.4		mAb 12.7	
	Média ng/ml	Média ng/ml	SEM	Média ng/ml	SEM	Média ng/ml	SEM	Média ng/ml	SEM
TGF- β 1	214,84	2,62	0,96	0,42	0,08	0,44	0,16	0,59	0,16
TGF- β 2	574,40	51,43	11,63	3,65	0,84	6,14	1,37	3,34	0,89
TGF- β 3	99,98	16,91	5,61	15,79	3,68	5,22	0,87	6,78	0,41

Exemplo 7: Ensaio de Neutralização de Xenoenxerto

Ao se ligar aos receptores TGF- β RI e TGF- β RII, ligantes de TGF- β ativam uma cascata de sinalização, na qual proteínas Smad-2 são fosforiladas para produzir efeitos biológicos a jusante, tal como, por exemplo, no

5 câncer. Inibição e/ou diminuição significativa de fosforilação de Smad2 evidencia a neutralização das atividades biológicas de TGF- β através de ativação transcricional (veja, por exemplo, Li, *et al.*, 2005 World J Surg 29(3):306-11). Para avaliar a eficácia de neutralização *in vivo* de um anticorpo, os ní-

10 veis de Fosfo-Smad2 em um modelo de xenoenxerto e/ou em múltiplos órgãos ou tecido são feitos após exposição a um anticorpo da invenção para fornecer evidência de sua eficácia de neutralização em condições proliferati-

15 vas celulares, tais como, por exemplo, câncer. O teste de eficácia *in vivo* é avaliado por medir o grau de inibição de fosfo-Smad2 usando um modelo de tumor humano U87MG altamente vascularizado (veja, por exemplo, Plow-

20 man, *et al.*, 1997 "Human tumor xenograft models" em Anticancer Drug Development Guide: Preclinical Screening, Clinical Trials, and Approval; Teicher B (ed) pp 101-25. Humana Press: Totowa NJ). Camundongos "nude" nu/nu atímicos fêmeas (Charles River, ~22-24 g) são postos em quarentena e mantidos (7d de alimentação e água *ad libitum*) antes da manipulação ex-

25 perimental. O teste começa por injeções do flanco (s.c.) de células de glioblastoma U87MG subconfluentes humanas ($\sim 5 \times 10^6$ /por animal em 0,2 ml de meio de cultura misturado com Matrigel (BD Biosciences, 1:1 v/v)) para promover crescimento do tumor. Os xenoenxertos são então monitorados até que o volume do tumor alcance $\sim 300 \text{ mm}^3$ e então os animais são divididos

30 randomicamente em grupos de tratamento (10/grupo) com dosagem iniciada. A terapia de implantação pós-tumor começa quando mAb 12.7 é administrado (i.p.) em doses variadas (por exemplo, 1, 10, 100 ug/animal) em um veículo de solução salina duas vezes por semana (q4d) por uma duração de dosagem de suas semanas. Controles de solução salina e IgG4 humana (100 ug) são administrados em paralelo. 48H após a última dose, os animais são sacrificados com amostras de tumor e pulmão coletadas e congeladas em nitrogênio líquido. As amostras são subsequentemente trituradas e lisa-

das para análise de fosforilação de Smad2 por ELISA usando anticorpos contra Smad2 fosforilada ou total. Sangue também é coletado em tubos tratados com EDTA através de punção cardíaca. Amostras de sangue são centrifugadas para se obter amostras de plasma (800 rpm, 4°C, 30 min; e então 3000 rpm, 4°C, 10 min), que são armazenadas (-80°C) até análise. Comparação estatística de fosforilação de Smad2 é realizada usando JMP5.1 (SAS Institute). Um teste ANOVA *one-way* e teste de Dunnett com um controle também são usados. Os níveis de fosfo-Smad2 são testados para avaliar a inibição do alvo induzida pelo tratamento com composições da invenção. O nível de fosfo-Smad2 é normalizado para a Smad total (ou proteína total) para minimizar variação introduzida pelo tamanho do tecido e processo de manuseio. Os dados desse modelo de xenoenxerto U87MG mostram uma inibição dependente da dose de fosforilação de Smad2, assim demonstrando eficácia de neutralização *in vivo* em modular os efeitos de TGF- β sobre a proliferação celular. Os dados mostram que uma dose de 10 μ g diminui a fosforilação de Smad2 em 60% ($p=0,012$), com 72% de inibição alcançável em doses de 100 μ g ($p<0,0001$). Além disso, uma diminuição de 75% na fosforilação de Smad2 é vista em tecido pulmonar em dose de 100 μ g de uma composição da invenção ($p<0,001$). Também há uma diminuição dependente da dose nos níveis de Fosfo-Smad2 (em relação a Smad total (T-Smad)) e níveis de Fosfo-Smad2 diminuídos em tecido de pulmão (na dose de 100 μ g). Dados similares são obtidos quando os níveis de fosfo-Smad são normalizados tanto aos níveis de Smad total ou à raiz quadrada dos níveis de Smad total (tSmad), dessa forma indicando ainda que a porcentagem de inibição do crescimento do tumor está correlacionada com a liberação de dosagem de uma composição de ligação da invenção.

LISTAGEM DE SEQÜÊNCIA

SEQ ID NO: 1 é a cadeia madura humana da seqüência de aminoácido de TGF- β 1.

5 SEQ ID NO: 2 é a cadeia madura humana da seqüência de aminoácido de TGF- β 2.

SEQ ID NO: 3 é a cadeia madura humana da seqüência de aminoácido de TGF- β 3.

SEQ ID NO: 4 é uma seqüência de aminoácido de VHCDR1 de um anticorpo da invenção.

10 SEQ ID NO: 5 é uma seqüência de aminoácido de VHCDR2 de um anticorpo da invenção.

SEQ ID NO: 6 é uma seqüência de aminoácido de VHCDR3 de um anticorpo da invenção.

15 SEQ ID NO: 7 é uma seqüência de aminoácido de VLCDR1 de um anticorpo da invenção.

SEQ ID NO: 8 é uma seqüência de aminoácido de VLCDR2 de um anticorpo da invenção.

SEQ ID NO: 9 é uma seqüência de aminoácido de VLCDR3 de um anticorpo da invenção.

20 SEQ ID NO: 10 é a seqüência de aminoácido de VHCDR1 de anticorpos da invenção.

SEQ ID NO: 11 é a seqüência de aminoácido de VHCDR2 de anticorpos da invenção.

25 SEQ ID NO: 11 é a seqüência de aminoácido de VHCDR3 de anticorpos da invenção.

SEQ ID NO: 13 é a seqüência de aminoácido de VLCDR1 de anticorpos da invenção.

SEQ ID NO: 14 é a seqüência de aminoácido de VLCDR2 de anticorpos da invenção.

30 SEQ ID NO: 15 é a seqüência de aminoácido de VLCDR3 de anticorpos da invenção.

SEQ ID NO: 16 é uma seqüência de aminoácido de arcabouço

de FR1 de HCVR humana.

SEQ ID NO: 17 é uma seqüência de aminoácido de arcabouço de FR2 de HCVR humana.

5 SEQ ID NO: 18 é uma seqüência de aminoácido de arcabouço de FR3 de HCVR humana.

SEQ ID NO: 19 é uma seqüência de aminoácido de arcabouço de FR4 de HCVR humana.

SEQ ID NO: 20 é uma seqüência de aminoácido de arcabouço de FR1 de LCVR humana.

10 SEQ ID NO: 21 é uma seqüência de aminoácido de arcabouço de FR2 de LCVR humana.

SEQ ID NO: 22 é uma seqüência de aminoácido de arcabouço de FR3 de LCVR humana.

15 SEQ ID NO: 23 é uma seqüência de aminoácido de arcabouço de FR4 de LCVR humana.

SEQ ID NO: 24 é uma seqüência de aminoácido de região constante de cadeia pesada humana.

SEQ ID NO: 25 é outra seqüência de aminoácido de região constante de cadeia pesada humana.

20 SEQ ID NO: 26 é uma seqüência de aminoácido de região constante de cadeia leve humana.

SEQ ID NO: 27-50 são seqüências de aminoácido de região variável de cadeia leve (LCVR) humanizada para anticorpos particulares da presente invenção.

25 SEQ ID NO: 51-75 são seqüências de aminoácido de região variável de cadeia pesada (HCVR) humanizada para anticorpos particulares da presente invenção.

30 SEQ ID NO: 76-85 são seqüências de aminoácido de cadeias pesada e leve (HC & LC) humanizadas para anticorpos particulares da presente invenção.

SEQ ID NO: 86-87 são seqüências de aminoácido de cadeias pesada e leve (HC & LC) humanizadas para anticorpos particulares da pre-

sente invenção.

SEQ ID NO: 88-102 são as seqüências de aminoácido das C-DRs de cadeia pesada e leve para anticorpos preferidos da presente invenção.

5 SEQ ID NO: 103-112 são as seqüências de DNA que codificam LCVRs e HCVRs preferidas da presente invenção.

LISTAGEM DE SEQÜÊNCIA

<110> ELI LILLY AND COMPANY
 <120> "ANTICORPO MONOCLONAL, USO DO MESMO E COMPOSIÇÃO FARMACÊUTI-
 CA"
 5 <130> X-17188
 <150> US 60/753,956
 <151> 2005-12-23
 <160> 112
 <170> PatentIn version 3.3
 10 <210> 1
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> homo sapiens
 <400> 1
 15 Ala Leu Asp Thr Asn Tyr Cys Phe Ser Ser Thr Glu Lys Asn Cys Cys
 1 5 10 15
 Val Arg Gln Leu Tyr Ile Asp Phe Arg Lys Asp Leu Gly Trp Lys Trp
 20 25 30
 Ile His Glu Pro Lys Gly Tyr His Ala Asn Phe Cys Leu Gly Pro Cys
 20 35 40 45
 Pro Tyr Ile Trp Ser Leu Asp Thr Gln Tyr Ser Lys Val Leu Ala Leu
 50 55 60
 Tyr Asn Gln His Asn Pro Gly Ala Ser Ala Ala Pro Cys Cys Val Pro
 65 70 75 80
 25 Gln Ala Leu Glu Pro Leu Pro Ile Val Tyr Tyr Val Gly Arg Lys Pro
 85 90 95
 Lys Val Glu Gln Leu Ser Asn Met Ile Val Arg Ser Cys Lys Cys Ser
 100 105 110
 <210> 2
 30 <211> 112
 <212> PRT
 <213> homo sapiens

<400> 2

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

<210> 3

<211> 112

<212> PRT

<213> homo sapiens

20 <400> 3

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

Lys Val Glu Gln Leu Ser Asn Met Val Val Lys Ser Cys Lys Cys Ser

100

105

110

<210> 4

<211> 5

5 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic construct

<400> 4

10 Thr Tyr Trp Met Asn

1 5

<210> 5

<211> 17

<212> PRT

15 <213> Artificial

<220>

<223> constructo sintético

<400> 5

Gln Ile Phe Pro Ala Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Glu Met Phe Glu

20 1 5 10 15

Gly

<210> 6

<211> 12

25 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> constructo sintético

<400> 6

30 Gly Asp Gly Asn Tyr Ala Leu Asp Ala Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 7

<211> 15
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 5 <223> constructo sintético
 <400> 7
 Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Ser Tyr Gly Asn Ser Phe Met His
 1 5 10 15
 <210> 8
 10 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> constructo sintético
 15 <400> 8
 Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser
 1 5
 <210> 9
 <211> 9
 20 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> constructo sintético
 <400> 9
 25 Gln Gln Asn Asn Glu Asp Pro Leu Thr
 1 5
 <210> 10
 <211> 5
 <212> PRT
 30 <213> Artificial
 <220>
 <223> constructo sintético

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa até a posição 1 = Thr ou Ser
 5 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa até a posição 2 = Glu ou Tyr
 <400> 10
 10 Xaa Xaa Trp Met Asn
 1 5
 <210> 11
 <211> 17
 <212> PRT
 15 <213> Artificial
 <220>
 <223> constructo sintético
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 20 <222> (5)..(5)
 <223> Xaa até a posição 5 = Ala ou Phe
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (6)..(6)
 25 <223> Xaa até a posição 6 = Ser, Thr, ou Leu
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (12)..(12)
 <223> Xaa até a posição 12 = Asn, Gly, Ser, Asp, ou Ala
 30 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (15)..(15)

<223> Xaa até a posição 15 = Phe ou Tyr

<400> 11

Gln Ile Phe Pro Xaa Xaa Gly Ser Thr Asn Tyr Xaa Glu Met Xaa Glu

1 5 10 15

5 Gly

<210> 12

<211> 12

<212> PRT

10 <213> Artificial

<220>

<223> constructo sintético

<220>

<221> MISC_FEATURE

15 <222> (2)..(2)

<223> Xaa até a posição 2 = Asp, Ile, Met, Tyr, Leu, Val, Gln, ou Phe

<400> 12

Gly Xaa Gly Asn Tyr Ala Leu Asp Ala Met Asp Tyr

20 1 5 10

<210> 13

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial

25 <220>

<223> constructo sintético

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (8)..(8)

30 <223> Xaa até a posição 8 = Ser, Tyr, Phe, ou Leu

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (9)..(9)

<223> Xaa até a posição 9 = Tyr ou Trp

<400> 13

Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Xaa Xaa Gly Asn Ser Phe Met His

5 1 5 10 15

<210> 14

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial

10 <220>

<223> constructo sintético

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

15 <223> Xaa até a posição 1 = Leu ou Tyr

<400> 14

Xaa Ala Ser Asn Leu Glu Ser

1 5

<210> 15

20 <211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> constructo sintético

25 <220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa até a posição 1 = Gln, Thr, ou Cys

<220>

30 <221> MISC_FEATURE

<222> (3)..(3)

<223> Xaa até a posição 3 = Asn ou His

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa até a posição 4 = Asn, Ile, Met, Asp, Thr, ou Ala

5 <400> 15

Xaa Gln Xaa Xaa Glu Asp Pro Leu Thr

1 5

<210> 16

<211> 30

10 <212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 16

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

15 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr

20 25 30

<210> 17

<211> 14

<212> PRT

20 <213> homo sapiens

<400> 17

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly

1 5 10

<210> 18

25 <211> 32

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 18

Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu

30 1 5 10 15

Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg

20 25 30

<210> 19
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> homo sapiens
 5 <400> 19
 Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 1 5 10
 <210> 20
 <211> 23
 10 <212> PRT
 <213> homo sapiens
 <400> 20
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 15 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
 20
 <210> 21
 <211> 15
 <212> PRT
 20 <213> homo sapiens
 <400> 21
 Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 1 5 10 15
 <210> 22
 25 <211> 32
 <212> PRT
 <213> homo sapiens
 <400> 22
 Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 30 1 5 10 15
 Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
 20 25 30

<210> 23
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> homo sapiens
 5 <400> 23
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 1 5 10
 <210> 24
 <211> 328
 10 <212> PRT
 <213> homo sapiens
 <400> 24
 Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser
 1 5 10 15
 15 Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
 20 25 30
 Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly
 35 40 45
 Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu
 20 50 55 60
 Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr
 65 70 75 80
 Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys
 85 90 95
 25 Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 100 105 110
 Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 115 120 125
 Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 30 130 135 140
 Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 145 150 155 160

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 165 170 175
 Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 180 185 190
 5 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 195 200 205
 Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 210 215 220
 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 10 225 230 235 240
 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 245 250 255
 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 260 265 270
 15 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 275 280 285
 Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 290 295 300
 Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 20 305 310 315 320
 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 325

<210> 25

<211> 326

25 <212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 25

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
 1 5 10 15
 30 Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

	35	40	45
	Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser		
	50	55	60
	Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr		
5	65	70	75
	Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys		
	85	90	95
	Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro		
	100	105	110
10	Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys		
	115	120	125
	Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val		
	130	135	140
	Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp		
15	145	150	155
	Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe		
	165	170	175
	Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp		
	180	185	190
20	Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu		
	195	200	205
	Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg		
	210	215	220
	Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys		
25	225	230	235
	Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp		
	245	250	255
	Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys		
	260	265	270
30	Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser		
	275	280	285
	Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser		

	290		295		300
	Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser				
	305		310		315 320
	Leu Ser Leu Ser Leu Gly				
5			325		
	<210> 26				
	<211> 107				
	<212> PRT				
	<213> homo sapiens				
10	<400> 26				
	Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu				
	1 5 10 15				
	Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe				
	20 25 30				
15	Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln				
	35 40 45				
	Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser				
	50 55 60				
	Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu				
20	65 70 75 80				
	Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser				
	85 90 95				
	Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys				
	100 105				
25	<210> 27				
	<211> 111				
	<212> PRT				
	<213> Artificial				
	<220>				
30	<223> constructo sintético				
	<400> 27				

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Ser Tyr
 20 25 30
 5 Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
 35 40 45
 Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
 50 55 60
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 10 65 70 75 80
 Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Ile
 85 90 95
 Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110
 15 <210> 28
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 20 <223> constructo sintético
 <400> 28
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Ser Tyr
 25 20 25 30
 Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
 35 40 45
 Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
 50 55 60
 30 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 65 70 75 80

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Met
 85 90 95
 Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

5 <210> 29
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 10 <223> constructo sintético
 <400> 29

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

<210> 30
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> Artificial
 30 <220>
 <223> constructo sintético
 <400> 30

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Ser Tyr
 20 25 30
 5 Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
 35 40 45
 Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
 50 55 60
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 10 65 70 75 80
 Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Asn
 85 90 95
 Glu Cys Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110
 15 <210> 31
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 20 <223> constructo sintético
 <400> 31
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Ser Tyr
 25 20 25 30
 Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
 35 40 45
 Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
 50 55 60
 30 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 65 70 75 80

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Asp

85

90

95

Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100

105

110

5 <210> 32

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

10 <223> constructo sintético

<400> 32

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1

5

10

15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Ser Tyr

15

20

25

30

Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro

35

40

45

Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser

50

55

60

20 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser

65

70

75

80

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Thr

85

90

95

Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

25

100

105

110

<210> 33

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial

30 <220>

<223> constructo sintético

<400> 33

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Ser Tyr
 20 25 30
 5 Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
 35 40 45
 Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
 50 55 60
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 10 65 70 75 80
 Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Asn
 85 90 95
 Glu Ile Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110
 15 <210> 34
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 20 <223> constructo sintético
 <400> 34
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Ser Tyr
 25 20 25 30
 Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
 35 40 45
 Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
 50 55 60
 30 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 65 70 75 80

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Ala

85

90

95

Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100

105

110

5 <210> 35

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

10 <223> constructo sintético

<400> 35

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1

5

10

15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Ser Tyr

15

20

25

30

Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro

35

40

45

Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser

50

55

60

20 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser

65

70

75

80

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn

85

90

95

Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

25

100

105

110

<210> 36

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial

30 <220>

<223> constructo sintético

<400> 36

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Trp Tyr
 20 25 30
 5 Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
 35 40 45
 Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
 50 55 60
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 10 65 70 75 80
 Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Ile
 85 90 95
 Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110
 15 <210> 37
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 20 <223> constructo sintético
 <400> 37
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Phe Tyr
 25 20 25 30
 Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
 35 40 45
 Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
 50 55 60
 30 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 65 70 75 80

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Ile

85

90

95

Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100

105

110

5 <210> 38

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

10 <223> constructo sintético

<400> 38

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1

5

10

15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Leu Tyr

15

20

25

30

Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro

35

40

45

Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser

50

55

60

20 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser

65

70

75

80

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Ile

85

90

95

Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

25

100

105

110

<210> 39

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial

30 <220>

<223> constructo sintético

<400> 39

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Ser Trp
 20 25 30
 5 Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
 35 40 45
 Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
 50 55 60
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 10 65 70 75 80
 Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Ile
 85 90 95
 Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110
 15 <210> 40
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 20 <223> constructo sintético
 <400> 40
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Ser Tyr
 25 20 25 30
 Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
 35 40 45
 Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
 50 55 60
 30 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 65 70 75 80

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Ile

85

90

95

Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100

105

110

5 <210> 41

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

10 <223> constructo sintético

<400> 41

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1

5

10

15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Phe Tyr

15

20

25

30

Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro

35

40

45

Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser

50

55

60

20 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser

65

70

75

80

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Ile

85

90

95

Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

25

100

105

110

<210> 42

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial

30 <220>

<223> constructo sintético

<400> 42

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Ser Tyr
 20 25 30
 5 Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
 35 40 45
 Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
 50 55 60
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 10 65 70 75 80
 Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Ala
 85 90 95
 Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110
 15 <210> 43
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 20 <223> constructo sintético
 <400> 43
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Trp Trp
 25 20 25 30
 Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
 35 40 45
 Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
 50 55 60
 30 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 65 70 75 80

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Ile

85

90

95

Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100

105

110

5 <210> 44

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

10 <223> constructo sintético

<400> 44

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1

5

10

15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Ser Tyr

15

20

25

30

Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro

35

40

45

Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser

50

55

60

20 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser

65

70

75

80

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Ile

85

90

95

Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

25

100

105

110

<210> 45

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial

30 <220>

<223> constructo sintético

<400> 45

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Phe Tyr
 20 25 30
 5 Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
 35 40 45
 Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
 50 55 60
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 10 65 70 75 80
 Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Ile
 85 90 95
 Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110
 15 <210> 46
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 20 <223> constructo sintético
 <400> 46
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Trp Tyr
 25 20 25 30
 Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
 35 40 45
 Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
 50 55 60
 30 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 65 70 75 80

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Ala

85

90

95

Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100

105

110

5 <210> 47

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

10 <223> constructo sintético

<400> 47

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1

5

10

15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Ser Tyr

15

20

25

30

Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro

35

40

45

Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser

50

55

60

20 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser

65

70

75

80

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Ile

85

90

95

Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

25

100

105

110

<210> 48

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial

30 <220>

<223> constructo sintético

<400> 48

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Ser Tyr
 20 25 30
 5 Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
 35 40 45
 Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
 50 55 60
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 10 65 70 75 80
 Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Ile
 85 90 95
 Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110
 15 <210> 49
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 20 <223> constructo sintético
 <400> 49
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Phe Trp
 25 20 25 30
 Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
 35 40 45
 Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
 50 55 60
 30 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 65 70 75 80

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Ile

85

90

95

Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100

105

110

5 <210> 50

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

10 <223> constructo sintético

<400> 50

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1

5

10

15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Phe Trp

15

20

25

30

Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro

35

40

45

Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser

50

55

60

20 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser

65

70

75

80

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Ala

85

90

95

Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

25

100

105

110

<210> 51

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial

30 <220>

<223> constructo sintético

<400> 51

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Phe Tyr
 20 25 30
 5 Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
 35 40 45
 Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
 50 55 60
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 10 65 70 75 80
 Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Ile
 85 90 95
 Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110
 15 <210> 52
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 20 <223> constructo sintético
 <400> 52
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Phe Trp
 25 20 25 30
 Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
 35 40 45
 Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
 50 55 60
 30 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 65 70 75 80

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Ile

85

90

95

Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100

105

110

5 <210> 53

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

10 <223> constructo sintético

<400> 53

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1

5

10

15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Trp Trp

15

20

25

30

Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro

35

40

45

Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser

50

55

60

20 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser

65

70

75

80

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Ile

85

90

95

Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

25

100

105

110

<210> 54

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial

30 <220>

<223> constructo sintético

<400> 54

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Trp Tyr
 20 25 30
 5 Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
 35 40 45
 Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
 50 55 60
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 10 65 70 75 80
 Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Ile
 85 90 95
 Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110
 15 <210> 55
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 20 <223> constructo sintético
 <400> 55
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Trp Trp
 25 20 25 30
 Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
 35 40 45
 Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
 50 55 60
 30 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 65 70 75 80
 Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Asn

		85		90		95										
	Glu	Asp	Pro	Leu	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys	
			100						105					110		
	<210>	56														
5	<211>	111														
	<212>	PRT														
	<213>	Artificial														
	<220>															
	<223>	constructo sintético														
10	<400>	56														
	Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
	1				5					10					15	
	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Arg	Ala	Ser	Glu	Ser	Val	Asp	Phe	Tyr
				20					25					30		
15	Gly	Asn	Ser	Phe	Met	His	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro
			35						40					45		
	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Leu	Ala	Ser	Asn	Leu	Glu	Ser	Gly	Val	Pro	Ser
		50					55					60				
	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser
20	65				70					75					80	
	Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Asn	Ile
					85					90					95	
	Glu	Asp	Pro	Leu	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys	
				100						105					110	
25	<210>	57														
	<211>	111														
	<212>	PRT														
	<213>	Artificial														
	<220>															
30	<223>	constructo sintético														
	<400>	57														
	Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly

Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100

105

110

<210> 59

<211> 111

5 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> constructo sintético

<400> 59

10 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1

5

10

15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Trp Tyr

20

25

30

Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro

15

35

40

45

Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser

50

55

60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser

65

70

75

80

20 Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Ala

85

90

95

Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100

105

110

<210> 60

25 <211> 111

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> constructo sintético

30 <400> 60

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1

5

10

15

1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Trp Tyr
 20 25 30
 Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
 5 35 40 45
 Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
 50 55 60
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 65 70 75 80
 10 Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Ala
 85 90 95
 Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110
 <210> 58
 15 <211> 111
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> constructo sintético
 20 <400> 58
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Trp Tyr
 20 25 30
 25 Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
 35 40 45
 Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
 50 55 60
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 30 65 70 75 80
 Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Ile
 85 90 95

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Trp Trp
 20 25 30
 Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
 35 40 45
 5 Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
 50 55 60
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 65 70 75 80
 Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Ala
 10 85 90 95
 Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110
 <210> 61
 <211> 111
 15 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> constructo sintético
 <400> 61
 20 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Ser Trp
 20 25 30
 Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
 25 35 40 45
 Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
 50 55 60
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 65 70 75 80
 30 Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Asn
 85 90 95

Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100

105

110

<210> 62

<211> 111

5 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> constructo sintético

<400> 62

10 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1

5

10

15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Trp Trp

20

25

30

Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro

15

35

40

45

Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser

50

55

60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser

65

70

75

80

20 Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Ile

85

90

95

Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100

105

110

<210> 63

25 <211> 111

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> constructo sintético

30 <400> 63

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1

5

10

15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Phe Trp
 20 25 30
 Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
 35 40 45
 5 Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
 50 55 60
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 65 70 75 80
 Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Ala
 10 85 90 95
 Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110
 <210> 64
 <211> 121
 15 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> constructo sintético
 <400> 64
 20 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 25 35 40 45
 Gly Gln Ile Phe Pro Ala Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Gly Glu Met Phe
 50 55 60
 Glu Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 30 Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Gly Ile Gly Asn Tyr Ala Leu Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly

100

105

110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

120

5 <210> 65

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

10 <223> constructo sintético

<400> 65

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1

5

10

15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr

15

20

25

30

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35

40

45

Gly Gln Ile Phe Pro Ala Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Ser Glu Met Phe

50

55

60

20 Glu Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65

70

75

80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85

90

95

Ala Arg Gly Met Gly Asn Tyr Ala Leu Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly

25

100

105

110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 66

<211> 121

30 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> constructo sintético

<400> 66

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

<210> 67

20 <211> 121

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> constructo sintético

25 <400> 67

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr
 20 25 30
 30 Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

Gly Gln Ile Phe Pro Ala Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asp Glu Met Phe
 50 55 60
 Glu Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 5 Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Tyr Gly Asn Tyr Ala Leu Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 10 115 120
 <210> 68
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Artificial
 15 <220>
 <223> constructo sintético
 <400> 68
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 20 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Gln Ile Phe Pro Ala Leu Gly Ser Thr Asn Tyr Gly Glu Met Phe
 25 50 55 60
 Glu Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 30 Ala Arg Gly Ile Gly Asn Tyr Ala Leu Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120
 <210> 69
 <211> 121
 5 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> constructo sintético
 <400> 69
 10 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Glu
 20 25 30
 Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 15 35 40 45
 Gly Gln Ile Phe Pro Ala Leu Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Glu Met Tyr
 50 55 60
 Glu Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 20 Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Ile Gly Asn Tyr Ala Leu Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 25 115 120
 <210> 70
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Artificial
 30 <220>
 <223> constructo sintético
 <400> 70

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 5 Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Gln Ile Phe Pro Ala Leu Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Glu Met Phe
 50 55 60
 Glu Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 10 65 70 75 80
 Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Ile Gly Asn Tyr Ala Leu Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110
 15 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120
 <210> 71
 <211> 121
 <212> PRT
 20 <213> Artificial
 <220>
 <223> constructo sintético
 <400> 71
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 25 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr
 20 25 30
 Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 30 Gly Gln Ile Phe Pro Ala Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Gly Glu Met Phe
 50 55 60

Glu Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 5 Ala Arg Gly Gln Gly Asn Tyr Ala Leu Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120
 <210> 72
 10 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> constructo sintético
 15 <400> 72
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr
 20 25 30
 20 Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Gln Ile Phe Pro Ala Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Glu Met Phe
 50 55 60
 Glu Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 25 65 70 75 80
 Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Phe Gly Asn Tyr Ala Leu Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110
 30 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120
 <210> 73

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

5 <223> constructo sintético

<400> 73

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr

10 20 25 30

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Gln Ile Phe Pro Ala Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Gly Glu Met Phe

50 55 60

15 Glu Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Ile Gly Asn Tyr Ala Leu Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly

20 100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 74

<211> 121

25 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> constructo sintético

<400> 74

30 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 5 Gly Gln Ile Phe Pro Phe Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Glu Met Phe
 50 55 60
 Glu Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 10 85 90 95
 Ala Arg Gly Ile Gly Asn Tyr Ala Leu Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120
 15 <210> 75
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 20 <223> constructo sintético
 <400> 75
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr
 25 20 25 30
 Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Gln Ile Phe Pro Ala Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Gly Glu Met Phe
 50 55 60
 30 Glu Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

	Met	Glu	Leu	Arg	Ser	Leu	Arg	Ser	Asp	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	
					85					90						95	
	Ala	Arg	Gly	Ile	Gly	Asn	Tyr	Ala	Leu	Asp	Ala	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	
				100					105						110		
5	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser								
				115					120								
	<210>	76															
	<211>	218															
	<212>	PRT															
10	<213>	Artificial															
	<220>																
	<223>	constructo sintético															
	<400>	76															
	Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly	
15	1				5					10						15	
	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Arg	Ala	Ser	Glu	Ser	Val	Asp	Phe	Trp	
				20					25					30			
	Gly	Asn	Ser	Phe	Met	His	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	
			35					40					45				
20	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Leu	Ala	Ser	Asn	Leu	Glu	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	
		50					55					60					
	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	
	65					70					75				80		
	Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Asn	Ile	
25				85						90					95		
	Glu	Asp	Pro	Leu	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys	Arg	
				100					105						110		
	Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	
				115					120					125			
30	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	
		130						135						140			

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
 145 150 155 160
 Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
 165 170 175
 5 Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
 180 185 190
 His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
 195 200 205
 Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 10 210 215
 <210> 77
 <211> 447
 <212> PRT
 <213> Artificial
 15 <220>
 <223> constructo sintético
 <400> 77
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 20 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Gln Ile Phe Pro Ala Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Gly Glu Met Phe
 25 50 55 60
 Glu Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 30 Ala Arg Gly Ile Gly Asn Tyr Ala Leu Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 120 125
 Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala
 130 135 140
 5 Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 145 150 155 160
 Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 165 170 175
 Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 10 180 185 190
 Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His
 195 200 205
 Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly
 210 215 220
 15 Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser
 225 230 235 240
 Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
 245 250 255
 Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro
 20 260 265 270
 Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
 275 280 285
 Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
 290 295 300
 25 Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
 305 310 315 320
 Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr
 325 330 335
 Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
 30 340 345 350
 Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
 355 360 365

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
 370 375 380
 Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
 385 390 395 400
 5 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser
 405 410 415
 Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
 420 425 430
 Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
 10 435 440 445
 <210> 78
 <211> 218
 <212> PRT
 <213> Artificial
 15 <220>
 <223> constructo sintético
 <400> 78
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 20 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Trp Trp
 20 25 30
 Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
 35 40 45
 Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
 25 50 55 60
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 65 70 75 80
 Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Ile
 85 90 95
 30 Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
 100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
 115 120 125
 Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
 130 135 140
 5 Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
 145 150 155 160
 Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
 165 170 175
 Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
 10 180 185 190
 His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
 195 200 205
 Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215
 15 <210> 79
 <211> 447
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 20 <223> constructo sintético
 <400> 79
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 25 20 25 30
 Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Gln Ile Phe Pro Ala Leu Gly Ser Thr Asn Tyr Gly Glu Met Phe
 50 55 60
 30 Glu Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

	Met	Glu	Leu	Arg	Ser	Leu	Arg	Ser	Asp	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	
					85				90					95			
	Ala	Arg	Gly	Ile	Gly	Asn	Tyr	Ala	Leu	Asp	Ala	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	
				100				105					110				
5	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	
			115					120					125				
	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	
		130					135					140					
	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	
10	145				150					155					160		
	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	
				165					170					175			
	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	
			180					185					190				
15	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Lys	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	
		195						200				205					
	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	
		210				215					220						
	Pro	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Phe	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	
20	225				230					235						240	
	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	
				245						250					255		
	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	
			260					265					270				
25	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	
		275						280					285				
	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	
		290				295						300					
	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	
30	305				310					315						320	
	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	
				325					330					335			

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
 340 345 350
 Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
 355 360 365
 5 Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
 370 375 380
 Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
 385 390 395 400
 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser
 10 405 410 415
 Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
 420 425 430
 Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
 435 440 445
 15 <210> 80
 <211> 218
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 20 <223> constructo sintético
 <400> 80
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Phe Tyr
 25 20 25 30
 Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
 35 40 45
 Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
 50 55 60
 30 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 65 70 75 80

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Ile
 85 90 95
 Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
 100 105 110
 5 Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
 115 120 125
 Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
 130 135 140
 Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
 10 145 150 155 160
 Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
 165 170 175
 Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
 180 185 190
 15 His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
 195 200 205
 Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215
 <210> 81
 20 <211> 447
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> constructo sintético
 25 <400> 81
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Glu
 20 25 30
 30 Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

Gly Gln Ile Phe Pro Ala Leu Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Glu Met Tyr
 50 55 60
 Glu Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 5 Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Ile Gly Asn Tyr Ala Leu Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 10 115 120 125
 Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala
 130 135 140
 Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 145 150 155 160
 15 Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 165 170 175
 Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 180 185 190
 Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His
 20 195 200 205
 Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly
 210 215 220
 Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser
 225 230 235 240
 25 Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
 245 250 255
 Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro
 260 265 270
 Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
 30 275 280 285
 Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
 290 295 300

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
 305 310 315 320
 Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr
 325 330 335
 5 Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
 340 345 350
 Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
 355 360 365
 Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
 10 370 375 380
 Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
 385 390 395 400
 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser
 405 410 415
 15 Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
 420 425 430
 Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
 435 440 445
 <210> 82
 20 <211> 218
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> constructo sintético
 25 <400> 82
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Trp Tyr
 20 25 30
 30 Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
 35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
 50 55 60
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 65 70 75 80
 5 Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Ala
 85 90 95
 Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
 100 105 110
 Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
 10 115 120 125
 Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
 130 135 140
 Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
 145 150 155 160
 15 Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
 165 170 175
 Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
 180 185 190
 His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
 20 195 200 205
 Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215
 <210> 83
 <211> 447
 25 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> constructo sintético
 <400> 83
 30 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 5 Gly Gln Ile Phe Pro Ala Leu Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Glu Met Phe
 50 55 60
 Glu Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 10 85 90 95
 Ala Arg Gly Ile Gly Asn Tyr Ala Leu Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 120 125
 15 Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala
 130 135 140
 Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 145 150 155 160
 Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 20 165 170 175
 Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 180 185 190
 Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His
 195 200 205
 25 Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly
 210 215 220
 Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser
 225 230 235 240
 Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
 30 245 250 255
 Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro
 260 265 270

Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
 275 280 285
 Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
 290 295 300
 5 Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
 305 310 315 320
 Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr
 325 330 335
 Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
 10 340 345 350
 Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
 355 360 365
 Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
 370 375 380
 15 Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
 385 390 395 400
 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser
 405 410 415
 Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
 20 420 425 430
 Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
 435 440 445
 <210> 84
 <211> 218
 25 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> constructo sintético
 <400> 84
 30 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Phe Trp
 20 25 30
 Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
 35 40 45
 5 Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
 50 55 60
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 65 70 75 80
 Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Ala
 10 85 90 95
 Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
 100 105 110
 Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
 115 120 125
 15 Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
 130 135 140
 Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
 145 150 155 160
 Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
 20 165 170 175
 Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
 180 185 190
 His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
 195 200 205
 25 Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215
 <210> 85
 <211> 447
 <212> PRT
 30 <213> Artificial
 <220>
 <223> constructo sintético

<400> 85

	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala
	1			5						10					15	
	Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Ser	Tyr
5			20					25						30		
	Trp	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
			35					40						45		
	Gly	Gln	Ile	Phe	Pro	Phe	Ser	Gly	Ser	Thr	Asn	Tyr	Asn	Glu	Met	Phe
		50					55						60			
10	Glu	Gly	Arg	Val	Thr	Met	Thr	Thr	Asp	Thr	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr
	65					70					75				80	
	Met	Glu	Leu	Arg	Ser	Leu	Arg	Ser	Asp	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85						90				95		
	Ala	Arg	Gly	Ile	Gly	Asn	Tyr	Ala	Leu	Asp	Ala	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly
15			100					105						110		
	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser
			115					120						125		
	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala
		130					135						140			
20	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val
	145					150					155				160	
	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala
				165						170				175		
	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val
25			180							185				190		
	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Lys	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His
			195						200					205		
	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly
		210				215						220				
30	Pro	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Phe	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser
	225					230					235				240	

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
 245 250 255
 Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro
 260 265 270
 5 Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
 275 280 285
 Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
 290 295 300
 Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
 10 305 310 315 320
 Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr
 325 330 335
 Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
 340 345 350
 15 Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
 355 360 365
 Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
 370 375 380
 Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
 20 385 390 395 400
 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser
 405 410 415
 Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
 420 425 430
 25 Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
 435 440 445
 <210> 86
 <211> 120
 <212> PRT
 30 <213> Artificial
 <220>
 <223> constructo sintético

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (31)..(32)
 <223> Xaa pode ser qualquer aminoácido de ocorrência natural
 5 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (54)..(55)
 <223> Xaa pode ser qualquer aminoácido de ocorrência natural
 <220>
 10 <221> misc_feature
 <222> (61)..(61)
 <223> Xaa pode ser qualquer aminoácido de ocorrência natural
 <220>
 <221> misc_feature
 15 <222> (64)..(64)
 <223> Xaa pode ser qualquer aminoácido de ocorrência natural
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (99)..(99)
 20 <223> Xaa pode ser qualquer aminoácido de ocorrência natural
 <400> 86
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Xaa Xaa
 25 20 25 30
 Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Gln Ile Phe Pro Xaa Xaa Gly Ser Thr Asn Tyr Xaa Glu Met Xaa
 50 55 60
 30 Glu Gly Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met
 65 70 75 80

Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 Arg Gly Xaa Gly Asn Tyr Ala Leu Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 5 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120
 <210> 87
 <211> 111
 <212> PRT
 10 <213> Artificial
 <220>
 <223> constructo sintético
 <220>
 <221> misc_feature
 15 <222> (31)..(32)
 <223> Xaa pode ser qualquer aminoácido de ocorrência natural
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (54)..(54)
 20 <223> Xaa pode ser qualquer aminoácido de ocorrência natural
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (93)..(93)
 <223> Xaa pode ser qualquer aminoácido de ocorrência natural
 25 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (95)..(96)
 <223> Xaa pode ser qualquer aminoácido de ocorrência natural
 <400> 87
 30 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Xaa Xaa

	20	25	30
	Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro		
	35	40	45
	Lys Leu Leu Ile Tyr Xaa Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser		
5	50	55	60
	Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser		
	65	70	75
	Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Xaa Gln Xaa Xaa		
	85	90	95
10	Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys		
	100	105	110
	<210> 88		
	<211> 15		
	<212> PRT		
15	<213> Artificial		
	<220>		
	<223> constructo sintético		
	<400> 88		
	Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Phe Trp Gly Asn Ser Phe Met His		
20	1	5	10
	<210> 89		
	<211> 7		
	<212> PRT		
	<213> Artificial		
25	<220>		
	<223> constructo sintético		
	<400> 89		
	Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser		
	1	5	
30	<210> 90		
	<211> 9		
	<212> PRT		

<213> Artificial

<220>

<223> constructo sintético

<400> 90

5 Gln Gln Asn Ile Glu Asp Pro Leu Thr

1 5

<210> 91

<211> 15

<212> PRT

10 <213> Artificial

<220>

<223> constructo sintético

<400> 91

Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Trp Trp Gly Asn Ser Phe Met His

15 1 5 10 15

<210> 92

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial

20 <220>

<223> constructo sintético

<400> 92

Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Phe Tyr Gly Asn Ser Phe Met His

1 5 10 15

25 <210> 93

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

30 <223> constructo sintético

<400> 93

Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Trp Tyr Gly Asn Ser Phe Met His

	1	5	10	15
	<210>	94		
	<211>	7		
	<212>	PRT		
5	<213>	Artificial		
	<220>			
	<223>	constructo sintético		
	<400>	94		
	Tyr Ala Ser Asn Leu Glu Ser			
10	1	5		
	<210>	95		
	<211>	9		
	<212>	PRT		
	<213>	Artificial		
15	<220>			
	<223>	constructo sintético		
	<400>	95		
	Gln Gln Asn Ala Glu Asp Pro Leu Thr			
	1	5		
20	<210>	96		
	<211>	5		
	<212>	PRT		
	<213>	Artificial		
	<220>			
25	<223>	constructo sintético		
	<400>	96		
	Ser Tyr Trp Met Asn			
	1	5		
	<210>	97		
30	<211>	17		
	<212>	PRT		
	<213>	Artificial		

<220>

<223> constructo sintético

<400> 97

Gln Ile Phe Pro Ala Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Gly Glu Met Phe Glu

5

1

5

10

15

Gly

<210> 98

<211> 12

10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> constructo sintético

<400> 98

15

Gly Ile Gly Asn Tyr Ala Leu Asp Ala Met Asp Tyr

1

5

10

<210> 99

<211> 17

<212> PRT

20

<213> Artificial

<220>

<223> constructo sintético

<400> 99

Gln Ile Phe Pro Ala Leu Gly Ser Thr Asn Tyr Gly Glu Met Phe Glu

25

1

5

10

15

Gly

<210> 100

<211> 5

30

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> constructo sintético

<400> 100

Ser Glu Trp Met Asn

1 5

5 <210> 101

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

10 <223> constructo sintético

<400> 101

Gln Ile Phe Pro Ala Leu Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Glu Met Tyr Glu

1 5 10 15

Gly

15

<210> 102

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

20 <220>

<223> constructo sintético

<400> 102

Gln Ile Phe Pro Phe Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Glu Met Phe Glu

1 5 10 15

25 Gly

<210> 103

<211> 363

<212> PRT

30 <213> Artificial

<220>

<223> constructo sintético

<400> 103

Cys Ala Gly Gly Thr Thr Cys Ala Gly Cys Thr Gly Gly Thr Gly Cys
 1 5 10 15
 Ala Gly Thr Cys Thr Gly Gly Thr Gly Cys Thr Gly Ala Gly Gly Thr
 5 20 25 30
 Gly Ala Ala Gly Ala Ala Gly Cys Cys Thr Gly Gly Thr Gly Cys Cys
 35 40 45
 Thr Cys Ala Gly Thr Gly Ala Ala Gly Gly Thr Cys Thr Cys Cys Thr
 50 55 60
 10 Gly Cys Ala Ala Gly Gly Cys Thr Thr Cys Thr Gly Gly Thr Thr Ala
 65 70 75 80
 Cys Ala Cys Cys Thr Thr Thr Ala Cys Cys Thr Cys Cys Thr Ala Cys
 85 90 95
 Thr Gly Gly Ala Thr Gly Ala Ala Cys Thr Gly Gly Gly Thr Gly Cys
 15 100 105 110
 Gly Thr Cys Ala Gly Gly Cys Cys Cys Cys Thr Gly Gly Thr Cys Ala
 115 120 125
 Ala Gly Gly Thr Cys Thr Thr Gly Ala Gly Thr Gly Gly Ala Thr Gly
 130 135 140
 20 Gly Gly Thr Cys Ala Gly Ala Thr Thr Thr Thr Cys Cys Thr Gly
 145 150 155 160
 Cys Ala Ala Gly Thr Gly Gly Thr Ala Gly Thr Ala Cys Thr Ala Ala
 165 170 175
 Cys Thr Ala Cys Gly Gly Gly Gly Ala Gly Ala Thr Gly Thr Thr Cys
 25 180 185 190
 Gly Ala Gly Gly Gly Cys Cys Gly Thr Gly Thr Cys Ala Cys Cys Ala
 195 200 205
 Thr Gly Ala Cys Cys Ala Cys Ala Gly Ala Cys Ala Cys Ala Thr Cys
 210 215 220
 30 Cys Ala Cys Gly Ala Gly Cys Ala Cys Ala Gly Cys Cys Thr Ala Cys
 225 230 235 240
 Ala Thr Gly Gly Ala Gly Cys Thr Gly Cys Gly Thr Ala Gly Cys Cys

245 250 255
 Thr Gly Cys Gly Thr Thr Cys Thr Gly Ala Cys Gly Ala Cys Ala Cys
 260 265 270
 Gly Gly Cys Cys Gly Thr Gly Thr Ala Thr Thr Ala Cys Thr Gly Thr
 5 275 280 285
 Gly Cys Gly Cys Gly Thr Gly Gly Ala Ala Thr Ala Gly Gly Thr Ala
 290 295 300
 Ala Cys Thr Ala Cys Gly Cys Cys Cys Thr Gly Gly Ala Thr Gly Cys
 305 310 315 320
 10 Thr Ala Thr Gly Gly Ala Cys Thr Ala Cys Thr Gly Gly Gly Gly Cys
 325 330 335
 Cys Ala Gly Gly Gly Cys Ala Cys Cys Cys Thr Gly Gly Thr Cys Ala
 340 345 350
 Cys Cys Gly Thr Cys Thr Cys Cys Thr Cys Cys
 15 355 360
 <210> 104
 <211> 333
 <212> PRT
 <213> Artificial
 20 <220>
 <223> constructo sintético
 <400> 104
 Gly Ala Cys Ala Thr Cys Cys Ala Gly Ala Thr Gly Ala Cys Cys Cys
 1 5 10 15
 25 Ala Gly Thr Cys Thr Cys Cys Ala Thr Cys Cys Thr Cys Cys Cys Thr
 20 25 30
 Gly Thr Cys Thr Gly Cys Ala Thr Cys Thr Gly Thr Ala Gly Gly Ala
 35 40 45
 Gly Ala Cys Ala Gly Ala Gly Thr Cys Ala Cys Cys Ala Thr Cys Ala
 30 50 55 60
 Cys Thr Thr Gly Cys Cys Gly Gly Gly Cys Ala Ala Gly Thr Gly Ala
 65 70 75 80

Ala Ala Gly Thr Gly Thr Thr Gly Ala Thr Thr Thr Cys Thr Gly Gly
 85 90 95
 Gly Gly Cys Ala Ala Thr Ala Gly Thr Thr Thr Thr Ala Thr Gly Cys
 100 105 110
 5 Ala Cys Thr Gly Gly Thr Ala Thr Cys Ala Gly Cys Ala Gly Ala Ala
 115 120 125
 Ala Cys Cys Ala Gly Gly Gly Ala Ala Ala Gly Cys Cys Cys Cys Thr
 130 135 140
 Ala Ala Gly Cys Thr Cys Cys Thr Gly Ala Thr Cys Thr Ala Thr Cys
 10 145 150 155 160
 Thr Thr Gly Cys Ala Thr Cys Cys Ala Ala Cys Cys Thr Ala Gly Ala
 165 170 175
 Ala Thr Cys Thr Gly Gly Ala Gly Thr Cys Cys Cys Ala Thr Cys Ala
 180 185 190
 15 Ala Gly Gly Thr Thr Cys Ala Gly Thr Gly Gly Cys Ala Gly Thr Gly
 195 200 205
 Gly Ala Thr Cys Thr Gly Gly Gly Ala Cys Ala Gly Ala Thr Thr Thr
 210 215 220
 Cys Ala Cys Thr Cys Thr Cys Ala Cys Cys Ala Thr Cys Ala Gly Cys
 20 225 230 235 240
 Ala Gly Thr Cys Thr Gly Cys Ala Ala Cys Cys Thr Gly Ala Ala Gly
 245 250 255
 Ala Thr Thr Thr Thr Gly Cys Ala Ala Cys Thr Thr Ala Cys Thr Ala
 260 265 270
 25 Cys Thr Gly Thr Cys Ala Gly Cys Ala Ala Ala Ala Thr Ala Thr Ala
 275 280 285
 Gly Ala Gly Gly Ala Thr Cys Cys Gly Cys Thr Cys Ala Cys Gly Thr
 290 295 300
 Thr Cys Gly Gly Cys Gly Gly Ala Gly Gly Gly Ala Cys Cys Ala Ala
 30 305 310 315 320
 Gly Gly Thr Gly Gly Ala Gly Ala Thr Cys Ala Ala Ala
 325 330

<210> 105

<211> 363

<212> PRT

<213> Artificial

5 <220>

<223> constructo sintético

<400> 105

Cys Ala Gly Gly Thr Thr Cys Ala Gly Cys Thr Gly Gly Thr Gly Cys

1 5 10 15

10 Ala Gly Thr Cys Thr Gly Gly Thr Gly Cys Thr Gly Ala Gly Gly Thr

20 25 30

Gly Ala Ala Gly Ala Ala Gly Cys Cys Thr Gly Gly Thr Gly Cys Cys

35 40 45

Thr Cys Ala Gly Thr Gly Ala Ala Gly Gly Thr Cys Thr Cys Cys Thr

15 50 55 60

Gly Cys Ala Ala Gly Gly Cys Thr Thr Cys Thr Gly Gly Thr Thr Ala

65 70 75 80

Cys Ala Cys Cys Thr Thr Thr Ala Cys Cys Thr Cys Cys Thr Ala Cys

85 90 95

20 Thr Gly Gly Ala Thr Gly Ala Ala Cys Thr Gly Gly Gly Thr Gly Cys

100 105 110

Gly Thr Cys Ala Gly Gly Cys Cys Cys Cys Thr Gly Gly Thr Cys Ala

115 120 125

Ala Gly Gly Thr Cys Thr Thr Gly Ala Gly Thr Gly Gly Ala Thr Gly

25 130 135 140

Gly Gly Thr Cys Ala Gly Ala Thr Thr Thr Thr Thr Cys Cys Thr Gly

145 150 155 160

Cys Ala Thr Thr Gly Gly Gly Thr Ala Gly Thr Ala Cys Thr Ala Ala

165 170 175

30 Cys Thr Ala Cys Gly Gly Gly Gly Ala Gly Ala Thr Gly Thr Thr Cys

180 185 190

Gly Ala Gly Gly Gly Cys Cys Gly Thr Gly Thr Cys Ala Cys Cys Ala

195 200 205
 Thr Gly Ala Cys Cys Ala Cys Ala Gly Ala Cys Ala Cys Ala Thr Cys
 210 215 220
 Cys Ala Cys Gly Ala Gly Cys Ala Cys Ala Gly Cys Cys Thr Ala Cys
 5 225 230 235 240
 Ala Thr Gly Gly Ala Gly Cys Thr Gly Cys Gly Thr Ala Gly Cys Cys
 245 250 255
 Thr Gly Cys Gly Thr Thr Cys Thr Gly Ala Cys Gly Ala Cys Ala Cys
 260 265 270
 10 Gly Gly Cys Cys Gly Thr Gly Thr Ala Thr Thr Ala Cys Thr Gly Thr
 275 280 285
 Gly Cys Gly Cys Gly Thr Gly Gly Ala Ala Thr Ala Gly Gly Thr Ala
 290 295 300
 Ala Cys Thr Ala Cys Gly Cys Cys Cys Thr Gly Gly Ala Thr Gly Cys
 15 305 310 315 320
 Thr Ala Thr Gly Gly Ala Cys Thr Ala Cys Thr Gly Gly Gly Gly Cys
 325 330 335
 Cys Ala Gly Gly Gly Cys Ala Cys Cys Cys Thr Gly Gly Thr Cys Ala
 340 345 350
 20 cys cys Gly Thr cys Thr cys cys Thr cys cys
 355 360
 <210> 106
 <211> 333
 <212> PRT
 25 <213> Artificial
 <220>
 <223> constructo sintético
 <400> 106
 Gly Ala Cys Ala Thr Cys Cys Ala Gly Ala Thr Gly Ala Cys Cys Cys
 30 1 5 10 15
 Ala Gly Thr Cys Thr Cys Cys Ala Thr Cys Cys Thr Cys Cys Cys Thr
 20 25 30

Gly Thr Cys Thr Gly Cys Ala Thr Cys Thr Gly Thr Ala Gly Gly Ala
 35 40 45
 Gly Ala Cys Ala Gly Ala Gly Thr Cys Ala Cys Cys Ala Thr Cys Ala
 50 55 60
 5 Cys Thr Thr Gly Cys Cys Gly Gly Gly Cys Ala Ala Gly Thr Gly Ala
 65 70 75 80
 Ala Ala Gly Thr Gly Thr Thr Gly Ala Thr Thr Gly Gly Thr Gly Gly
 85 90 95
 Gly Gly Cys Ala Ala Thr Ala Gly Thr Thr Thr Thr Ala Thr Gly Cys
 10 100 105 110
 Ala Cys Thr Gly Gly Thr Ala Thr Cys Ala Gly Cys Ala Gly Ala Ala
 115 120 125
 Ala Cys Cys Ala Gly Gly Gly Ala Ala Ala Gly Cys Cys Cys Cys Thr
 130 135 140
 15 Ala Ala Gly Cys Thr Cys Cys Thr Gly Ala Thr Cys Thr Ala Thr Cys
 145 150 155 160
 Thr Thr Gly Cys Ala Thr Cys Cys Ala Ala Cys Cys Thr Ala Gly Ala
 165 170 175
 Ala Thr Cys Thr Gly Gly Ala Gly Thr Cys Cys Cys Ala Thr Cys Ala
 20 180 185 190
 Ala Gly Gly Thr Thr Cys Ala Gly Thr Gly Gly Cys Ala Gly Thr Gly
 195 200 205
 Gly Ala Thr Cys Thr Gly Gly Gly Ala Cys Ala Gly Ala Thr Thr Thr
 210 215 220
 25 Cys Ala Cys Thr Cys Thr Cys Ala Cys Cys Ala Thr Cys Ala Gly Cys
 225 230 235 240
 Ala Gly Thr Cys Thr Gly Cys Ala Ala Cys Cys Thr Gly Ala Ala Gly
 245 250 255
 Ala Thr Thr Thr Thr Gly Cys Ala Ala Cys Thr Thr Ala Cys Thr Ala
 30 260 265 270
 Cys Thr Gly Thr Cys Ala Gly Cys Ala Ala Ala Ala Thr Ala Thr Ala
 275 280 285

Gly Ala Gly Gly Ala Thr Cys Cys Gly Cys Thr Cys Ala Cys Gly Thr
 290 295 300
 Thr Cys Gly Gly Cys Gly Gly Ala Gly Gly Gly Ala Cys Cys Ala Ala
 305 310 315 320
 5 Gly Gly Thr Gly Gly Ala Gly Ala Thr Cys Ala Ala Ala
 325 330
 <210> 107
 <211> 363
 <212> PRT
 10 <213> Artificial
 <220>
 <223> constructo sintético
 <400> 107
 Cys Ala Gly Gly Thr Thr Cys Ala Gly Cys Thr Gly Gly Thr Gly Cys
 15 1 5 10 15
 Ala Gly Thr Cys Thr Gly Gly Thr Gly Cys Thr Gly Ala Gly Gly Thr
 20 20 25 30
 Gly Ala Ala Gly Ala Ala Gly Cys Cys Thr Gly Gly Thr Gly Cys Cys
 35 40 45
 20 Thr Cys Ala Gly Thr Gly Ala Ala Gly Gly Thr Cys Thr Cys Cys Thr
 50 55 60
 Gly Cys Ala Ala Gly Gly Cys Thr Thr Cys Thr Gly Gly Thr Thr Ala
 65 70 75 80
 Cys Ala Cys Cys Thr Thr Thr Ala Cys Cys Thr Cys Cys Gly Ala Gly
 25 85 90 95
 Thr Gly Gly Ala Thr Gly Ala Ala Cys Thr Gly Gly Gly Thr Gly Cys
 100 105 110
 Gly Thr Cys Ala Gly Gly Cys Cys Cys Cys Thr Gly Gly Thr Cys Ala
 115 120 125
 30 Ala Gly Gly Thr Cys Thr Thr Gly Ala Gly Thr Gly Gly Ala Thr Gly
 130 135 140
 Gly Gly Thr Cys Ala Gly Ala Thr Thr Thr Thr Thr Cys Cys Thr Gly

145 150 155 160
 Cys Ala Thr Thr Gly Gly Gly Thr Ala Gly Thr Ala Cys Thr Ala Ala
 165 170 175
 Cys Thr Ala Cys Ala Ala Thr Gly Ala Gly Ala Thr Gly Thr Ala Cys
 5 180 185 190
 Gly Ala Gly Gly Gly Cys Cys Gly Thr Gly Thr Cys Ala Cys Cys Ala
 195 200 205
 Thr Gly Ala Cys Cys Ala Cys Ala Gly Ala Cys Ala Cys Ala Thr Cys
 210 215 220
 10 Cys Ala Cys Gly Ala Gly Cys Ala Cys Ala Gly Cys Cys Thr Ala Cys
 225 230 235 240
 Ala Thr Gly Gly Ala Gly Cys Thr Gly Cys Gly Thr Ala Gly Cys Cys
 245 250 255
 Thr Gly Cys Gly Thr Thr Cys Thr Gly Ala Cys Gly Ala Cys Ala Cys
 15 260 265 270
 Gly Gly Cys Cys Gly Thr Gly Thr Ala Thr Thr Ala Cys Thr Gly Thr
 275 280 285
 Gly Cys Gly Cys Gly Thr Gly Gly Ala Ala Thr Ala Gly Gly Thr Ala
 290 295 300
 20 Ala Cys Thr Ala Cys Gly Cys Cys Cys Thr Gly Gly Ala Thr Gly Cys
 305 310 315 320
 Thr Ala Thr Gly Gly Ala Cys Thr Ala Cys Thr Gly Gly Gly Gly Cys
 325 330 335
 Cys Ala Gly Gly Gly Cys Ala Cys Cys Cys Thr Gly Gly Thr Cys Ala
 25 340 345 350
 Cys Cys Gly Thr Cys Thr Cys Cys Thr Cys Cys
 355 360
 <210> 108
 <211> 333
 30 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>

<223> constructo sintético

<400> 108

	Gly	Ala	Cys	Ala	Thr	Cys	Cys	Ala	Gly	Ala	Thr	Gly	Ala	Cys	Cys	Cys
	1				5					10					15	
5	Ala	Gly	Thr	Cys	Thr	Cys	Cys	Ala	Thr	Cys	Cys	Thr	Cys	Cys	Cys	Thr
				20					25					30		
	Gly	Thr	Cys	Thr	Gly	Cys	Ala	Thr	Cys	Thr	Gly	Thr	Ala	Gly	Gly	Ala
				35				40					45			
	Gly	Ala	Cys	Ala	Gly	Ala	Gly	Thr	Cys	Ala	Cys	Cys	Ala	Thr	Cys	Ala
10		50					55					60				
	Cys	Thr	Thr	Gly	Cys	Cys	Gly	Gly	Gly	Cys	Ala	Ala	Gly	Thr	Gly	Ala
	65				70					75					80	
	Ala	Ala	Gly	Thr	Gly	Thr	Thr	Gly	Ala	Thr	Thr	Thr	Cys	Thr	Ala	Thr
				85					90					95		
15	Gly	Gly	Cys	Ala	Ala	Thr	Ala	Gly	Thr	Thr	Thr	Thr	Ala	Thr	Gly	Cys
				100					105					110		
	Ala	Cys	Thr	Gly	Gly	Thr	Ala	Thr	Cys	Ala	Gly	Cys	Ala	Gly	Ala	Ala
				115				120					125			
	Ala	Cys	Cys	Ala	Gly	Gly	Gly	Ala	Ala	Ala	Gly	Cys	Cys	Cys	Cys	Thr
20		130					135					140				
	Ala	Ala	Gly	Cys	Thr	Cys	Cys	Thr	Gly	Ala	Thr	Cys	Thr	Ala	Thr	Cys
	145				150					155				160		
	Thr	Thr	Gly	Cys	Ala	Thr	Cys	Cys	Ala	Ala	Cys	Cys	Thr	Ala	Gly	Ala
				165					170				175			
25	Ala	Thr	Cys	Thr	Gly	Gly	Ala	Gly	Thr	Cys	Cys	Cys	Ala	Thr	Cys	Ala
				180					185				190			
	Ala	Gly	Gly	Thr	Thr	Cys	Ala	Gly	Thr	Gly	Gly	Cys	Ala	Gly	Thr	Gly
				195				200				205				
	Gly	Ala	Thr	Cys	Thr	Gly	Gly	Gly	Ala	Cys	Ala	Gly	Ala	Thr	Thr	Thr
30		210					215					220				
	Cys	Ala	Cys	Thr	Cys	Thr	Cys	Ala	Cys	Cys	Ala	Thr	Cys	Ala	Gly	Cys
	225				230						235				240	

Ala Gly Thr Cys Thr Gly Cys Ala Ala Cys Cys Thr Gly Ala Ala Gly
245 250 255
Ala Thr Thr Thr Thr Gly Cys Ala Ala Cys Thr Thr Ala Cys Thr Ala
260 265 270
5 Cys Thr Gly Thr Cys Ala Gly Cys Ala Ala Ala Ala Thr Ala Thr Ala
275 280 285
Gly Ala Gly Gly Ala Thr Cys Cys Gly Cys Thr Cys Ala Cys Gly Thr
290 295 300
Thr Cys Gly Gly Cys Gly Gly Ala Gly Gly Gly Ala Cys Cys Ala Ala
10 305 310 315 320
Gly Gly Thr Gly Gly Ala Gly Ala Thr Cys Ala Ala Ala
325 330
<210> 109
<211> 363
15 <212> PRT
<213> Artificial
<220>
<223> constructo sintético
<400> 109
20 Cys Ala Gly Gly Thr Thr Cys Ala Gly Cys Thr Gly Gly Thr Gly Cys
1 5 10 15
Ala Gly Thr Cys Thr Gly Gly Thr Gly Cys Thr Gly Ala Gly Gly Thr
20 25 30
Gly Ala Ala Gly Ala Ala Gly Cys Cys Thr Gly Gly Thr Gly Cys Cys
25 35 40 45
Thr Cys Ala Gly Thr Gly Ala Ala Gly Gly Thr Cys Thr Cys Cys Thr
50 55 60
Gly Cys Ala Ala Gly Gly Cys Thr Thr Cys Thr Gly Gly Thr Thr Ala
65 70 75 80
30 Cys Ala Cys Cys Thr Thr Thr Ala Cys Cys Thr Cys Cys Thr Ala Cys
85 90 95
Thr Gly Gly Ala Thr Gly Ala Ala Cys Thr Gly Gly Gly Thr Gly Cys

	100	105	110
	Gly Thr Cys Ala Gly Gly Cys Cys Cys Cys Thr Gly Gly Thr Cys Ala		
	115	120	125
	Ala Gly Gly Thr Cys Thr Thr Gly Ala Gly Thr Gly Gly Ala Thr Gly		
5	130	135	140
	Gly Gly Thr Cys Ala Gly Ala Thr Thr Thr Thr Thr Cys Cys Thr Gly		
	145	150	155
	Cys Ala Thr Thr Gly Gly Gly Thr Ala Gly Thr Ala Cys Thr Ala Ala		
	165	170	175
10	Cys Thr Ala Cys Ala Ala Thr Gly Ala Gly Ala Thr Gly Thr Thr Cys		
	180	185	190
	Gly Ala Gly Gly Gly Cys Cys Gly Thr Gly Thr Cys Ala Cys Cys Ala		
	195	200	205
	Thr Gly Ala Cys Cys Ala Cys Ala Gly Ala Cys Ala Cys Ala Thr Cys		
15	210	215	220
	Cys Ala Cys Gly Ala Gly Cys Ala Cys Ala Gly Cys Cys Thr Ala Cys		
	225	230	235
	Ala Thr Gly Gly Ala Gly Cys Thr Gly Cys Gly Thr Ala Gly Cys Cys		
	245	250	255
20	Thr Gly Cys Gly Thr Thr Cys Thr Gly Ala Cys Gly Ala Cys Ala Cys		
	260	265	270
	Gly Gly Cys Cys Gly Thr Gly Thr Ala Thr Thr Ala Cys Thr Gly Thr		
	275	280	285
	Gly Cys Gly Cys Gly Thr Gly Gly Ala Ala Thr Ala Gly Gly Thr Ala		
25	290	295	300
	Ala Cys Thr Ala Cys Gly Cys Cys Cys Thr Gly Gly Ala Thr Gly Cys		
	305	310	315
	Thr Ala Thr Gly Gly Ala Cys Thr Ala Cys Thr Gly Gly Gly Gly Cys		
	325	330	335
30	Cys Ala Gly Gly Gly Cys Ala Cys Cys Cys Thr Gly Gly Thr Cys Ala		
	340	345	350
	Cys Cys Gly Thr Cys Thr Cys Cys Thr Cys Cys		

355 360
 <210> 110
 <211> 333
 <212> PRT
 5 <213> Artificial
 <220>
 <223> constructo sintético
 <400> 110
 Gly Ala Cys Ala Thr Cys Cys Ala Gly Ala Thr Gly Ala Cys Cys Cys
 10 1 5 10 15
 Ala Gly Thr Cys Thr Cys Cys Ala Thr Cys Cys Thr Cys Cys Cys Thr
 20 25 30
 Gly Thr Cys Thr Gly Cys Ala Thr Cys Thr Gly Thr Ala Gly Gly Ala
 35 40 45
 15 Gly Ala Cys Ala Gly Ala Gly Thr Cys Ala Cys Cys Ala Thr Cys Ala
 50 55 60
 Cys Thr Thr Gly Cys Cys Gly Gly Gly Cys Ala Ala Gly Thr Gly Ala
 65 70 75 80
 Ala Ala Gly Thr Gly Thr Thr Gly Ala Thr Thr Gly Gly Thr Ala Thr
 20 85 90 95
 Gly Gly Cys Ala Ala Thr Ala Gly Thr Thr Thr Thr Ala Thr Gly Cys
 100 105 110
 Ala Cys Thr Gly Gly Thr Ala Thr Cys Ala Gly Cys Ala Gly Ala Ala
 115 120 125
 25 Ala Cys Cys Ala Gly Gly Gly Ala Ala Ala Gly Cys Cys Cys Cys Thr
 130 135 140
 Ala Ala Gly Cys Thr Cys Cys Thr Gly Ala Thr Cys Thr Ala Thr Thr
 145 150 155 160
 Ala Cys Gly Cys Ala Thr Cys Cys Ala Ala Cys Cys Thr Ala Gly Ala
 30 165 170 175
 Ala Thr Cys Thr Gly Gly Ala Gly Thr Cys Cys Cys Ala Thr Cys Ala
 180 185 190

Ala Gly Gly Thr Thr Cys Ala Gly Thr Gly Gly Cys Ala Gly Thr Gly
 195 200 205
 Gly Ala Thr Cys Thr Gly Gly Gly Ala Cys Ala Gly Ala Thr Thr Thr
 210 215 220
 5 Cys Ala Cys Thr Cys Thr Cys Ala Cys Cys Ala Thr Cys Ala Gly Cys
 225 230 235 240
 Ala Gly Thr Cys Thr Gly Cys Ala Ala Cys Cys Thr Gly Ala Ala Gly
 245 250 255
 Ala Thr Thr Thr Thr Gly Cys Ala Ala Cys Thr Thr Ala Cys Thr Ala
 10 260 265 270
 Cys Thr Gly Thr Cys Ala Gly Cys Ala Ala Ala Ala Thr Gly Cys Cys
 275 280 285
 Gly Ala Gly Gly Ala Thr Cys Cys Gly Cys Thr Cys Ala Cys Gly Thr
 290 295 300
 15 Thr Cys Gly Gly Cys Gly Gly Ala Gly Gly Gly Ala Cys Cys Ala Ala
 305 310 315 320
 Gly Gly Thr Gly Gly Ala Gly Ala Thr Cys Ala Ala Ala
 325 330
 <210> 111
 20 <211> 363
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> constructo sintético
 25 <400> 111
 Cys Ala Gly Gly Thr Thr Cys Ala Gly Cys Thr Gly Gly Thr Gly Cys
 1 5 10 15
 Ala Gly Thr Cys Thr Gly Gly Thr Gly Cys Thr Gly Ala Gly Gly Thr
 20 25 30
 30 Gly Ala Ala Gly Ala Ala Gly Cys Cys Thr Gly Gly Thr Gly Cys Cys
 35 40 45
 Thr Cys Ala Gly Thr Gly Ala Ala Gly Gly Thr Cys Thr Cys Cys Thr

50 55 60
 Gly Cys Ala Ala Gly Gly Cys Thr Thr Cys Thr Gly Gly Thr Thr Ala
 65 70 75 80
 Cys Ala Cys Cys Thr Thr Thr Ala Cys Cys Thr Cys Cys Thr Ala Cys
 5 85 90 95
 Thr Gly Gly Ala Thr Gly Ala Ala Cys Thr Gly Gly Gly Thr Gly Cys
 100 105 110
 Gly Thr Cys Ala Gly Gly Cys Cys Cys Cys Thr Gly Gly Thr Cys Ala
 115 120 125
 10 Ala Gly Gly Thr Cys Thr Thr Gly Ala Gly Thr Gly Gly Ala Thr Gly
 130 135 140
 Gly Gly Thr Cys Ala Gly Ala Thr Thr Thr Thr Thr Cys Cys Thr Thr
 145 150 155 160
 Thr Thr Ala Gly Thr Gly Gly Thr Ala Gly Thr Ala Cys Thr Ala Ala
 15 165 170 175
 Cys Thr Ala Cys Ala Ala Thr Gly Ala Gly Ala Thr Gly Thr Thr Cys
 180 185 190
 Gly Ala Gly Gly Gly Cys Cys Gly Thr Gly Thr Cys Ala Cys Cys Ala
 195 200 205
 20 Thr Gly Ala Cys Cys Ala Cys Ala Gly Ala Cys Ala Cys Ala Thr Cys
 210 215 220
 Cys Ala Cys Gly Ala Gly Cys Ala Cys Ala Gly Cys Cys Thr Ala Cys
 225 230 235 240
 Ala Thr Gly Gly Ala Gly Cys Thr Gly Cys Gly Thr Ala Gly Cys Cys
 25 245 250 255
 Thr Gly Cys Gly Thr Thr Cys Thr Gly Ala Cys Gly Ala Cys Ala Cys
 260 265 270
 Gly Gly Cys Cys Gly Thr Gly Thr Ala Thr Thr Ala Cys Thr Gly Thr
 275 280 285
 30 Gly Cys Gly Cys Gly Thr Gly Gly Ala Ala Thr Ala Gly Gly Thr Ala
 290 295 300
 Ala Cys Thr Ala Cys Gly Cys Cys Cys Thr Gly Gly Ala Thr Gly Cys

305 310 315 320
 Thr Ala Thr Gly Gly Ala Cys Thr Ala Cys Thr Gly Gly Gly Gly Cys
 325 330 335
 Cys Ala Gly Gly Gly Cys Ala Cys Cys Cys Thr Gly Gly Thr Cys Ala
 5 340 345 350
 Cys Cys Gly Thr Cys Thr Cys Cys Thr Cys Cys
 355 360
 <210> 112
 <211> 333
 10 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> constructo sintético
 <400> 112
 15 Gly Ala Cys Ala Thr Cys Cys Ala Gly Ala Thr Gly Ala Cys Cys Cys
 1 5 10 15
 Ala Gly Thr Cys Thr Cys Cys Ala Thr Cys Cys Thr Cys Cys Cys Thr
 20 25 30
 Gly Thr Cys Thr Gly Cys Ala Thr Cys Thr Gly Thr Ala Gly Gly Ala
 20 35 40 45
 Gly Ala Cys Ala Gly Ala Gly Thr Cys Ala Cys Cys Ala Thr Cys Ala
 50 55 60
 Cys Thr Thr Gly Cys Cys Gly Gly Gly Cys Ala Ala Gly Thr Gly Ala
 65 70 75 80
 25 Ala Ala Gly Thr Gly Thr Thr Gly Ala Thr Thr Thr Cys Thr Gly Gly
 85 90 95
 Gly Gly Cys Ala Ala Thr Ala Gly Thr Thr Thr Thr Ala Thr Gly Cys
 100 105 110
 Ala Cys Thr Gly Gly Thr Ala Thr Cys Ala Gly Cys Ala Gly Ala Ala
 30 115 120 125
 Ala Cys Cys Ala Gly Gly Gly Ala Ala Ala Gly Cys Cys Cys Cys Thr
 130 135 140

Ala Ala Gly Cys Thr Cys Cys Thr Gly Ala Thr Cys Thr Ala Thr Cys
 145 150 155 160
 Thr Thr Gly Cys Ala Thr Cys Cys Ala Ala Cys Cys Thr Ala Gly Ala
 165 170 175
 5 Ala Thr Cys Thr Gly Gly Ala Gly Thr Cys Cys Cys Ala Thr Cys Ala
 180 185 190
 Ala Gly Gly Thr Thr Cys Ala Gly Thr Gly Gly Cys Ala Gly Thr Gly
 195 200 205
 Gly Ala Thr Cys Thr Gly Gly Gly Ala Cys Ala Gly Ala Thr Thr Thr
 10 210 215 220
 Cys Ala Cys Thr Cys Thr Cys Ala Cys Cys Ala Thr Cys Ala Gly Cys
 225 230 235 240
 Ala Gly Thr Cys Thr Gly Cys Ala Ala Cys Cys Thr Gly Ala Ala Gly
 245 250 255
 15 Ala Thr Thr Thr Thr Gly Cys Ala Ala Cys Thr Thr Ala Cys Thr Ala
 260 265 270
 Cys Thr Gly Thr Cys Ala Gly Cys Ala Ala Ala Ala Thr Gly Cys Cys
 275 280 285
 Gly Ala Gly Gly Ala Thr Cys Cys Gly Cys Thr Cys Ala Cys Gly Thr
 20 290 295 300
 Thr Cys Gly Gly Cys Gly Gly Ala Gly Gly Gly Ala Cys Cys Ala Ala
 305 310 315 320
 Gly Gly Thr Gly Gly Ala Gly Ala Thr Cys Ala Ala Ala
 325 330

REIVINDICAÇÕES

1. Anticorpo monoclonal, ou um fragmento de ligação a antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que neutraliza TGF- β 1 maduro humano, TGF- β 2 maduro humano, e TGF- β 3 maduro humano, e que tem
5 um K_d de $4,0 \times 10^{-12}$ M ou menos para TGF- β 1 maduro humano, e um K_d de $8,0 \times 10^{-12}$ M ou menos para TGF- β 2 maduro humano, e um K_d de $4,0 \times 10^{-12}$ M ou menos para TGF- β 3 maduro humano.

2. Anticorpo monoclonal anti-TGF- β ou um fragmento de ligação a antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que neutraliza TGF- β 1
10 maduro humano, TGF- β 2 maduro humano, e TGF- β 3 maduro humano, que tem um IC_{50} de menos que ou igual a cerca de 100 pM para TGF- β 1 maduro humano, e um IC_{50} de menos do que ou igual a cerca de 400 pM para TGF- β 2 maduro humano, e um IC_{50} de menos do que ou igual a cerca de 200 pM para TGF- β 3 maduro humano em um ensaio de neutralização de célula HT-
15 2 *in vitro*.

3. Anticorpo monoclonal ou um fragmento de ligação a antígeno do mesmo de acordo com a reivindicação 1 ou 2, caracterizado pelo fato de que compreende uma região variável de cadeia pesada (HCVR) e uma região variável de cadeia leve (LCVR), em que as ditas HCVR e LCVR com-
20 preendem regiões determinantes da complementaridade (CDRs) que são selecionadas do grupo que consiste em:

a) HCVR CDR1 tendo uma sequência de aminoácidos conforme SEQ. ID NO: 96,

HCVR CDR2 tendo uma sequência de aminoácidos conforme
25 SEQ. ID NO: 97,

HCVR CDR3 tendo uma sequência de aminoácidos conforme
SEQ. ID NO: 98,

LCVR CDR1 tendo uma sequência de aminoácidos conforme
SEQ. ID NO: 88,

30 LCVR CDR2 tendo uma sequência de aminoácidos conforme
SEQ. ID NO: 89,

LCVR CDR3 tendo uma sequência de aminoácidos conforme

SEQ. ID NO: 90;

b) HCVR CDR1 tendo uma sequência de aminoácidos conforme SEQ. ID NO: 96,

HCVR CDR2 tendo uma sequência de aminoácidos conforme
5 SEQ. ID NO: 99,

HCVR CDR3 tendo uma sequência de aminoácidos conforme
SEQ. ID NO: 98,

LCVR CDR1 tendo uma sequência de aminoácidos conforme
SEQ. ID NO: 91,

10 LCVR CDR2 tendo uma sequência de aminoácidos conforme
SEQ. ID NO: 89,

LCVR CDR3 tendo uma sequência de aminoácidos conforme
SEQ. ID NO: 90;

c) HCVR CDR1 tendo uma sequência de aminoácidos con-
15 forme SEQ. ID NO: 100,

HCVR CDR2 tendo uma sequência de aminoácidos conforme
SEQ. ID NO: 101,

HCVR CDR3 tendo uma sequência de aminoácidos conforme
SEQ. ID NO: 98,

20 LCVR CDR1 tendo uma sequência de aminoácidos conforme
SEQ. ID NO: 92,

LCVR CDR2 tendo uma sequência de aminoácidos conforme
SEQ. ID NO: 89,

LCVR CDR3 tendo uma sequência de aminoácidos conforme
25 SEQ. ID NO: 90;

d) HCVR CDR1 tendo uma sequência de aminoácidos con-
forme SEQ. ID NO: 96,

HCVR CDR2 tendo uma sequência de aminoácidos conforme
SEQ. ID NO: 101,

30 HCVR CDR3 tendo uma sequência de aminoácidos conforme
SEQ. ID NO: 98,

LCVR CDR1 tendo uma sequência de aminoácidos conforme

SEQ. ID NO: 93,

LCVR CDR2 tendo uma sequência de aminoácidos conforme

SEQ. ID NO: 94,

LCVR CDR3 tendo uma sequência de aminoácidos conforme

5 SEQ. ID NO: 95;

e,

e) HCVR CDR1 tendo uma sequência de aminoácidos conforme SEQ. ID NO: 96,

HCVR CDR2 tendo uma sequência de aminoácidos conforme

10 SEQ. ID NO: 102,

HCVR CDR3 tendo uma sequência de aminoácidos conforme

SEQ. ID NO: 98,

LCVR CDR1 tendo uma sequência de aminoácidos conforme

SEQ. ID NO: 88,

15 LCVR CDR2 tendo uma sequência de aminoácidos conforme

SEQ. ID NO: 89,

LCVR CDR3 tendo uma sequência de aminoácidos conforme

SEQ. ID NO: 95.

20 4. - Anticorpo monoclonal ou um fragmento de ligação a antígeno do mesmo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, caracterizado pelo fato de que compreende uma HCVR e uma LCVR, em que as ditas HCVR e LCVR são selecionadas do grupo que consiste em:

a) HCVR tendo uma sequência de aminoácidos conforme SEQ. ID NO: 64 e

25 LCVR tendo uma sequência de aminoácidos conforme SEQ. ID NO: 41;

b) HCVR tendo uma sequência de aminoácidos conforme SEQ. ID NO: 68 e

30 LCVR tendo uma sequência de aminoácidos conforme SEQ. ID NO: 43;

c) HCVR tendo uma sequência de aminoácidos conforme SEQ. ID NO: 69 e

LCVR tendo uma sequência de aminoácidos conforme SEQ. ID NO: 45;

d) HCVR tendo uma sequência de aminoácidos conforme SEQ. ID NO: 70 e

5 LCVR tendo uma sequência de aminoácidos conforme SEQ. ID NO: 46.

5. Anticorpo monoclonal ou um fragmento de ligação a antígeno do mesmo de acordo a reivindicação 4, caracterizado pelo fato de que compreende uma HCVR com uma sequência conforme mostrado em SEQ ID NO: 69, e uma LCVR com uma sequência conforme mostrado em SEQ ID NO: 45.

6. Anticorpo monoclonal, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve, em que as ditas cadeia pesada e cadeia leve são selecionadas a partir do grupo que consiste em:

15 a) uma cadeia pesada tendo uma sequência de aminoácidos conforme mostrada em SEQ ID NO: 77, e

uma cadeia leve tendo uma sequência de aminoácidos conforme mostrada em SEQ ID NO: 76;

20 b) uma cadeia pesada tendo uma sequência de aminoácidos conforme mostrada em SEQ ID NO: 79, e

uma cadeia leve tendo uma sequência de aminoácidos conforme mostrada em SEQ ID NO: 78;

c) uma cadeia pesada tendo uma sequência de aminoácidos conforme mostrada em SEQ ID NO: 81, e

25 uma cadeia leve tendo uma sequência de aminoácidos conforme mostrada em SEQ ID NO: 80;

d) uma cadeia pesada tendo uma sequência de aminoácidos conforme mostrada em SEQ ID NO: 83, e

30 me mostrada em SEQ ID NO: 82;

e) uma cadeia pesada tendo uma sequência de aminoácidos conforme mostrada em SEQ ID NO: 85, e

uma cadeia leve tendo uma sequência de aminoácidos conforme mostrada em SEQ ID NO: 84.

5 7. Anticorpo monoclonal de acordo com a reivindicação 6, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos conforme mostrado em SEQ ID NO: 81 e uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos conforme mostrado em SEQ ID NO: 80.

10 8. Anticorpo monoclonal ou um fragmento de ligação a antígeno do mesmo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 7, caracterizado pelo fato de que é para uso como um medicamento.

9. Fragmento de ligação de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 8, caracterizada pelo fato de que o fragmento é um fragmento Fab.

15 10. Composição farmacêutica, caracterizada pelo fato de que compreende o dito anticorpo monoclonal ou um fragmento de ligação a antígeno do mesmo como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 9 e um veículo, diluente ou excipiente farmaceuticamente aceitável.

20 11. Uso do dito anticorpo monoclonal ou um fragmento de ligação a antígeno do mesmo como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 9, caracterizado pelo fato de que é para a produção de um medicamento para tratar desordens proliferativas celulares em um indivíduo que necessite disso.

25 12. Uso de acordo com a reivindicação 11, caracterizado pelo fato de que a dita desordem proliferativa celular é selecionada do grupo que consiste em síndrome mielodisplásica (MDS)/ desordem mieloproliferativa (MDP), câncer de mama, câncer de próstata, câncer de ovário, carcinoma hepatocelular, câncer pancreático, mieloma múltiplo, câncer colo-retal, leucemia das células pilosas, leucemia mielogênica crônica e leucemia mielogênica aguda.

P10620240-3

RESUMO

Patente de Invenção: "ANTICORPO MONOCLONAL, USO DO MESMO E COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA".

- 5 A presente invenção fornece anticorpos de afinidade muito alta, ou fragmentos de ligação de antígeno desses, que neutralizam TGF- β 1, TGF- β 2, e TGF- β 3 maduros humanos. Os anticorpos da invenção são úteis para tratar distúrbios proliferativos celulares em um mamífero.