(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 638 568**

(51) Int. Cl.:

C07K 16/00	(2006.01)
C07K 16/22	(2006.01)
C07K 16/32	(2006.01)
C07K 16/42	(2006.01)
A61K 39/00	(2006.01)
A61K 39/395	(2006.01)
C07K 16/28	(2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.03.2004** **E 11158851 (3)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.05.2017** **EP 2368911**

(54) Título: **Variantes de Fc optimizadas y métodos para su generación**

(30) Prioridad:

02.05.2003 US 467606 P
12.06.2003 US 477839 P
26.09.2003 US 672280

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
23.10.2017

(73) Titular/es:

XENCOR INC. (100.0%)
111 W. Lemon Avenue
Monrovia, CA 91016, US

(72) Inventor/es:

LAZAR, GREGORY ALAN;
CHIRINO, ARTHUR J.;
DANG, WEI;
DESJARLAIS, JOHN RUDOLPH;
DOBERSTEIN, STEPHEN KOHL;
HAYES, ROBERT J.;
KARKI, SHER BAHADUR y
VAFA, OMID

(74) Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 638 568 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Variantes de Fc optimizadas y métodos para su generación

Campo de la invención

La presente invención se refiere a nuevas variantes de Fc optimizadas, métodos de ingeniería para su generación, y su aplicación, en particular para fines terapéuticos.

Antecedentes de la invención

Los anticuerpos son proteínas inmunológicas que se unen a un antígeno específico. En la mayoría de los mamíferos, incluyendo a los seres humanos y a los ratones, los anticuerpos se construyen a partir de cadenas polipeptídicas pesadas y ligeras emparejadas. Cada cadena se compone de dominios de inmunoglobulina (Ig) individuales y, por lo tanto, el término genérico inmunoglobulina se utiliza para tales proteínas. Cada cadena se compone de dos regiones distintas, que se denominan como las regiones variables y constantes. Las regiones variables de cadena ligera y pesada muestran una diversidad de secuencia significativa entre los anticuerpos, y son responsables de la unión al antígeno diana. Las regiones constantes muestran una menor diversidad de secuencias, y son responsables de la unión de una serie de proteínas naturales para provocar importantes eventos bioquímicos. En los seres humanos hay cinco clases diferentes de anticuerpos, incluyendo IgA (que incluye las subclases IgA1 e IgA2), IgD, IgE, IgG (que incluye las subclases IgG1, IgG2, IgG3, e IgG4), e IgM. Las características distintivas entre estas clases de anticuerpos son sus regiones constantes, aunque pueden existir diferencias más sutiles en la región V. La figura 1 muestra un anticuerpo IgG1, que se utiliza en este documento como un ejemplo para describir las características estructurales generales de las inmunoglobulinas. Los anticuerpos IgG son proteínas tetraméricas compuestas por dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras. La cadena pesada de IgG se compone de cuatro dominios de inmunoglobulina unidos desde el extremo N- a C-terminal en el orden V_H-Cγ1-Cγ2-Cγ3, en referencia al dominio variable de la cadena pesada, dominio gamma constante 1, dominio gamma constante 2 y dominio constante gamma 3, respectivamente. La cadena ligera de IgG está compuesta por dos dominios de inmunoglobulina unidos desde el extremo N- al C-terminal en el orden V_L-C_L, en referencia al dominio variable de la cadena ligera y dominio constante de la cadena ligera, respectivamente.

La región variable de un anticuerpo contiene los determinantes de la molécula de unión a antígeno y, por lo tanto, determina la especificidad de un anticuerpo por su antígeno diana. La región variable se llama así porque es la más distinta en secuencia a partir de otros anticuerpos de la misma clase. La mayoría de la variabilidad de secuencia se produce en las regiones determinantes de la complementariedad (CDR). Hay 6 CDRs total, tres de cada una por cadena pesada y ligera, designadas V_H CDR1, V_H CDR2, V_H CDR3, V_L CDR1, V_L CDR2, y V_L CDR3. La región variable fuera de las CDR se refiere a la región marco (FR). Aunque no es tan diversa como las CDR, la variabilidad de secuencia se produce en la región FR entre diferentes anticuerpos. En general, esta arquitectura característica de los anticuerpos proporciona una estructura estable (la región FR) sobre la cual puede ser explorada una sustancial diversidad de unión al antígeno (las CDR) por el sistema inmune para obtener especificidad para una amplia gama de antígenos. Un número de estructuras de alta resolución están disponibles para una variedad de fragmentos de la región variable de diferentes organismos, algunos no unidos y algunos acomplejados con el antígeno. Las características de secuencia y estructurales de las regiones variables de los anticuerpos están bien caracterizadas (Morea y col., 1997, Biophys Chem 68: 9-16; Morea et al, 2000, Methods 20: 267-279), y las características conservadas de anticuerpos han permitido el desarrollo de una gran cantidad de técnicas de ingeniería de anticuerpos (Maynard et al, 2000, Annu Rev Biomed Eng 2: 339-376). Por ejemplo, es posible injertar las CDR de un anticuerpo, por ejemplo, un anticuerpo murino, en la región marco de otro anticuerpo, por ejemplo un anticuerpo humano. Este proceso, que se refiere en la técnica como “humanización”, permite la generación de agentes anticuerpos de terapéuticos menos inmunogénicos a partir de anticuerpos no humanos. Fragmentos que comprenden la región variable pueden existir en ausencia de otras regiones del anticuerpo, incluyendo, por ejemplo, el fragmento de unión al antígeno (Fab) que comprende V_H-Cγ1 y V_H-C_L, el fragmento variable (Fv) que comprende V_H y V_L, el fragmento variable de cadena sencilla (scFv) que comprende V_H y V_L unidos entre sí en la misma cadena, así como una variedad de otros fragmentos de la región variable (Little et al, 2000, Immunol Today 21: 364-370).

La región Fc de un anticuerpo interactúa con un número de receptores Fc y ligandos, impartiendo una serie de capacidades funcionales importantes que se denominan funciones efectoras. Para la IgG la región Fc, como se muestra en la figura 1, comprende los dominios de Ig Cγ2 y Cγ3 y la bisagra N-terminal que conduce a Cγ2. Una importante familia de receptores de Fc para la clase IgG son los receptores Fc gamma (FcγRs). Estos receptores median en la comunicación entre los anticuerpos y el brazo celular del sistema inmune (Raghavan et al, 1996, Annu Rev Cell Dev Biol, 12: 181-220; Ravetch et al, 2001, Annu Rev Immunol 19: 275-290). En los seres humanos esta familia de proteínas incluye FcγRI (CD64), incluyendo las isoformas FcγRIa, FcγRIb, y FcγRIc; FcγRII (CD32), incluyendo las isoformas de FcγRIIA (incluyendo los alotipos H131 y R131), FcγRIIb (incluyendo FcγRIIb-1 y FcγRIIb-2), y FcγRIIc; y FcγRIII (CD16), incluyendo las isoformas FcγRIIIa (incluyendo los alotipos V158 y F158) y FcγRIIIb (incluyendo los alotipos FcγRIIIb-NA1 y FcγRIIIb-NA2) (Jefferis et al, 2002,. Immunol Lett 82: 57-65). Estos receptores tienen típicamente un dominio extracelular que media la unión a Fc, una región que atraviesa la membrana, y un dominio intracelular que puede mediar un cierto acontecimiento de señalización dentro de la célula. Estos receptores se expresan en una variedad de células inmunes, incluyendo monocitos, macrófagos, neutrófilos,

células dendríticas, eosinófilos, mastocitos, plaquetas, células B, linfocitos grandes granulares, células de Langerhans, células asesinas naturales (NK) y células γγ T. La formación de los complejos Fc/FcγR capta a estas células efectoras en sitios de antígeno unido, típicamente resultando en eventos de señalización dentro de las células y a importantes respuestas inmunitarias subsiguientes, tales como la liberación de mediadores de la inflamación, la activación de células B, endocitosis, fagocitosis, y el ataque citotóxico. La capacidad para mediar las funciones efectoras citotóxicas y fagocíticas es un posible mecanismo por el que los anticuerpos destruyen las células diana. La reacción mediada por células en la que células citotóxicas no específicas que expresan FcγRs reconocen a anticuerpos unidos sobre una célula diana y posteriormente causan la lisis de la célula diana se conoce como citotoxicidad dependiente de anticuerpos mediada por células (ADCC) (Raghavan et al., 1996, Annu Rev Cell Dev Biol 12: 181-220; Ghetie et al, 2000, Annu Rev Immunol 18: 739-766; Ravetch et al, 2001, Annu Rev Immunol 19: 275-290). La reacción mediada por células en la que células citotóxicas no específicas que expresan FcγRs reconocen anticuerpos unidos sobre una célula diana y posteriormente causan la fagocitosis de la célula diana se conocen como fagocitosis mediada por células dependiente de anticuerpos (ADCP). Un número de estructuras se han solucionado de los dominios extracelulares de FcγRs humanos, incluyendo FcγRIIA (código adhesión pdb 1H9V) (Sondermann et al, 2001, J Mol Biol 309: 737-749) (código adhesión pdb 1FCG) (Maxwell et al., 1999, Nat Struct Biol 6: 437-442), FcγRIIb (código adhesión pdb 2FCB) (Sondermann et al, 1999, Embo J 18: 1095-1103); y FcγRIIIb (código de acceso pdb 1E4J) (Sondermann et al, 2000, Nature 406: 267-273). Todos los FcγRs se unen a la misma región en Fc, en el extremo N-terminal del dominio Cγ2 y la bisagra anterior, mostrado en la figura 2. Esta interacción está bien caracterizada estructuralmente (Sondermann et al, 2001, J Mol Biol 309: 737-749), y varias estructuras de la Fc humana unida al dominio extracelular de FcγRIIIb humano se han resuelto (código de acceso pdb 1E4K) (Sondermann et al, 2000, Nature 406: 267-273) (códigos de adhesión pdb 1IIS y 1IIX) (Radaev et al, 2001, J Biol Chem 276: 16469-16477), así como tiene la estructura del complejo Fc de IgE humana/FcεRIα (código adhesión pdb 1F6A) (Garman et al, 2000,. Nature 406: 259-266).

Los diferentes subclases de IgG tienen diferentes afinidades por los FcγRs, uniéndose IgG1 y IgG3 normalmente sustancialmente mejor a los receptores que IgG2 e IgG4 (Jefferis et al, 2002, Immunol Lett 82: 57-65). Todos los FcγRs se unen a la misma región en IgG Fc, sin embargo, con diferentes afinidades: el ligante de alta afinidad FcγRI tiene una Kd para la IgG1 de 10^{-8} M^{-1}, mientras que los receptores de baja afinidad FcγRII y FcγRIII generalmente se unen a 10^{-6} y 10^{-5}, respectivamente. Los dominios extracelulares de FcγRIIIa y FcγRIIIb son 96% idénticos, sin embargo FcγRIIIb no tiene un dominio de señalización intracelular. Además, mientras que FcγRI, FcγRIIa/c, y FcγRIIIa son reguladores positivos de la activación activada por el complejo inmune, caracterizados por tener un dominio intracelular que tiene un motivo de activación basado en tirosina del inmunoreceptor (ITAM), FcγRIIb tiene un motivo de inhibición basado en tirosina del inmunoreceptor (ITIM) y es, por lo tanto, inhibitorio. Así, los anteriores se conocen como receptores de activación, y FcγRIIb se conoce como receptor inhibidor. Los receptores también difieren en el patrón de expresión y los niveles en diferentes células inmunes. Sin embargo, otro nivel de complejidad es la existencia de una serie de polimorfismos FcγR en el proteoma humano. Un polimorfismo particularmente relevante con significación clínica es V158/F158 FcγRIIIa. La IgG1 humana se une con mayor afinidad al alotipo V158 que al alotipo F158. Esta diferencia en la afinidad, y presumiblemente su efecto sobre la ADCC y/o ADCP, se ha demostrado que es un determinante significativo de la eficacia del anticuerpo anti-CD20 rituximab (Rituxan®, una marca registrada de IDEC Pharmaceuticals Corporation). Los pacientes con el alotipo V158 responden favorablemente al tratamiento con rituximab; sin embargo, los pacientes con el alotipo de afinidad F158 inferior responden mal (Cartron et al, 2002, Blood 99: 754-758). Aproximadamente el 10-20% de los seres humanos son homocigotos V158/V158, el 45% son heterocigotos V158/F158, y 35-45% de los seres humanos son F158/F158 homocigotos (Lehrnbecher et al, 1999, Blood 94: 4.220-4.232; Cartron et al, 2002, Blood 99: 754-758). De este modo, el 80-90% de los humanos son malos respondedores, es decir, tienen al menos un alelo del F158 FcγRIIIa.

Un sitio de solapamiento pero separado en Fc, que se muestra en la figura 1, sirve como interfaz para la proteína del complemento C1q. De la misma manera que la unión de Fc/FcγR media ADCC, la unión de Fc/C1q media la citotoxicidad dependiente del complemento (CDC). C1q forma un complejo con las serina proteasas C1r y C1s para formar el complejo C1. C1q es capaz de unir seis anticuerpos, aunque la unión a dos IgG es suficiente para activar la cascada del complemento. Similar a la interacción Fc con FcγRs, diferentes subclases de IgG tienen diferente afinidad para C1q, uniéndose IgG1 y IgG3 normalmente sustancialmente mejor a las FcγRs que IgG2 e IgG4 (Jefferis et al, 2002, Immunol Lett 82: 57-65). Actualmente no existe una estructura disponible para el complejo Fc/C1q; sin embargo, estudios de mutagénesis han mapeado el sitio de unión en IgG humana para C1q a una región que implica los residuos D270, K322, K326, P329, y P331, y E333 (Idusogie et al, 2000, J Immunol 164: 4.178-4.184; Idusogie et al, 2001, J Immunol 166: 2571-2575).

Un sitio en Fc entre los dominios Cγ2 y Cγ3, que se muestra en la figura 1, media la interacción con el receptor neonatal FcRn, la unión del cual recicla el anticuerpo endocitosado desde el endosoma de nuevo a la corriente sanguínea (Raghavan et al, 1996, Annu Rev Cell Dev Biol. 12: 181-220; Ghetie et al, 2000, Annu Rev Immunol 18: 739-766). Este proceso, junto con la exclusión de la filtración renal debido al gran tamaño de la molécula de longitud completa, da como resultado vidas medias del suero de anticuerpos favorables que van desde una a tres semanas. La unión de Fc a FcRn también juega un papel clave en el transporte de anticuerpos. El sitio de unión por FcRn en Fc es también el sitio en el que las proteínas bacterianas A y G se unen. La fuerte unión por estas proteínas es típicamente explotada como un medio para purificar anticuerpos mediante el empleo de la cromatografía de afinidad de proteína A o de proteína G durante la purificación de proteínas. Así, la fidelidad de esta región en Fc es

importante tanto para las propiedades clínicas de los anticuerpos como para su purificación. Estructuras disponibles del complejo Fc/FcRn de rata (Martin et al, 2001, Mol Cell 7: 867-877), y de los complejos de Fc con proteínas A y G (Deisenhofer, 1981, Biochemistry 20: 2361-2370; Sauer-Eriksson et al, 1995, Structure 3: 265-278; Tashiro et al, 1995, Curr Opin Struct Biol 5: 471-481) proporcionan información sobre la interacción de Fc con estas proteínas.

Una característica clave de la región Fc es la glicosilación conservada ligada a N que se produce en N297 que se muestra en la figura 1. Este hidrato de carbono, u oligosacárido como a veces se hace referencia, desempeña un papel estructural y funcional crítico para el anticuerpo, y es una de las razones principales de que los anticuerpos deban ser producidos utilizando sistemas de expresión de mamíferos. Aunque no se desea estar limitado por ninguna teoría, se cree que el propósito estructural de este hidrato de carbono puede ser para estabilizar o solubilizar Fc, determinar un ángulo específico o nivel de flexibilidad entre los dominios Cγ3 y Cγ2, mantener los dos dominios Cγ2 de la agregación uno con el otro a través del eje central, o una combinación de estos. La unión eficiente de Fc a FcγR y C1q requiere esta modificación, y las alteraciones en la composición de los hidratos de carbono N297 o su eliminación afectan a la unión a estas proteínas (Umaña et al, 1999, Nat Biotechnol. 17: 176-180; Davies et al, 2001, Biotechnol Bioeng 74: 288-294; Mimura et al, 2001, J Biol Chem. 276: 45539-45547; Radaev et al, 2001, J Biol Chem. 276: 16478-16483; Shields et al, 2001, J Biol Chem. 276: 6.591-6604; Shields et al, 2002, J Biol Chem 277: 26733-26740; Simmons et al, 2002, J. Immunol Methods 263: 133-147). Sin embargo, el hidrato de carbono tiene poco o ningún contacto específico con FcγRs (Radaev et al, 2001, J Biol Chem 276: 16.469-16.477), lo que indica que el papel funcional de los hidratos de carbono N297 en la mediación de la unión de Fc/FcγR puede ser a través de la función estructural que desempeña en la determinación de la conformación Fc. Esto es apoyado por una colección de estructuras cristalinas de cuatro glicoformas diferentes Fc, que muestran que la composición de los impactos de oligosacáridos impacta la conformación de Cγ2 y como resultado la interfaz Fc/FcγR (Krapp et al, 2003, J Mol Biol 325: 979-989).

Las características de los anticuerpos discutidas anteriormente -especificidad para la diana, capacidad para mediar los mecanismos efectores inmunes, y la larga vida media en suero- producen anticuerpos terapéuticos potentes. Los anticuerpos monoclonales se usan terapéuticamente para el tratamiento de una variedad de condiciones incluyendo el cáncer, la inflamación y la enfermedad cardiovascular. En este momento hay más de diez productos de anticuerpos en el mercado y cientos en desarrollo. Además de los anticuerpos, una proteína tipo anticuerpo que está encontrando un creciente papel en la investigación y la terapia es la fusión Fc (Chamow et al, 1996, Trends Biotechnol. 14: 52-60; Ashkenazi et al, 1997, Curr Opin Immunol 9: 195-200). Una fusión Fc es una proteína en la que uno o más polipéptidos está unido operativamente a Fc. Una fusión Fc combina la región Fc de un anticuerpo, y por lo tanto sus funciones efectoras favorables y farmacocinética, con la región de unión a diana de un receptor, ligando, o algún otro dominio de proteína o proteína. El papel de estos últimos es mediar el reconocimiento del objetivo, y por lo tanto es funcionalmente análogo a la región variable de anticuerpo. Debido a la superposición estructural y funcional de las fusiones de Fc con anticuerpos, la discusión sobre los anticuerpos en la presente invención se extiende directamente a las fusiones de Fc.

A pesar de tal uso extendido, los anticuerpos no están optimizados para el uso clínico. Dos deficiencias significativas de los anticuerpos son su subóptima potencia contra el cáncer y sus exigentes requisitos de producción. Estas deficiencias son abordadas por la presente invención

Hay un número de posibles mecanismos por los que los anticuerpos destruyen las células tumorales, incluyendo la anti-proliferación a través de la obstrucción de las vías de crecimiento necesarias, la señalización intracelular que conduce a la apoptosis, la mejora de la regulación negativa y/o rotación de los receptores, CDC, ADCC, ADCP, y la promoción de una respuesta adaptativa inmune (Cragg et al, 1999, Curr Opin Immunol. 11: 541-547; Glennie et al, 2000, Immunol Today 21: 403-410). La eficacia antitumoral puede ser debida a una combinación de estos mecanismos, y su importancia relativa en la terapia clínica parece ser dependiente del cáncer. A pesar de este arsenal de armas anti-tumorales, la potencia de los anticuerpos como agentes anti-cáncer no es satisfactoria, en particular debido a su alto coste. Los datos de respuesta de los tumores de los pacientes muestran que los anticuerpos monoclonales proporcionan sólo una pequeña mejora en el éxito terapéutico respecto a los agentes quimioterapéuticos normales citotóxicos de un solo agente. Por ejemplo, sólo la mitad de todos los pacientes con linfoma de no Hodgkin de grado bajo en recaída responde al anticuerpo anti-CD20 rituximab (McLaughlin et al, 1998, J Clin Oncol 16: 2825-2833). De 166 pacientes clínicos, 6% mostró una respuesta completa y 42% mostró una respuesta parcial, con una duración de la respuesta media de aproximadamente 12 meses. El trastuzumab (Herceptin®, una marca registrada de Genentech), un anticuerpo anti-HER2/neu para el tratamiento del cáncer de mama metastásico, tiene menos eficacia. La tasa de respuesta global usando trastuzumab para los 222 pacientes probados fue sólo del 15%, con 8 respuestas completas y 26 parciales y una duración mediana de la respuesta y la supervivencia de 9 a 13 meses (Cobleigh y otros, 1999, J Clin Oncol 17: 2639- 2648). Actualmente para la terapia contra el cáncer, cualquier pequeña mejora en la tasa de mortalidad define el éxito. Por lo tanto, hay una necesidad significativa para mejorar la capacidad de los anticuerpos para destruir las células cancerosas específicas.

Un medio prometedor para mejorar la potencia anti-tumoral de los anticuerpos es a través de la mejora de su capacidad de mediar las funciones efectoras citotóxicas tales como ADCC, ADCP, y CDC. La importancia de las funciones efectoras mediadas por FcγR para la actividad anti-cáncer de los anticuerpos se ha demostrado en ratones (Clynes et al, 1998, Proc Natl Acad Sci USA 95: 652-656; Clynes et al, 2000, Nat Med 6: 443-446), y la afinidad de la interacción entre Fc y ciertos FcγRs se correlaciona con la citotoxicidad específica en ensayos

basados en células (Shields et al, 2001, J Biol Chem. 276: 6591-6604; Presta et al, 2002, Biochem Soc Trans. 30: 487-490; Shields et al, 2002, J Biol Chem 277: 26.733-26.740). Además, se ha observado una correlación entre la eficacia clínica en el ser humano y sus alotipos de formas polimórficas de afinidad alta (V158) o baja (F158) de FcγRIIIa (Cartron et al, 2002, Blood 99: 754-758). En conjunto, estos datos sugieren que un anticuerpo con una región Fc optimizado para la unión a ciertas FcγRs pueden mediar mejor las funciones efectoras y por lo tanto destruir las células cancerosas más eficazmente en los pacientes. El equilibrio entre la activación y la inhibición de los receptores es una consideración importante, y la función efectora óptima puede resultar de una Fc con afinidad mejorada para los receptores de activación, por ejemplo FcγRI, FcγRIIA/c, y FcγRIIIa y, sin embargo, una afinidad reducida para el receptor inhibidor FcγRIIb. Además, debido a que FcγRs pueden mediar en la captación y procesamiento de antígenos por células presentadoras de antígeno, una mayor afinidad de Fc/FcγR también puede mejorar la capacidad de los anticuerpos terapéuticos para provocar una respuesta inmune adaptativa.

Se han llevado a cabo estudios de mutagénesis en Fc hacia diferentes objetivos, con sustituciones realizadas típicamente a alanina (referidos como barrido de alanina) o guiados por sustituciones de homología de secuencia (Duncan et al, 1988, Nature 332: 563-564; Lund et al., 1991, J Immunol 147: 2657-2662; Lund et al, 1992, Mol Immunol. 29: 53-59; Jefferis et al, 1995, Immunol Lett . 44: 111-117; Lund et al, 1995, Faseb J 9: 115-119; Jefferis et al, 1996, Immunol Lett. 54: 101-104; Lund et al, 1996, J Immunol 157: 4.963-4.969; Armor et al, 1999, Eur J Immunol 29: 2613-2624; Shields et al., 2001, J Biol Chem 276: 6591-6604; Jefferis et al, 2002, Immunol Lett . 82: 57-65) (patente de Estados Unidos Nº 5.624.821; patente de Estados Unidos No. 5.885.573; documento PCT WO 00/42072; documento PCT WO 99/58572). La mayoría de las sustituciones reduce o elimina la unión con FcγRs. Sin embargo, se ha logrado cierto éxito en la obtención de variantes Fc con mayor afinidad de FcγR. (Véase, por ejemplo, la patente de EE.UU. Nº. 5.624.821, y el documento PCT WO 00/42072). Por ejemplo, Winter y sus colegas sustituyeron el aminoácido humano en la posición 235 del anticuerpo de ratón de IgG2b (una mutación de ácido glutámico a leucina) lo que aumentó la unión del anticuerpo de ratón a FcγRI humano por 100 veces (Duncan et al., 1988, Nature 332: 563-564) (patente de Estados Unidos No. 5.624.821). Shields et al. usaron mutagénesis de barrido de alanina para mapear los residuos de Fc importantes a la unión de FcγR, seguido de la sustitución de residuos seleccionados con mutaciones no de alanina (Shields et al, 2001, J Biol Chem. 276: 6591-6604; Presta et al, 2002, Biochem Soc Trans 30: 487-490) (documento PCT WO 00/42072). Varias mutaciones descritas en este estudio, incluyendo S298A, E333A, y K334A, muestran una mayor unión al receptor de activación FcγRIIIa y una reducción de la unión al receptor inhibidor FcγRIIb. Estas mutaciones se combinaron para obtener variantes dobles y triples de mutaciones que muestran mejoras aditivas en la unión. La mejor variante que se describe en este estudio es un mutante triple S298A/E333A/K334A con aproximadamente un aumento de 1,7 veces en la unión a F158 FcγRIIIa, una disminución de 5 veces en la unión a FcγRIIb, y una mejora de 2,1 veces en la ADCC.

Una mejor afinidad de Fc para FcγR también se ha conseguido utilizando glicoformas modificadas genéticamente generadas por la expresión de anticuerpos en líneas de células modificadas genéticamente o variantes (Umaña et al, 1999, Nat Biotechnol. 17: 176-180; Davies et al, 2001, Biotechnol Bioeng 74: 288-294; Shields et al, 2002, J Biol Chem 277: 26.733-26.740; Shinkawa et al, 2003, J Biol Chem 278: 3.466-3.473). Este enfoque ha generado mejoras sustanciales de la capacidad de los anticuerpos para unirse a FcγRIIIa y mediar ADCC. Aunque haya limitaciones prácticas, tales como la eficiencia del crecimiento de las cepas de expresión bajo condiciones de producción a gran escala, este enfoque para mejorar la afinidad de Fc/FcγR y la función efectora es prometedor. De hecho, el acoplamiento de estas tecnologías de glicoformas alternas con las variantes de Fc de la presente invención puede proporcionar efectos aditivos o sinérgicos de la función efectora óptima.

Aunque hay una necesidad de una mayor función efectora, para algunos productos terapéuticos de anticuerpo puede desearse reducir o eliminar la función efectora. Este es a menudo el caso para los anticuerpos terapéuticos cuyo mecanismo de acción consiste en bloquear o antagonizar, pero no matar, las células portadoras del antígeno diana. En estos casos, el agotamiento de las células diana no es deseable y puede ser considerado un efecto secundario. Por ejemplo, la capacidad de los anticuerpos anti-CD4 para bloquear los receptores de CD4 en las células T les convierte en antiinflamatorios eficaces, sin embargo, su capacidad para reclutar los receptores de FcγR también dirige el ataque inmune contra las células diana, lo que resulta en la depleción de las células T (Reddy et al., 2000, J Immunol 164: 1925-1933). La función efectora también puede ser un problema para los anticuerpos radiomarcados, denominados radioconjugados, y anticuerpos conjugados con toxinas, denominados inmunotoxinas. Estos medicamentos se pueden utilizar para destruir a las células cancerosas, pero el reclutamiento de células inmunes a través de la interacción de Fc con FcγRs trae células inmunes saludables en proximidad a la carga mortal (radiación o toxinas), lo que resulta en el agotamiento del tejido linfoide normal, junto con las células cancerosas específicas (Hutchins et al, 1995, Proc Natl Acad Sci USA 92: 11.980-11.984; White et al, 2001, Annu Rev Med 52: 125-145). Este problema puede ser evitado potencialmente mediante el uso de isotipos de IgG que reclutan mal las células del complemento o efectoras, por ejemplo IgG2 y IgG4. Una solución alternativa es desarrollar variantes de Fc que reducen o eliminan la unión (Alegre et al, 1994, Trasplantation 57: 1537-1543; Hutchins et al, 1995, Proc Natl Acad Sci USA 92: 11.980-11.984; Armour et al., 1999, Eur J Immunol. 29: 2613-2624; Reddy et al, 2000, J Immunol 164: 1925-1933; Xu et al, 2000, Cell Immunol 200: 16-26; Shields et al, 2001, J Biol Chem. 276: 6.591-6.604) (patentes de EE.UU. Nos. 6.194.551; 5.885.573; documento PCT WO 99/58572). Una consideración crítica para la reducción o eliminación de la función efectora es que no se perturban otras propiedades importantes de los anticuerpos. Las variantes de Fc deberían modificarse por ingeniería genética que no sólo elimina la unión a FcγRs

y/o C1q, sino que también mantiene la estabilidad del anticuerpo, la solubilidad, y la integridad estructural, así como la capacidad para interactuar con otros ligandos importantes de Fc tales como FcRn y las proteínas A y G.

La presente invención aborda otra importante deficiencia de los anticuerpos, a saber, sus exigentes requisitos de producción (Garber, 2001, Nat Biotechnol 19: 184-185; Dove, 2002, Nat Biotechnol 20: 777-779). Los anticuerpos se deben expresar en células de mamífero, y los anticuerpos que se comercializan actualmente junto con otros agentes bioterapéuticos de alta demanda consumen esencialmente la totalidad de la capacidad de fabricación disponible. Con cientos de productos biológicos en desarrollo, la mayoría de los cuales son anticuerpos, existe una necesidad urgente de métodos más eficientes y más baratos de producción. Los efectos aguas abajo de la insuficiente capacidad de fabricación del anticuerpo son de tres tipos. En primer lugar, incrementan drásticamente el costo de los bienes al productor, un coste que se transmite al paciente. En segundo lugar, se dificulta la producción industrial de productos de anticuerpos aprobados, lo que limita la disponibilidad de terapias de alta demanda de pacientes. Por último, porque los ensayos clínicos requieren grandes cantidades de una proteína que aún no es rentable, el suministro insuficiente impide el progreso de la creciente canalización de anticuerpos al mercado.

Se han explorado métodos de producción alternativos en los intentos para aliviar este problema. Se están llevando a cabo plantas y animales transgénicos como sistemas de producción de capacidad potencialmente más baratos y más altos (Chadd et al, 2001, Curr Opin Biotechnol 12: 188-194). Tales sistemas de expresión, sin embargo, pueden generar patrones de glicosilación significativamente diferentes de las glicoproteínas humanas. Esto puede resultar en la reducción o incluso la falta de la función efectora, ya que, como se discutió anteriormente, la estructura de los hidratos de carbono puede afectar significativamente a FcγR y complementar la unión. Un problema potencialmente mayor con las glicoformas no humanas puede ser la inmunogenicidad; los hidrato de carbonos son una fuente clave de antigenicidad para el sistema inmunológico, y la presencia de glicoformas no humanas tiene una probabilidad significativa de producción de anticuerpos que neutralizan al agente terapéutico, o peor causan reacciones inmunes adversas. Así, la eficacia y seguridad de los anticuerpos producidos por las plantas y los animales transgénicos siguen siendo inciertas. La expresión bacteriana es otra atractiva solución al problema de la producción de anticuerpos. La expresión en bacterias, por ejemplo E. coli, proporciona un método rentable y de alta capacidad para la producción de proteínas. Para las proteínas complejas, tales como los anticuerpos, hay una serie de obstáculos para la expresión bacteriana, incluyendo el plegamiento y ensamblaje de estas moléculas complejas, la formación del disulfuro correcto, y la solubilidad, la estabilidad, y la funcionalidad en ausencia de glicosilación porque las proteínas expresadas en bacterias no están glicosiladas. Anticuerpos no glicosilados de longitud completa que se unen al antígeno se han expresado con éxito en E. coli (Simmons et al, 2002, J Immunol Methods 263: 133-147), y por lo tanto, el plegado, ensamblaje, y la formación del disulfuro adecuado de anticuerpos expresados en bacterias son posibles en ausencia de la maquinaria chaperona eucariota. Sin embargo, la utilidad última de los anticuerpos expresados en bacterias como agentes terapéuticos permanece obstaculizada por la falta de glicosilación, lo que resulta en una falta de la función efectora y que puede resultar en una pobre estabilidad y solubilidad. Esto probablemente será más problemático para la formulación a altas concentraciones durante los prolongados períodos exigidos para el uso clínico.

Un Fc no glicosilado con propiedades de disolución favorables y capacidad de mediar las funciones efectoras sería significativamente favorable para los métodos de producción alternativos descritos anteriormente. Al superar las deficiencias estructurales y funcionales del Fc aglicosilado, los anticuerpos pueden producirse en bacterias, plantas y animales transgénicos con un menor riesgo de inmunogenicidad, y con una función efectora para aplicaciones clínicas en las que se desea citotoxicidad, tal como en el cáncer. La presente invención describe la utilización de métodos de ingeniería de proteínas para desarrollar variantes de Fc estables y solubles con función efectora. Actualmente, este tipo de variantes de Fc no existen en la técnica.

En resumen, existe una necesidad de anticuerpos con propiedades terapéuticas mejoradas. La ingeniería de variantes de Fc optimizadas o potenciadas es un enfoque prometedor para satisfacer esta necesidad. Sin embargo, un obstáculo sustancial en la ingeniería de las variantes Fc con las propiedades deseadas es la dificultad de predecir qué modificaciones de aminoácidos, a partir de la enorme cantidad de posibilidades, logrará los objetivos deseados, junto con una producción ineficiente y métodos de cribado para anticuerpos. De hecho, una de las razones principales para el éxito incompleto de la técnica anterior es que los enfoques de ingeniería de Fc hasta ahora han implicado métodos inciertos, tales como los barridos de alanina o la producción de glicoformas utilizando diferentes cepas de expresión. En estos estudios, las modificaciones de Fc que se hicieron fueron totalmente o parcialmente al azar en la esperanza de obtener variantes con propiedades favorables. La presente invención proporciona una variedad de métodos de ingeniería, muchos de los cuales se basan en técnicas más sofisticadas y eficientes, que pueden ser usadas para superar estos obstáculos con el fin de desarrollar variantes de Fc que están optimizadas para las propiedades deseadas. Los métodos de ingeniería descritos proporcionan estrategias de diseño para guiar la modificación de Fc, métodos de selección computacionales para diseñar variantes favorables de Fc, enfoques de generación de bibliotecas para la determinación de variantes prometedoras para la investigación experimental, y una gran variedad de producción experimental y métodos de cribado para la determinación de las variantes Fc con propiedades favorables.

Sumario de la invención

La presente invención proporciona variantes de Fc, como se definen en las reivindicaciones, que están optimizadas para un número de propiedades terapéuticamente relevantes. Estas variantes de Fc están contenidas generalmente dentro de una proteína variante, que comprende preferiblemente un anticuerpo o una proteína de fusión Fc.

En un aspecto, la invención proporciona una proteína variante que comprende una variante de Fc de un polipéptido de Fc natural, comprendiendo dicha variante de Fc al menos una modificación de aminoácido en la región Fc de dicho polipéptido Fc natural, en el que dicha al menos una modificación de aminoácido es S267E.

En una realización, dicha proteína variante es un anticuerpo que comprende dicha variante de Fc. En una realización, dicho anticuerpo es un fragmento de anticuerpo. En una realización, dicho anticuerpo es un anticuerpo monoclonal. En una realización, dicho anticuerpo es un anticuerpo humano o un anticuerpo humanizado. En una realización, dicho anticuerpo comprende además una glicoforma modificada. En una realización, dicho anticuerpo tiene especificidad para CD19, IgE, CD20, CD22, CD30, CD33, CD40, CD40L, CD52, Her2/neu, EGFR, EpCAM, MUC1, GD3, CEA, CA 152, HLA-DR, TNFalfa, MUC18, antígeno de membrana específico de la próstata (PSMA) o VEGF. En una realización, dicha proteína es una proteína de fusión Fc que comprende dicha variante Fc.

En un aspecto más, la invención proporciona un nucleótido aislado que codifica el polipéptido de la invención.

En un aspecto más, la invención proporciona una célula huésped que comprende el ácido nucléico aislado de la invención.

Un objeto de la presente descripción es proporcionar nuevas posiciones de Fc en las que pueden efectuarse modificaciones de aminoácidos para generar variantes de Fc optimizados. Dichas posiciones de Fc incluyen 230, 240, 244, 245, 247, 262, 263, 266, 273, 275, 299, 302, 313, 323, 325, 328, y 332, en el que la numeración de los residuos en la región Fc es la del índice EU de Kabat. La presente descripción describe cualquier modificación de aminoácidos en cualquiera de dichas nuevas posiciones de Fc con el fin de generar una variante de Fc optimizada.

Un objeto adicional de la presente descripción es proporcionar variantes de Fc que han sido seleccionadas computacionalmente. Una variante Fc computacionalmente seleccionada es una que se predijo por los cálculos de detección computacionales descritos en el presente documento como que tiene un significativamente mayor potencial que al azar para ser optimizado para una propiedad deseada. De esta manera, el cribado computacional sirve como un preludio o sustituto para el cribado experimental y, por lo tanto, dichas variantes de Fc computacionalmente seleccionadas se consideran nuevas.

Un objeto adicional de la presente descripción es proporcionar variantes de Fc que se han caracterizado usando uno o más de los métodos experimentales descritos en el presente documento. En un caso, dichas variantes de Fc comprenden al menos una sustitución de aminoácido en una posición seleccionada de entre el grupo que consiste en: 230, 233, 234, 235, 239, 240, 241, 243, 244, 245, 247, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 269, 270, 272, 273, 274, 275, 276, 278, 283, 296, 297, 298, 299, 302, 313, 318, 320, 323, 324, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 332, 333, 334, y 335, en el que la numeración de los residuos en la región Fc es la del índice EU como en Kabat. En un caso, dichas variantes de Fc comprenden al menos una sustitución de aminoácido en una posición seleccionada de entre el grupo que consiste en: 221, 222, 224, 227, 228, 230, 231, 223, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 243, 244, 245, 246, 247, 249, 250, 258, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 269, 270, 271, 272, 273, 274, 275, 276, 278, 280, 281, 283, 285, 286, 288, 290, 291, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 302, 313, 317, 318, 320, 322, 323, 324, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 336 y 428, en el que la numeración de los residuos en la región Fc es la del índice EU como en Kabat. En un caso preferido, dichas variantes de Fc comprenden al menos una sustitución seleccionada del grupo que consiste de P230A, E233D, L234D, L234E, L234N, L234Q, L234T, L234H, L234Y, L234I, L234V, L234F, L235D, L235S, L235N, L235Q , L235T, L235H, L235Y, L235I, L235V, L235F, S239D, S239E, S239N, S239Q, S239F, S239T, S239H, S239Y, V240I, V240A, V240T, V240M, F241W, F241L, F241Y, F241E, F241R, F243W, F243L F243Y, F243R, F243Q, P244H, P245A, P247V, P247G, V262I, V262A, V262T, V262E, V263I, V263A, V263T, V263M, V264L, V264I, V264W, V264T, V264R, V264F, V264M, V264Y, V264E, D265G, D265N, D265Q, D265Y, D265F, D265V, D265I, D265L, D265H, D265T, V266I, V266A, V266T, V266M, S267Q, S267L, S267T, S267H, S267D, S267N, E269H, E269Y, E269F, E269R, E269T, E269L, E269N, D270Q, D270T, D270H, E272S, E272K, E272I, E272Y, V273I, K274T, K274E, K274R, K274L, K274Y, F275W, N276S, N276E, N276R, N276L, N276Y, Y278T, Y278E, Y278K, Y278W, E283R, Y296E, Y296Q, Y296D, Y296N, Y296S, Y296T, Y296L, Y296I, Y296H, N297S, N2 97D, N297E, A298H, T299I, T299L, T299A, T299S, T299V, T299H, T299F, T299E, V302I, W313F, E318R, K320T, K320D, K320i, K322T, K322H, V323i, S324T, S324D, S324R, S324I, S324V, S324L, S324Y, N325Q, N325L, N325I, N325D, N325E, N325A, N325T, N325V, N325H, K326L, K326I, K326T, A327N, A327L, A327D, A327T, L328M, L328D, L328E, L328N, L328Q, L328F, L328I, L328V, L328T, L328H, L328A, P329F, A330L, A330Y, A330V, A330I, A330F, A330R, A330H, A330S, A330W, A330M, P331V, P331H, I332D, I332E, I332N, I332Q, I332T, I332H, I332Y, I332A, E333T, E333H, E333I, E333Y, K334I, K334T, K334F, T335D, T335R, y T335Y, en el que la numeración de los residuos en la región Fc es la del índice EU como en Kabat. En un caso principalmente preferido, dichas variantes de Fc se seleccionan del grupo que consiste en V264L, V264I, F241W, F241L, F243W, F243L, F241L/F243L/V262I/V264I, F241W/F243W, F241W/F243W/V262A/V264A, F241L/V262I, F243L/V264I, F243L/V262I/V264W, F241Y/F243Y/V262T/V264T,

F241E/F243R/V262E/V264R, F241E/F243Q/V262T/V264E, F241R/F243Q/V262T/V264R, F241E/F243Y/V262T/V264R, L328M, L328E, L328F, I332E, L328M, I332E, P244H, P245A, P247V, W313F, P244H/P245A/P247V, P247G, V264I/I332E, F241E/F243R/V262E/V264R/I332E, F241E/F243Q/V262T/V264E/I332E, F241R/F243Q/V262T/V264R/I332E, F241 E/F243Y/V262T/V264R/I1332E, S298A/I332E, S239E/I332E, S239Q/I332E, S239E, D265G, D265N, S239E/D265G, S239E/D265N, S239E/D265Q, Y296E, Y296Q, T299I, A327N, S267Q/A327S, S267L/A327S, A327L, P329F, A330L, A330Y, I332D, N297S, N297D, N297S/I332E, N297D/I332E, N297E/I332E, D265Y/N297D/I332E, D265Y/N297D/T299L/I332E, D265F/N297E/I332E, L328I/I332E, L328Q/I332E, 1332N, I332Q, V264T, V264F, V240I, V263I, V266I, T299A, T299S, T299 V, N325Q, N325L, N325I, S239D, S239N, S239F, S239D/I332D, S239D/I332E, S239D/I332N, S239D/I332Q, S239E/I332D, S239E/I332N, S239E/I332Q, S239N/I332D, S239N/I332E, S239N/I332N, S239N/I332Q, S239Q/I332D, S239Q/I332N, S239Q/I332Q, Y296D, Y296N, F241Y/F243Y/V262T/V264T/N297D/I332E, A330Y/I332E, V264I/A330Y/I332E, A330L/I332E, V264I/A330L/I332E, L234D, L234E, L234N, L234Q, L234T, L234H, L234Y, L234I, L234V, L234F, L235D, L235S, L235N, L235Q, L235T, L235H, L235Y, L235I, L235V, L235F, S239T, S239H, S239Y, V240A, V240T, V240M, V263A, V263T, V263M, V264M, V264Y, V266A, V266T, V266M, E269H, E269Y, E269F, E269R, Y296S, Y296T, Y296L, Y296I, A298H, T299H, A330V, A330I, A330F, A330R, A330H, N325D, N325E, N325A, N325T, N325V, N325H, L328D/I332E, L328E/I332E, L328N/I332E, L328Q/I332E, L328V/I332E, L328T/I332E, L328H/I332E, L328I/I332E, L328A, I332T, I332H, I332Y, I332A, S239E/V264I/I332E, S239Q/V264I/I332E, S239E/V264I/A330Y/I332E, S239E/V264I/S298A/A330Y/I332E, S239D/N297D/I332E, S239E/N297D/I332E, S239D/D265V/N297D/I332E, S239D/D265I/N297D/I332E, S239D/D265L/N297D/I332E, S239D/D265F/N297D/I332E, S239D/D265Y/N297D/I332E, S239D/D265H/N297D/I332E, S239D/D265T/N297D/I332E, V264E/N297D/I332E, Y296D/N297D/I332E, Y296E/N297D/I332E, Y296N/N297D/I332E, Y296Q/N297D/I332E, Y296H/N297D/I332E, Y296T/N297D/I332E, N297D/T299V/I332E, N297D/T299I/I332E, N297D/T299L/I332E, N297D/T299F/I332E, N297D/T299H/I332E, N297D/T299E/I332E, N297D/A330Y/I332E, N297D/S298A/A330Y/I332E, S239D/A330Y/I332E, S239N/A330Y/I332E, S239D/A330L/I332E, S239N/A330L/I332E, V264I/S298A/I332E, S239D/S298A/I332E, S239N/S298A/I332E, S239D/V264I/I332E, S239D/V264I/S298A/I332E, S239D/V264I/A330L/I332E, L328N, L328H, S239D/I332E/A330I, N297D/I332E/S239D/A330L, P230A, E233D, P230A/E233D, P230A/E233D/I332E, S267T, S267H, S267D, S267N, E269T, E269L, E269N, D270Q, D270T, D270H, E272S, E272K, E272I, E272Y, V273I, K274T, K274E, K274R, K274L, K274Y, F275W, N276S, N276E, N276R, N276L, N276Y, Y278T, Y278E, Y278K, Y278W, E283R, V302I, E318 R, K320T, K320D, K320i, K322T, K322H, V323i, S324T, S324D, S324R, S324I, S324V, S324L, S324Y, K326L, K326I, K326T, A327D, A327T, A330S, A330W, A330M, P331V, P331H, E333T, E333H, E333I, E333Y, K334I, K334T, K334F, T335D, T335R, T335Y, L234I/L235D, V240I/V266I, S239D/A330Y/I332E/L234I, S239D/A330Y/I332E/L235D, S239D/A330Y/I332E/V240I, S239D/A330Y/I332E/V264T, S239D/A330Y/I332E/V266I, S239D/A330Y/I332E/K326E, S239D/A330Y/I332E/K326T, S239D/N297D/I332E/A330Y, S239D/N297D/I332E/A330Y/F241S/F243H/V262T/V264T, S239D/N297D/I332E/L235D, y S239D/N297D/I332E/K326E, en el que la numeración de los residuos en la región Fc es la del índice EU como en Kabat.

Un objeto adicional de la presente invención es proporcionar variantes de Fc que se seleccionan del grupo que consiste de D221K, D221Y, K222E, K222Y, T223E, T223K, H224E, H224Y, T225E, T225, T225K, T225W, P227E, P227K, P227Y , P227G, P 228 E, P228K, P228Y, P228G, P230E, P230Y, P230G, A231E, A231K, A231Y, A231P, A231G, P232E, P232K, P232Y, P232G, E233N, E233Q, E233K, E233R, E233S, E233T, E233H, E233A , E233V, E233L, E233I, E233F, E233M, E233Y, E233W, E233G, L234K, L234R, L234S, L234A, L234M, L234W, L234P, L234G, L235E, L235K, L235R, L235A, L235M, L235W, L235P, L235G, G236D , G236E, G236N, G236Q, G236K, G236R, G236S, G236T, G236H, G236A, G236V, G236L, G236I, G236F, G236M, G236Y, G236W, G236P, G237D, G237E, G237N, G237Q, G237K, G237R, G237S, G237T , G237H, G237V, G237L, G237I, G237F, G237M, G237Y, G237W, G237P, P238D, P238E, P238N, P238Q, P238K, P238R, P238S, P238T, P238H, P238V, P238L, P238I, P238F, P238M, P238Y, P238W , P238G, S239Q, S239K, S239R, S239V, S239L, S239I, S239M, S239W, S239P, S239G, F 241D, F241E, F241Y, F243E, K246D, K246E, K246H, K246Y, D249Q, D249H, D249Y, R255E, R255Y, E258S, E258H, E258Y, T260D, T260E, T260H, T260Y, V262E, V262F, V264D, V264E, V264N, V264Q, V264K, V264R, V264S, V264H, V264W, V264P, V264G, D265Q, D265K, D265R, D265S, D265T, D265H, D265V, D265L, D265I, D265F, D265M, D265Y, D265W, D265P, S267E, S267Q, S267K, S267R, S267V, S267L, S267I, S267F, S267M, S267Y, S267W, S267P, H268D, H268E, H268Q, H268K, H268R, H268T, H268V, H268L, H268I, H268F, H268M, H268W, H268P, H268G, E269K, E269S, E269V, E269I, E269M, E269W, E269P, E269G, D270R, D270S, D270L, D270I, D270F, D270M, D270Y, D270W, D270P, D270G, P271D, P271E, P271N, P271Q, P271 K, P271R, P271S, P271T, P271H , P271A, P271V, P271L, P271I, P271F, P271M, P271Y, P271W, P271G, E272D, E272R, E272T, E272H, E272V, E272L, E272F, E272M, E272W, E272P, E272G, K274D, K274N, K274S, K274H, K274V , K274I, K274F, K274M, K274W, K274P, K274G, F275L, N276D, N276T, N276H, N276V, N276I, N276F, N276M, N276W, N276P, N276G, Y278D, Y278N, Y278Q, Y278R, Y278S, Y278H, Y278V, Y278L, Y278I, Y278M, Y278P, Y278G, D280K, D280L, D280W, D280P, D280G, G281D, G281K, G281Y, G281P, V282E, V282K, V282Y, V282P, V282G, E283K, E283H, E283L, E283Y, E283P, E283G, V284E, V284N, V284T, V284L, V284Y, H285D, H285E, H285Q, H285K, H285Y, H285W, N286E, N286Y, N286P, N286G, K288D, K288E, K288Y, K290D, K290N, K290H, K290L, K290W, P291D, P291E, P291Q, P291T, P291H, P291I, P291G, R292D, R292E, R292T, R292Y, E293N, E293R, E293S, E293T, E293H, E293V, E293L, E293I, E293F, E293M, E293Y, E293W, E293P, E293G, E294K, E294R, E294S, E294T, E294H, E294V, E294L, E294I, E294F, E294M, E294Y, E294W, E294P, E294G, Q295D, Q295E, Q295N, Q295R, Q295S, Q295T, Q295H, Q295V, Q295I, Q295F, Q295M, Q295Y, Q295W, Q295P, Q295G,

Y296K, Y296R, Y296A, Y296V, Y296M, Y296G, N297Q, N297K, N297R, N297T, N297H, N297V, N297L, N297I, N297F, N297M, N297Y, N297W, N297P, N297G, S298D, S298E, S298Q, S298K, S298R, S298I, S298F, S298M, S298Y, S298W, T299D, T299E, T299N, T299Q, T299K, T299R, T299L, T299F, T299M, T299Y, T299W, T299P, T299G, Y300D, Y300E, Y300N, Y300Q, Y300K, Y300R, Y300S, Y300T, Y300H, Y300A, Y300V, Y300M, Y300W, Y300P, Y300G, R301D, R301E , R301H, R301Y, V303D, V303E, V303Y, S304D, S304N, S304T, S304H, S304L, V305E, V305T, V305Y, K317E, K317Q, E318Q, E318H, E318L, E318Y, K320N, K320S, K320H, K320V, K320L, K320F , K320Y, K320W, K320P, K320G, K322D, K322S, K322V, K322I, K322F, K322Y, K322W, K322P, K322G, S324H, S324F, S324M, S324W, S324P, S324G, N325K, N325R, N325S, N325F, N325M, N325Y , N325W, N325P, N325G, K326P, A327E, A327K, A327R, A327H, A327V, A327I, A327F, A327M, A327Y, A327W, A327P, L328D, L328Q, L328K, L328R, L328S, L328T, L328V, L328I, L328Y, L328W , L328P, L328G, P329D, P329E, P329N, P329Q, P329K, P329R, P329S, P329T, P329H, P329V, P329L, P329I, P329M, P329Y, P329W, P329G, A330E, A330N, A330T, A330P, A330G, P331D, P331Q , P331R, P331T, P331L, P331I, P331F, P331M, P331Y, P331W, I332K, I332R, I332S, I332V, I332L, I332F, I332M, I332W, I332P, I332 G, E333L, E333F, E333M, E333P, K334P, T335N, T335S, T335H, T335V, T335L, T335I, T335F, T335M, T335W, T335P, T335G, I336E, I336K, I336Y, S337E, S337N, y S337H, en el que la numeración de los residuos en la región Fc es la del índice EU de Kabat.

Un objeto adicional de la presente invención es proporcionar una variante de Fc, como se define en las reivindicaciones, que se une con mayor afinidad a uno o más FcγRs. En un caso, dichas variantes de Fc tienen afinidad por un FcγR que es más que 1 vez mayor que la del polipéptido de Fc parenteral. En un caso alternativo, dicho variantes de Fc tienen afinidad por un FcγR que es más que 5 veces mayor que la del polipéptido de Fc parenteral. En un caso preferido, dichas variantes de Fc tienen afinidad por un FcγR que es entre 5 veces y 300 veces mayor que la del polipéptido de Fc parenteral. En un caso, dichas variantes de Fc comprenden al menos una sustitución de aminoácido en una posición seleccionada de entre el grupo que consiste en: 230, 233, 234, 235, 239, 240, 243, 264, 266, 272, 274, 275, 276, 278, 302, 318, 324, 325, 326, 328, 330, 332, y 335, en el que la numeración de los residuos en la región Fc es la del índice EU como en Kabat. En un caso preferido, dichas variantes de Fc comprenden al menos una sustitución de aminoácido seleccionado del grupo que consiste en: P230A, E233D, L234E, L234Y, L234I, L235D, L235S, L235Y, L235I, S239D, S239E, S239N, S239Q, S239T, V240I, V240M, F243L, V264I, V264T, V264Y, V266I, E272Y, K274T, K274E, K274R, K274L, K274Y, F275W, N276L, Y278T, V302I, E318R, S324D, S324I, S324V, N325T, K326I, K326T, L328M, L328I, L328Q, L328D, L328V, L328T, A330Y, A330L, A330I, I332D, I332E, I332N, I332Q, T335D, T335R, y T335Y, en el que la numeración de los residuos en la región Fc es la del índice EU como en Kabat. En un caso principalmente preferido, dichas variantes de Fc se seleccionan del grupo que consiste en V264I, F243L/V264I, L328M, I332E, L328M/I332E, V264I/I332E, S298A/I332E, S239E/I332E, S239Q/I332E, S239E, A330Y, I332D, L328I/I332E, L328Q/I332E, V264T, V240I, V266I, S239D, S239D/I332D, S239D/I332E, S239D/I332N, S239D/I332Q, S239E/I332D, S239E/I332N, S239E/I332Q, S239N/I332D, S239N/I332E, S239Q/I332D, A330Y/I332E, V264I/A330Y/I332E, A330L/I332E, V264I/A330L/I332E, L234E, L234Y, L234I, L235D, L235S, L235Y, L235I, S239T, V240M, V264Y, A330I, N325T, L328D/I332E, L328V/I332E, L328T/I332E, L328I/I332E, S239E/V264I/I332E, S239Q/V264I/I332E, S239E/V264I/A330Y/I332E, S239D/A330Y/I332E, S239N/A330Y/I332E, S239D/A330L/I332E, S239N/A330L/I332E, V264I/S298A/I332E, S239D/S298A/I332E, S239N/S298A/I332E, S239D/V264I/I332E, S239D/V264I/S298A/I332E, S239D/V264I/A330L/I332E, S239D/I332E/A330I, P230A, P230A/E233D/I332E, E272Y, K274T, K274E, K274R, K274L, K274Y, F275W, N276L, Y278T, V302I, E318R, S324D, S324I, S324V, K326I, K326T, T335D, T335R, T335Y, V240I/V266I, S239D/A330Y/I332E/L234I, S239D/A330Y/I332E/L235D, S239D/A330Y/I332E/V240I, S239D/A330Y/I332E/V264T, S239D/A330Y/I332E/K326E, y S239D/A330Y/I332E/K326T, en el que la numeración de los residuos en la región Fc es la del índice EU como en Kabat.

Un objeto adicional de la presente descripción es proporcionar una variante de Fc que tienen una relación de veces de FcγRIIIa:veces de FcγRIIb mayor que 1:1. En un caso, dichas variantes de Fc tienen una relación de veces de FcγRIIIa:veces de FcγRIIb mayor que 11:1. En un caso preferido, dichas variantes de Fc tienen una relación de veces de FcγRIIIa:veces de FcγRIIb entre 11:1 y 86:1. En un caso, dichas variantes de Fc comprenden al menos una sustitución de aminoácido en una posición seleccionada de entre el grupo que consiste en: 234, 235, 239, 240, 264, 296, 330, y 1332, en el que la numeración de los residuos en el Fc región es la del índice EU de Kabat. En un caso preferido, dichas variantes de Fc comprenden al menos una sustitución de aminoácido seleccionada del grupo que consiste en: L234Y, L234I, L235I, S239D, S239E, S239N, S239Q, V240A, V240M, V264I, V264Y, Y296Q, A330L, A330Y, A3301, 1332D y 1332E, en el que la numeración de los residuos en la región Fc es la del índice EU como en Kabat. En un caso principalmente preferida, dichas variantes de Fc se seleccionan del grupo constituido por: 1332E, V264I/I332E, S239E/I332E, S239Q/I332E, Y296Q, A330L, A330Y, I332D, S239D, S239D/I332E, A330Y/I332E, V264I/A330Y/I332E, A330L/I332E, V264I/A330L/I332E, L234Y, L234I, L235I, V240A, V240M, V264Y, A330I, S239D/A330L/I332E, S239D/S298A/I332E, S239N/S298A/I332E, S239D/V264I/I332E, S239D/V264I/S298A/I332E, S239D y/V264I/A330L/I332E, en el que la numeración de los residuos en la región Fc es la del índice EU como en Kabat.

Un objeto adicional de la presente descripción es proporcionar variantes de Fc que median la función efectora de manera más eficaz en presencia de células efectoras. En un caso, dichas variantes de Fc median ADCC que es mayor que la mediada por el polipéptido Fc parenteral. En un caso preferido, dichas variantes de Fc median ADCC que es más de 5 veces mayor que la mediada por el polipéptido Fc parenteral. En un caso principalmente preferido, dicho variantes Fc median ADCC que está entre 5 veces y 1.000 veces mayor que la mediada por el polipéptido Fc

parenteral. En una realización, dichas variantes de Fc comprenden al menos una sustitución de aminoácido en una posición seleccionada de entre el grupo que consiste en: 230, 233, 234, 235, 239, 240, 243, 264, 266, 272, 274, 275, 276, 278, 302, 318, 324, 325, 326, 328, 330, 332, y 335, en el que la numeración de los residuos en la región Fc es la del índice EU como en Kabat. En un caso preferido, dichas variantes de Fc comprenden al menos una sustitución de aminoácido seleccionada del grupo que consiste en: P230A, E233D, L234E, L234Y, L234I, L235D, L235S, L235Y, L235I, S239D, S239E, S239N, S239Q, S239T, V240I, V240M, F243L, V264I, V264T, V264Y, V266I, E272Y, K274T, K274E, K274R, K274L, K274Y, F275W, N276L, Y278T, V302I, E318R, S324D, S324I, S324V, N325T, K326I, K326T, L328M, L328I, L328Q, L328D, L328V, L328T, A330Y, A330L, A3301, 1332D, I332E, I332N, I332Q, T335D, T335R, y T335Y, en el que la numeración de los residuos en la región Fc es la del índice EU como en Kabat. En un caso principalmente preferido, dichas variantes de Fc se seleccionan del grupo que consiste en: V264I, F243L/V264I, L328M, I332E, L328M/I332E, V264I/I332E, S298A/I332E, S239E/I332E, S239Q/I332E, S239E, A330Y, I332D, L328I/I332E, L328Q/I332E, V264T, V240I, V266I, S239D, S239D/I332D, S239D/I332E, S239D/I332N, S239D/I332Q, S239E/I332D, S239E/I332N, S239E/I332Q, S239N/I332D , S239N/I332E, S239Q/I332D, A330Y/I332E, V264I/A330Y/I332E, A330L/I332E, V264I/A330L/I332E, L234E, L234Y, L234I, L235D, L235S, L235Y, L235I, S239T, V240M, V264Y, A330I , N325T, L328D/I332E, L328V/I332E, L328T/I332E, L328I/I332E, S239E/V264I/I332E, S239Q/V264I/I332E, S239E/V264I/A330Y/I332E, S239D/A330Y/I332E, S239N/A330Y/I332E , S239D/A330L/I332E, S239N/A330L/I332E, V264I/S298A/I332E, S239D/S298A/I332E, S239N/S298A/I332E, S239D/V264I/I332E, S239D/V264I/S298A11332E, S239D/V264I/A330L/I332E, S239D/I332E/A330I, P230A, P230A/E233D/I332E, E272Y, K274T, K274E, K274R, K274L, K274Y, F275W, N276L, Y278T, V302I, E318R, S324D, S324I, S324V, K326I, K326T, T335D, T335R, T335Y, V2401N266I, S239D/A330Y/I332E/L234I, S239D/A330Y/I332E/L235D, S239D/A330Y/I332E/V2401, S239D/A330Y/I332E/V264T, S239D/A330Y/I332E/K326E, y S239D/A330Y/I332E/K326T, en el que la numeración de los residuos en la región Fc es la del índice EU como en Kabat.

Un objeto adicional de la presente descripción es proporcionar variantes de Fc que se unen con afinidad más débil a uno o más FcγRs. En un caso, dichas variantes de Fc comprenden al menos una sustitución de aminoácido en una posición seleccionada de entre el grupo que consiste en: 230, 233, 234, 235, 239, 240, 241, 243, 244, 245, 247, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 269, 270, 273, 276, 278, 283, 296, 297, 298, 299, 313, 323, 324, 325, 327, 328, 329, 330, 332, y 333, en donde la numeración de los residuos en la región Fc es la del índice EU de Kabat. En un caso preferido, dichas variantes de Fc comprenden una sustitución de aminoácido en una posición seleccionada de entre el grupo que consiste en: P230A, E233D, L234D, L234N, L234Q, L234T, L234H, L234V, L234F, L234I, L235N, L235Q, L235T, L235H, L235V, L235F, L235D, S239E, S239N, S239Q, S239F, S239H, S239Y, V240A, V240T, F241W, F241L, F241Y, F241 E, F241R, F243W, F243L F243Y, F243R, F243Q, P244H, P245A, P247V, P247G , V2621, V262A, V262T, V262E, V263I, V263A, V263T, V263M, V264L, V264I, V264W, V264T, V264R, V264F, V264M, V264E, D265G, D265N, D265Q, D265Y, D265F, D265V, D265I, D265L, D265H , D265T, V266A, V266T, V266M, S267Q, S267L, E269H, E269Y, E269F, E269R, E269T, E269L, E269N, D270Q, D270T, D270H, V273I, N276S, N276E, N276R, N276Y, Y278E, Y278W, E283R, Y296E , Y296Q, Y296D, Y296N, Y296S, Y296T, Y296L, Y296I, Y296H, N297S, N297D, N297E, A298H, T299I, T299L, T299A, T299S, T299V, T299H, T299F, T299E, W313F, V323i, S324R, S324L, S324Y , N325Q, N325L, N325I, N325D, N325E, N325A, N325V, N325H, A327N, A327L, L328M, 328E, L328N, L328Q, A327D, A327T, L328F, L328H, L328A, L328N, L328H, P329F, A330L, A330V, A330F, A330R, A330H, I332N, I332Q, I332T, I332H, I332Y, I332A, E333T, y E333H, en el que la numeración de los residuos en la región Fc es la del índice EU como en Kabat. En un caso principalmente preferido, dichas variantes de Fc se seleccionan del grupo que consiste en: V264L, F241W, F241L, F243W, F243L, F241L/F243L/V2621N264I, F241W/F243W, F241W/F243W/V262A/V264A, F241L/V262I, F243L/V262I/V264T, F241Y/F243Y/V262T/V264T, F241E/F243R/V262E/V264R, F241E/F243Q/V262T/V264E, F241R/F243Q/V262T/V264R, F241E/F243Y/V262T/V264R, L328M, L328E, L328F, P244H, P245A, P247V, W313F, P244H/P245A/P247V, P247G, F241E/F243R/V262E/V264R/I332E, F241E/F243Y/V262T/V264R/I332E, D265G, D265N, S239E/D265G, S239E/D265N , S239E/D265Q, Y296E, Y296Q, T299I, A327N, S267Q/A327S, S267L/A327S, A327L, P329F, A330L, N297S, N297D, N297S/I332E, I332N, I332Q, V264F, V2631, T299A, T299S, T299V, N325Q , N325L, N325I, S239N, S239F, S239N/I332N, S239N/I332Q, S239Q/I332N, S239Q/I332Q, Y296D, Y296N, L234D, L234N, L234Q, L234T, L234H, L234V, L234F, L235N, L235Q, L235T, L235H , L235V, L235F, S239H, S239Y, V240A, V263T, V263M, V264M, V266A, V266T, V266M, E269H, E269Y, E269F, E269R, Y296S, Y296T, Y296L, Y296I , A298H, T299H, A330V, A330F, A330R, A330H, N325D, N325E, N325A, N325V, N325H, L328E/I332E, L328N/I332E, L328Q/I332E, L328H/I332E, L328A, I332T, I332H, I332Y, I332A, L328N , L328H, E233D, P230A/E233D, E269T, E269L, E269N, D270Q, D270T, D270H, V273I, N276S, N276E, N276R, N276Y, Y278E, Y278W, E283R, V323i, S324R, S324L, S324Y, A327D, A327T, E333T , E333H, y L234I/L235D, en el que la numeración de los residuos en la región Fc es la del índice EU como en Kabat.

Un objeto adicional de la presente invención es proporcionar variantes de Fc que median la ADCC en presencia de células efectoras menos eficazmente. En un caso, dichas variantes de Fc comprenden al menos una sustitución de aminoácido en una posición seleccionada de entre el grupo que consiste en: 230, 233, 234, 235, 239, 240, 241, 243, 244, 245, 247, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 269, 270, 273, 276, 278, 283, 296, 297, 298, 299, 313, 323, 324, 325, 327, 328, 329, 330, 332, y 333, en donde la numeración de los residuos en la región Fc es la del índice EU de Kabat. En un caso preferido, dichas variantes de Fc comprenden al menos una sustitución de aminoácido en una posición seleccionada de entre el grupo que consiste en: P230A, E233D, L234D, L234N, L234Q, L234T, L234H, L234V, L234F, L234I, L235N, L235Q, L235T , L235H, L235V, L235F, L235D, S239E, S239N, S239Q, S239F, S239H,

S239Y, V240A, V240T, F241W, F241L, F241Y, F241E, F241R, F243W, F243L F243Y, F243R, F243Q, P244H, P245A, P247V, P247G, V262I, V262A, V262T, V262E, V263I, V263A, V263T, V263M, V264L, V2641, V264W, V264T, V264R, V264F, V264M, V264E, D265G, D265N, D265Q, D265Y, D265F, D265V, D265I, D265L, D265H, D265T, V266A, V266T, V266M, S267Q, S267L, E269H, E269Y, E269F, E269R, E269T, E269L, E269N, D270Q, D270T, D270H, V273I, N276S, N276E, N276R, N276Y, Y278E, Y278W, E283R, Y296E, Y296Q, Y296D, Y296N, Y296S, Y296T, Y296L, Y296I, Y296H, N297S, N297D, N297E, A298H, T299I, T299L, T299A, T299S, T299V, T299H, T299F, T299E, W313F, V323i, S324R, S324L, S324Y, N325Q, N325L, N325I, N325D, N325E, N325A, N325V, N325H, A327 N, A327L, L328M, I328E, L328N, L328Q, A327D, A327T, L328F, L328H, L328A, L328N, L328H, P329F, A330L, A330V, A330F, A330R, A330H, I332N, I332Q, I332T, I332H, I332Y, I332A, E333T, y E333H, en el que la numeración de los residuos en la región Fc es la del índice EU como en Kabat. En un caso principalmente preferido, dichas variantes de Fc se seleccionan del grupo que consiste en: V264L, F241W, F241L, F243W, F243L, F241L/F243L/V2621N264I, F241W/F243W, F241 W/F243W/V262A/V264A, F241 L/V262I, F243L/V262I/N264W, F241 Y/F243Y/V262T/V264T, F241 E/F243R/V262E/V264R, F241 E/F243Q/V262T/V264E, F241R/F243Q/V262T/V264R, F241E/F243Y/V262T/V264R, L328M, L328E, L328F, P244H, P245A, P247V, W313F, P244H/P245A/P247V, P247G, F241E/F243R/V262E/V264R/I332E, F241 E/F243Y/V262T/V264R/I332E, D265G, D265N, S239E/D265G, S239E/D265N, S239E/D265Q, Y296E, Y296Q, T299I, A327N, S267Q/A327S, S267L/A327S, A327L, P329F, A330L, N297S, N297D, N297S/I332E, 1332N, I332Q, V264F, V263I, T299A, T299S , T299V, N325Q, N325L, N3251, S239N, S239F, S239N/I332N, S239N/I332Q, S239Q/I332N, S239Q/I332Q, Y296D, Y296N, L234D, L234N, L234Q, L234T, L234H, L234V, L234F, L235N, L235Q, L235T, L235H, L235V, L235F, S239H, S239Y, V240A, V263T, V263M, V264M, V266A, V266T, V266M, E269H, E269Y, E269F, E269R, Y296S, Y296T, Y296L, Y296I, A298H, T299H, A330V, A330F, A330R, A330H, N325D, N325E, N325A, N325V, N325H, L328E/I332E, L328N/I332E, L328Q/I332E, L328H/I332E, L328A, I332T, 1332H, I332Y, I332A, L328N, L328H, E233D, P230A/E233D, E269T, E269L, E269N, D270Q, D270T, D270H, V273I, N276S, N276E, N276R, N276Y, Y278E, Y278W, E283R, V323I, S324R, S324L, S324Y, A327D, A327T, E333T, E333H, y L234I/L235D, en el que la numeración de los residuos en la región Fc es la del índice EU como en Kabat.

Un objeto adicional de la presente invención es proporcionar variantes de Fc que tienen mejores propiedades de función y/o solución en comparación con la forma no glicosilada del polipéptido Fc parenteral. La funcionalidad mejorada en el presente documento incluye, pero no se limita a la afinidad de unión a un ligando de Fc. Las mejores propiedades de solución en el presente documento incluyen, pero no se limitan, a la estabilidad y la solubilidad. En un caso, dichas variantes Fc no glicosiladas se unen a un FcγR con una afinidad que es comparable o mejor que el polipéptido Fc parenteral glicosilado. En un caso alternativo, dichas variantes de Fc se unen a un FcγR con una afinidad que está dentro de 0,4 veces de la forma glicosilada del polipéptido de Fc parenteral. En un caso, dichas variantes de Fc comprenden al menos una sustitución de aminoácido en una posición seleccionada de entre el grupo que consiste en: 239, 241, 243, 262, 264, 265, 296, 297, 330, y 332, en el que la numeración de los residuos en la región Fc es la del índice EU de Kabat. En un caso preferido, dichas variantes de Fc comprenden una sustitución de aminoácido seleccionada del grupo que consiste en: S239D, S239E, F241Y, F243Y, V262T, V264T, V264E, D265Y, D265H, D265V, D265I, Y296N, N297D, A330Y, y 1332E, en el que la numeración de los residuos en la región Fc es la del índice EU como en Kabat. En un caso principalmente preferido, dichas variantes de Fc se seleccionan del grupo que consiste en: N297D/I332E, F241Y/F243Y/V262T/V264T/N297D/I332E, S239D/N297D/I332E, S239E/N297D/I332E, S239D/D265Y/N297D/I332E, S239D/D265H/N297D/I332E, V264E/N297D/I332E, Y296N/N297D/I332E, N297D/A330Y/I332E, S239D/D265V/N297D/I332E, S239D/D265I/N297D/I332E, y N297D/S298A/A330Y/I332E, en el que la numeración de los residuos en la región Fc es la del índice EU como en Kabat.

La presente descripción proporciona también métodos para variantes de Fc optimizadas modificadas. Un objeto de la presente descripción es proporcionar estrategias de diseño que se pueden utilizar para guiar la optimización de Fc. Un objeto adicional de la presente invención es proporcionar métodos de cribado computacionales que pueden usarse para diseñar variantes de Fc. Un objeto adicional de la presente descripción es proporcionar métodos para generar bibliotecas para pruebas experimentales. Un objeto adicional de la presente descripción es proporcionar métodos de producción y de detección experimentales para obtener variantes de Fc optimizadas.

La presente invención proporciona ácidos nucleicos aislados que codifican las variantes de Fc, como se define en las reivindicaciones.

La presente descripción proporciona vectores que comprenden dichos ácidos nucleicos, opcionalmente, unidos operativamente a secuencias de control. La presente invención proporciona células huésped, como se define en las reivindicaciones, que contienen los vectores, y métodos para producir y, opcionalmente, recuperar las variantes de Fc, como se define en este documento.

La presente invención proporciona nuevos anticuerpos y fusiones de Fc que comprenden las variantes de Fc descritas en este documento. Dichos nuevos anticuerpos y fusiones de Fc pueden encontrar uso en un producto terapéutico.

La presente descripción proporciona composiciones que comprenden anticuerpos y fusiones de Fc que comprenden las variantes de Fc descritas en el presente documento, y un vehículo o diluyente fisiológicamente o farmacéuticamente aceptable.

La presente descripción contempla usos terapéuticos y de diagnóstico para los anticuerpos y fusiones de Fc que comprenden las variantes de Fc descritas en este documento.

Los siguientes párrafos numerados (párrafos) contienen otros enunciados de varios casos de la descripción:

1. Una proteína variante que comprende una variante de Fc de un polipéptido Fc natural, comprendiendo dicha variante Fc al menos una modificación de aminoácidos en la región Fc de dicho polipéptido Fc natural, en el que dicha proteína variante presenta una unión alterada a un FcγR cuando se compara con el polipéptido Fc natural.

2. Una proteína variante según el párrafo 1, en la que dicha variante Fc comprende al menos una sustitución en una posición correspondiente a una posición Fc seleccionada del grupo que consiste en: 230, 240, 244, 245, 247, 262, 263, 266, 273, 275, 299, 302, 313, 323, 325, 328 y 332.

3. Una proteína variante de acuerdo con el párrafo 1, en la que dicha unión alterada es un aumento en la afinidad de dicha variante Fc a dicho FcγR.

4. Una proteína variante según el párrafo 3, en la que dicha variante Fc se une con mayor afinidad a un FcγR de ratón.

5. Una proteína variante según el párrafo 3, en la que dicho FcγR es un receptor Fc humano seleccionado del grupo que consiste en FcγRI, FcγRIIa, FcγRIIb, FcγRIIc y FcγRIIIa.

6. Una proteína variante de acuerdo con el párrafo 3, en la que dicha variante Fc se une con mayor afinidad a FcγRI humano y FcγRIIIa, pero presenta una afinidad inalterada a un receptor humano seleccionado del grupo que consiste en FcγRIIa, FcγRIIb y FcγRIIc.

7. Una proteína variante de acuerdo con el párrafo 6, en la que dicha variante Fc presenta una afinidad inalterada frente a FcγRIIa, FcγRIIb y FcγRIIc.

8. Una proteína variante de acuerdo con el párrafo 3, en la que el incremento de afinidad para la unión a uno o más FcγRII humanos es mayor que el aumento de afinidad para la unión a FcγRI humano y FγRIIIa.

9. Una proteína variante de acuerdo con el párrafo 3, en la que el aumento de afinidad es el mismo para la unión a FcγRIIa, FcγRIIb y FcγRIIc.

10. Una proteína variante según el párrafo 9, en la que el aumento de afinidad para la unión a FcγRIIc es mayor que el aumento de afinidad para la unión a FcγRIIb.

11. Una proteína variante de acuerdo con el párrafo 3, en la que dicha variante Fc se une con mayor afinidad a FcγRIIa humano, pero exhibe una afinidad inalterada con un receptor humano seleccionado del grupo que consiste en FcγRI, FcγRIIb, FcγRIIc y FγRIIIa.

12. Una proteína variante de acuerdo con el párrafo 11, en la que dicha variante Fc exhibe una afinidad inalterada con FcγRI, FcγRIIb, FcγRIIc y FγRIIIa.

13. Una proteína variante según cualquiera de los párrafos 1 a 12, en la que dicha variante Fc se une con mayor afinidad a FcRn.

14. Una proteína variante de acuerdo con cualquiera de los párrafos 1 a 12, en la que dicha variante Fc se une con una afinidad inalterada a FcRn.

15. Una proteína variante de acuerdo con cualquiera de los párrafos 1 a 12, en la que dicha variante Fc se une con afinidad reducida a FcRn.

16. Una proteína variante según cualquiera de los párrafos 1 a 12, en la que dicha variante Fc se une con mayor afinidad a C1q.

17. Una proteína variante de acuerdo con cualquiera de los párrafos 1 a 12, en la que dicha variante Fc se une con una afinidad no alterada a C1q.

18. Una proteína variante de acuerdo con el párrafo 1, en la que dicha variante Fc comprende además una glicoforma modificada genéticamente.

19. Una proteína variante según el párrafo 18, en la que dicha glicoforma modificada genéticamente comprende un nivel alterado de oligosacáridos de fucosilación o bisección en comparación con el polipéptido Fc parental.

20. Una proteína variante según el párrafo 18, en la que dicha glicoforma modificada genéticamente mejora la función efectora.

21. Una proteína variante que comprende una variante Fc de un polipéptido Fc natural, comprendiendo dicha variante Fc al menos una modificación de aminoácidos en la región Fc de dicho polipéptido Fc natural, en la que dicha variante Fc modula la función efectora en comparación con el polipéptido Fc parenteral.

22. Una proteína variante de acuerdo con el párrafo 21, en la que dicha función efectora es ADCC.

23. Una proteína variante según el párrafo 22, en la que dicha variante Fc mejora ADCC en presencia de células efectoras humanas en comparación con dicho polipéptido Fc natural.

24. Una proteína variante de acuerdo con el párrafo 2, en la que dicha mejora de ADCC es un aumento de potencia tal que la EC50 de dicha variante Fc es aproximadamente 5 veces mayor que la de dicho polipéptido Fc parental.

25. Una proteína variante de acuerdo con el párrafo 23, en la que dicha mejora de ADCC es una mejora en la potencia de tal manera que la EC50 de dicha variante Fc está entre aproximadamente 5 veces y 1000 veces mayor que la de dicho polipéptido Fc parenteral.

26. Una proteína variante de acuerdo con el párrafo 23, en la que dicha mejora de ADCC es un aumento de la eficacia de tal manera que el ADCC máximo es aproximadamente 2 veces mayor que el de dicho polipéptido Fc parenteral.

27. Una proteína variante según el párrafo 26, en la que dicha variante Fc mejora ADCC en presencia de células efectoras de ratón en comparación con dicho polipéptido Fc natural.

28. Una proteína variante según el párrafo 21, en la que dicha función efectora es ADCP.

29. Una proteína variante según el párrafo 28, en la que dicha variante Fc mejora ADCP en comparación con dicho polipéptido Fc natural.

30. Una proteína variante de acuerdo con los párrafos 25 ó 29, en la que CDC no se ve afectada.

31. Una proteína variante de acuerdo con los párrafos 25 ó 29, en la que CDC es eliminada.

32. Una proteína variante según el párrafo 1 que tiene especificidad para un antígeno diana seleccionado del grupo que consiste en CD20, CD22, CD33, CD52, Her2/neu, EGFR, EpCAM, MUC1, GD3, CEA, CA 125, HLA-DR, TNFalfa y VEGF.

33. Una proteína variante de acuerdo con el párrafo 1 ó 21 que comprende una modificación seleccionada del grupo que consiste en 239D, 239E, 239N, 239Q, 239T, 240I, 240M, 264I, 264T, 264Y, 297D, 330I, 330L, 330Y, 332D, 332E, 332N, 332Q, A231E, A231G, A231K, A231P, A231Y, A298H, A327D, A327E, A327F, A327H, A327I, A327K, A327L, A327M, A327N, A327P, A327R, A327T, A327T, A327V, A327W, A327Y, A330E, A330F, A330F, A330G, A330H, A330I, A330L, A330L/I332E, A330M, A330N, A330P, A330R, A330S, A330T, A330V, A330W, A330Y, A330Y, A330Y/I332E, D221K, D221Y, D249H, D249Q, D249Y, D265F, D265F/N297E/I332E, D265G, D265H, D265I, D265K, D265L, D265M, D265N, D265P, D265Q, D265R, D265S, D265T, D265V, D265W, D265Y, D265Y/N297D/I332E, D265Y/N297D/T299L/I332E, D270F, D270G, D270H, D270I, D270L, D270M, D270P, D270Q, D270R, D270S, D270T, D270W, D270Y, D280G, D280H, D280K, D280L, D280P, D280Q, D280W, D280Y, E233A, E233D, E233F, E233G, E233H, E233I, E233K, E233L, E233M, E233N, E233Q, E233R, E233S, E233T, E233V, E233W, E233Y, E258H, E258S, E258Y, E269F, E269G, E269H, E269I, E269K, E269L, E269M, E269N, E269P, E269R, E269S, E269T, E269V, E269W, E269Y, E272D, E272F, E272G, E272H, E272I, E272K, E272L, E272M, E272P, E272R, E272S, E272T, E272V, E272W, E272Y, E283G, E283H, E283K, E283L, E283P, E283R, E283Y, E293F, E293G, E293H, E293I, E293L, E293M, E293N, E293P, E293R, E293S, E293T, E293V, E293W, E293Y, E294F, E294G, E294H, E294I, E294K, E294L, E294M, E294N, E294P, E294R, E294S, E294T, E294V, E294W, E294Y, E318H, E318L, E318Q, E318R, E318Y, E333A, E333F, E333H, E333I, E333L, E333M, E333P, E333S, E333T, E333Y, E333Y, F241 D, F241 E, F241E/F243Q/V262T/V264E, F241E/F243Q/V262T/V264E/I332E, F241E/F243R/V262E/V264R, F241E/F243R/V262E/V264R/I332E, F241E/F243Y/V262T/V264R, F241E/F243Y/V262T/V264R/I332E, F241L, F241L/F243L/V262I/V264I, F241L/V262I, F241R, F241R/F243Q/V262T/V264R, F241R/F243Q/V262T/V264R/I332E, F241W, F241W/F243W, F241W/F243W/V262A/V264A, F241Y, F241Y/F243Y/V262T/V264T, F241Y/F243Y/V262T/V264T/N297D/I332E, F243E, F243L, F243L/V262I/V264W, F243L/V264I, F243Q, F243R, F243W, F243W, F243Y, F275L, F275W, F275W, G236A, G236D, G236E, G236F, G236H, G236I, G236K, G236L, G236M, G236N, G236P, G236Q, G236R, G236S, G236T, G236V, G236W, G236Y, G237D, G237E, G237F, G237H, G237I, G237K, G237L, G237M, G237N, G237P, G237Q, G237R, G237S, G237T, G237V, G237W, G237Y, G281 D, G281 K, G281P, G281 Y, H224E, H224Y, H268D, H268E, H268F, H268G, H268I, H268K, H268L, H268M, H268P, H268Q, H268R, H268T, H268V, H268W, H285D, H285E, H285K, H285Q, H285W, H285Y, I332A, I332D, I332E, 1332F, I332G, I332H, I332K, I332L, I332M, I332N, I332N, I332P, I332Q, I332R, I332S, I332T, I332V, I332W, I332Y, I332Y, I336E, I336K, I336Y, K222E, K222Y, K246D, K246E, K246H, K246Y, K274D, K274E, K274F, K274G, K274H, K274I, K274L, K274M, K274N, K274P, K274R, K274S, K274T, K274V, K274W, K274Y, K288D, K288E, K288Y, K290D, K290G, K290H, K290L, K290N, K290S, K290T, K290W, K290Y, K317E, K317Q, K320D, K320F, K320G, K320H, K320I, K320L, K320N, K320P, K320S, K320T, K320T, K320V, K320W, K320Y, K322D, K322F, K322G, K322H, K322I, K322P, K322S, K322T,

K322V, K322W, K322Y, K325E, K326A, K326D, K326I, K326I, K326L, K326N, K326P, K326Q, K326S, K326T, K326T, K326W, K326Y, K334A, K334E, K334F, K334I, K334P, K334T, L234A, L234D, L234E, L234F, L234G, L234H, L234I, L234I, L234I/L235D, L234K, L234M, L234N, L234P, L234Q, L234R, L234S, L234T, L234V, L234W, L234Y, L235A, L235D, L235E, L235F, L235F, L235G, L235H, L235I, L235K, L235M, L235N, L235P, L235Q, L235R, L235S, L235T, L235V, L235W, L235Y, L328A, L328D, L328D/I332E, L328E, L328E/I332E, L328F, L328G, L328H, L328H/I332E, L328I, L328I/I332E, L328K, L328M, L328M/I332E, L328N, L328N/I332E, L328P, L328Q, L328Q, L328Q/I332E, L328R, L328S, L328T, L328T/I332E, L328V, L328V/I332E, L328W, L328Y, M428F M428L, N276D, N276E, N276F, N276G, N276H, N276I, N276L, N276M, N276P, N276R, N276S, N276T, N276V, N276W, N276Y, N276Y, N286E, N286G, N286P, N286Y, N297D, N297D/A330Y/I332E, N297D/I332E, N297D/I332E/S239D/A330L, N297D/S298A/A330Y/I332E, N297D/T299E/I332E, N297D/T299F/I332E, N297D/T299H/I332E, N297D/T299I/I332E, N297D/T299L/I332E, N297D/T299V/I332E, N297E, N297E/I332E, N297F, N297G, N297H, N297I, N297K, N297L, N297M, N297P, N297Q, N297R, N297S, N297S, N297S/I332E, N297T, N297V, N297W, N297Y, N325A, N325D, N325E, N325F, N325G, N325H, N325I, N325K, N325L, N325M, N325P, N325Q, N325Q, N325R, N325S, N325T, N325V, N325W, N325Y, P227E, P227G, P227K, P227Y, P228E, P228G, P228K, P228Y, P230A, P230A/E233D, P230A/E233D/I32E, P230E, P230G, P230Y, P232E, P232G, P232K, P232Y, P238D, P238E, P238F, P238G, P238H, P238I, P238K, P238L, P238M, P238N, P238Q, P238R, P238S, P238T, P238V, P238W, P238Y, P244H, P244H/P245A/P247V, P245A, P247G, P247V, P271A, P271D, P271E, P271F, P271G, P271H, P271I, P271K, P271L, P271M, P271N, P271Q, P271R, P271S, P271T, P271V, P271W, P271Y, P291D, P291E, P291G, P291H, P291I, P291Q, P291T, P329D, P329E, P329F, P329F, P329G, P329H, P329I, P329K, P329L, P329M, P329N, P329Q, P329R, P329S, P329T, P329V, P329W, P329Y, P331 D, P331 F, P331 H, P331 H, P331I, P331L, P331M, P331Q, P331R, P331T, P331V, P331W, P331Y, Q295D, Q295E, Q295F, Q295G, Q295H, Q295I, Q295K, Q295M, Q295N, Q295P, Q295R, Q295S, Q295T, Q295V, Q295W, Q295Y, R255E, R255Y, R292D, R292E, R292T, R292Y, R301D, R301E, R301H, R301Y, S239D, S239D/A330L/I332E, S239D/A330Y/I332E, 3239D/A330Y/I332E/K326E, S239D/A330Y/I332E/K326T, S239D/A330Y/I332E/L234I, S239D/A330Y/I332E/L235D, S239D/A330Y/I332E/V240I, S239D/A330Y/I332E/V264T, S239D/A330Y/I332E/V266I, S239D/D265F/N297D/I332E, S239D/D265H/N297D/I332E, S239D/D265I/N297D/I332E, S239D/D265L/N297D/I332E, S239D/D265T/N297D/I332E, S239D/D265V/N297D/I332E, S239D/D265Y/N297D/I332E, S239D/I332D, S239D/I332E, S239D/I332E/A330I, S239D/I332N, S239D/I332Q, S239D/N297D/I332E, S239D/N297D/I332E/A330Y, S239D/N297D/I332E/A330Y/F241S/F243H/V262T/V264T, S239D/N297D/I332E/K326E, S239D/N297D/I332E/L235D, S239D/S298A/I332E, S239D/V264I/A330L/I332E, S239D/V264I/I332E, S239D/V264I/S298A/I332E, S239E, S239E/D265G, S239E/D265N, S239E/D265Q, S239E/I332D, S239E/I332E, S239E/I332N, S239E/I332Q, S239E/N297D/I332E, S239E/V264I/A330Y/I332E, S239E/V264I/I332E, S239E/V264I/S298A/A330Y/I332E, S239F, S239G, S239H, S239I, S239K, S239L, S239M, S239N, S239N/A330L/I332E, S239N/A330Y/I332E, S239N/I332D, S239N/I332E, S239N/I332N, S239N/I332Q, S239N/S298A/I332E, S239P, S239Q, S239Q/I332D, S239Q/I332E, S239Q/I332N, S239Q/I332Q, S239Q/V264I/I332E, S239R, S239T, S239V, S239W, S239Y, S267D, S267E, S267F, S267H, S267I, S267K, S267L, S267L/A327S, S267M, S267N, S267P, S267Q, S267Q/A327S, S267R, S267T, S267V, S267W, S267Y, S298A, S298A/I332E, S298D, S298E, S298F, S298I, S298K, S298M, S298N, S298Q, S298R, S298V, S298W, S298Y, S304D, S304H, S304L, S304N, S304T, S324D, S324F, S324G, S324H, S324I, S324L, S324M, S324P, S324R, S324T, S324V, S324W, S324Y, S337E, S337H. S337N, T223E, T223K, T225, T225E, T225K, T225W, T250E, T250Q, T260D, T260E, T260H, T260Y, T299A, T299D, T299E, T299F, T299G, T299H, T299I, T299K, T299L, T299L, T299M, T299N, T299P, T299Q, T299R, T299S, T299V, T299W, T299Y, T335D, T335F, T335G, T335H, T335I, T335L, T335M, T335N, T335P, T335R, T335S, T335V, T335W, T335Y, V240A, V240I, V240/V266I, V240M, V240T, V262A, V262E, V262F, V262I, V262T, V263A, V263I, V263M, V263T, V264D, V264E, V264E/N297D/I332E, V264F, V264G, V264H, V264I, V264I/A330L/I332E, V264I/A330Y/I332E,V264I/I332E, V264I/S298A/I332E, V264K, V264L, V264M, V264N, V264P, V264Q, V264R, V264S, V264T, V264W, V264Y, V266A, V266I, V266M, V266T, V266T, V273I, V273I, V282E, V282G, V282K, V282P, V282Y, V284E, V284L, V284N, V284T, V284Y, V302I, V302I, V303D, V303E, V303Y, V305E, V305T, V305Y, V323I, V323I, W313F, Y278D, Y278E, Y278G, Y278H, Y278I, Y278K, Y278L, Y278M, Y278N, Y278P, Y278Q, Y278R, Y278S, Y278T, Y278V, Y278W, Y296A, Y296D, Y296D/N297D/I332E, Y296E, Y296E/N297D/I332E, Y296G, Y296H, Y296H/N297D/I332E, Y296I, Y296K, Y296L, Y296M, Y296N, Y296N/N297D/I332E, Y296Q, Y296Q/N297D/I332E, Y296R, Y296S, Y296T, Y296T/N297D/I332E, Y296V, Y300A, Y300D, Y300E, Y300G, Y300H, Y300I, Y300K, Y300L, Y300M, Y300N, Y300P, Y300Q, Y300R, Y300S, Y300T, Y300V, y Y300W.

34. Una proteína variante de acuerdo con el párrafo 1 ó 21, en la que dicha proteína variante es un anticuerpo que comprende dicha variante Fc.

35. Una proteína variante de acuerdo con el párrafo 1 ó 21, en la que dicha proteína variante es una proteína de fusión Fc que comprende dicha variante Fc.

36. Una composición farmacéutica que comprende una proteína variante de acuerdo con el párrafo 1 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

37. Un método para tratar un mamífero que necesita dicho tratamiento, que comprende administrar una proteína variante del párrafo 1.

Breve descripción de los dibujos

Figura 1. Estructura y función de los anticuerpos. Se muestra un modelo de un anticuerpo humano IgG1 de longitud completa, modelado utilizando una estructura de Fab humanizado de código de acceso pdb 1CE1 (James et al, 1999, J Mol Biol 289: 293-301) y una estructura de Fc de IgG1 humana del código de acceso pdb 1 DN2 (Delano et al, 2000, Science 287: 1279-1283). No se muestra la bisagra flexible que une las regiones Fab y Fc. IgG1 es un homodímero de heterodímeros, compuesto por dos cadenas ligeras y dos cadenas pesadas. Los dominios de Ig que comprenden el anticuerpo están marcados, e incluyen V_L y C_L para la cadena ligera, y V_H, Cgamma1 (Cγ1), Cgamma2 (Cγ2), y Cgamma3 (Cγ3) para la cadena pesada. La región Fc está marcada. Los sitios de unión para las proteínas relevantes están marcados, incluyendo el sitio de unión de antígeno en la región variable, y los sitios de unión para FcγRs, FcRn, C1q, y las proteínas A y G en la región Fc.

Figura 2. La estructura del complejo Fc/FcγRIIIb 1IIS. Fc se muestra como un diagrama de cintas de color gris, y FcγRIIIb se muestra como una cinta de color negro. El hidrato de carbono N297 se muestra como barras negras.

Figura 3. La secuencia de aminoácidos de la cadena pesada del anticuerpo alemtuzumab (Campath®, una marca registrada de Ilex Pharmaceuticals LP) (SEQ ID NO: 1), que ilustran las posiciones numeradas secuencialmente (2 líneas por encima de la secuencia de aminoácidos) y las posiciones numeradas según el índice de EU de Kabat (2 líneas por debajo de la secuencia de aminoácidos). Los inicios aproximados de los dominios de Ig VH1, Cγ1, la bisagra, Cγ2, y Cγ3 también están marcados por encima de la numeración secuencial. Los polimorfismos se han observado en un número de posiciones de Fc, incluyendo pero no limitado a Kabat 270, 272, 312, 315, 356, y 358, y por lo tanto pueden existir ligeras diferencias entre la secuencia que se presenta y las secuencias de la técnica anterior.

Figura 4. Residuos de la biblioteca experimental mapeados sobre la estructura del complejo Fc/FcγRIIIb 1IIS. Fc se muestra como un diagrama de cintas de color gris, y FcγRIIIb se muestra como una cinta de color negro. Los residuos de la biblioteca experimental se muestran en negro, el hidrato de carbono N297 se muestra en gris.

Figura 5. La secuencia de Fc de IgG1 humana (SEQ ID NO: 2) muestra las posiciones relevantes para el diseño de la biblioteca experimental de la variante Fc. La secuencia incluye la región bisagra, el dominio Cγ2, y el dominio Cγ3. Los números de los residuos están de acuerdo con el índice EU de Kabat. Las posiciones pertinentes a la biblioteca experimental están subrayadas. Debido a las mutaciones polimórficas observadas en un número de posiciones de Fc, pueden existir ligeras diferencias entre la secuencia que se presenta y las secuencias de la bibliografía.

Figura 6. Expresión de la variante de Fc y proteínas naturales (WT) de alemtuzumab en células 293T. Fueron co-transfectados plásmidos que contenían genes de cadena pesada de alemtuzumab (WT o variantes) con el plásmido que contenía el gen de cadena ligera alemtuzumab. Los medios se cosecharon 5 días después de la transfección. Para cada muestra transfectada, se cargaron 10 μl de medio en un gel de SDS-PAGE para el análisis Western. La sonda para el Western fue IgG humana anti-cabra conjugada con peroxidasa (Jackson Immuno-Research, catálogo nº 109-035-088). WT: alemtuzumab natural; 1-10: variantes de alemtuzumab. H y L indican la cadena pesada y la cadena ligera del anticuerpo, respectivamente.

Figura 7. Purificación del alemtuzumab usando cromatografía de proteína A. Se expresaron proteínas alemtuzumab WT en células 293T y se cosecharon los medios 5 días después de la transfección. Los medios se diluyeron 1:1 con PBS y se purificaron con proteína A (Pierce, nº de catálogo 20334). O: muestra original antes de la purificación; FT: flujo a través de; E: elución; C: muestra final concentrada. La imagen de la izquierda muestra un gel SDS-PAGE teñido con azul simple, y la de la derecha muestra una transferencia Western marcada utilizando IgG humana anti-cabra conjugada con peroxidasa.

Figura 8. Producción de anticuerpos desglicosilados. Se expresaron alemtuzumab natural y variantes en células 293T y se purificó con cromatografía de proteína A. Los anticuerpos se incubaron con péptido-N-glicosidasa (PNGasa F) a 37ºC durante 24 h. Para cada anticuerpo, una muestra tratada simulada (-PNGase F) se realizó en paralelo. WT: alemtuzumab natural; Nº 15, Nº 16, Nº 17, Nº 18, Nº 22: variantes alemtuzumab F241E/F243R/V262E/V264R, F241E/F243Q/V262T/V264E, F241R/F243Q/V262T/V264R, F241E/F243Y/V262T/V264R, y I332E, respectivamente. La migración más rápida de la PNGasa F tratada frente a las muestras tratadas simuladas representa las cadenas pesadas desglicosiladas.

Figura 9. El Alemtuzumab expresado a partir de células 293T se une a su antígeno. El péptido CD52 antigénico, fusionado a GST, se expresó en BL21 de E. coli (DE3) bajo la inducción de IPTG. Ambas muestras no inducidas e inducidas se corrieron en un gel de SDS-PAGE, y se transfirieron a una membrana de PVDF. Para el análisis Western, ya sea alemtuzumab de Sotec (α-CD52, Sotec) (concentración final 2,5 ng/μl) o medios de las células 293T transfectadas (Campath, Xencor) (concentración final de alemtuzumab aproximadamente 0,1-0,2 ng/μl) se utilizaron como anticuerpo primario, y se utilizó IgG humano anti-cabra conjugado con peroxidasa como anticuerpo secundario. M: marcador pre-teñido; U: muestra no inducida por GST-CD52; I: muestra inducida por GST-CD52.

Figura 10. Expresión y purificación de la región extracelular de V158 FcγRIIIa humano. Se transfectó FcγRIIIa marcado en células 293T, y los medios que contenían FcγRIIIa secretado se recogieron 3 días más tarde y se purificaron utilizando cromatografía de afinidad. 1: medios; 2: flujo a través; 3: lavado; 4-8: eluciones de serie. Se

muestran a la vez los resultado del gel de SDS-PAGE simple teñido de azul y el análisis Western. Para la transferencia Western, la membrana se sondó con anticuerpo anti-GST.

Figura 11. Unión a FcγRIIIa V158 humano por variantes de Fc alemtuzumab seleccionadas de la biblioteca experimental como se determina por el ensayo AlphaScreen™, como se describe en el Ejemplo 2. En presencia de anticuerpo competidor (variante Fc o alemtuzumab WT) se observa una curva de inhibición característica como una disminución en la señal de luminiscencia. La solución salina de tampón fosfato (PBS) se utilizó sola como control negativo. Los datos de unión se normalizaron a los valores máximo y mínimo de señal de luminiscencia para cada curva en particular, proporcionadas por las líneas de base a concentraciones de anticuerpo bajas y altas, respectivamente. Las curvas representan los ajustes de los datos en un modelo de competición de un sitio usando regresión no lineal. Estos ajustes proporcionan las CI50 para cada anticuerpo, ilustradas para WT y S239D por las líneas de puntos.

Figura 12. Ensayo AlphaScreen™ que muestra la unión de las variantes de Fc alemtuzumab seleccionadas frente a FcγRIIb humano. Los datos de unión se normalizaron frente a las líneas de base superior e inferior para cada anticuerpo particular, y las curvas representan los ajustes de los datos frente a un modelo de competencia de un sitio. Se utilizó PBS como control negativo.

Figuras 13a y 13b. Ensayo AlphaScreen™ que muestra la unión de las variantes Fc de alemtuzumab seleccionadas (Figura 13a) y trastuzumab (Figura 13b) frente a Val158 FcγRIIIa humano. Los datos de unión se normalizaron frente a las líneas de base superior e inferior para cada anticuerpo particular, y las curvas representan los ajustes de los datos frente a un modelo de competencia de un sitio. Se utilizó PBS como control negativo.

Figuras 14a y 14b. Ensayo AlphaScreen™ que mide la unión a V158 FcγRIIIa humano por variantes de Fc seleccionadas en el contexto de trastuzumab. Los datos de unión se normalizaron frente a las líneas de base superior e inferior para cada anticuerpo particular, y las curvas representan los ajustes de los datos frente a un modelo de competencia de un sitio. Se utilizó PBS como control negativo.

Figuras 15a y 15b. Ensayo AlphaScreen™ que mide la unión a V158 FcγRIIIa humano por variantes de Fc seleccionadas en el contexto de rituximab (Figura 15a) y cetuximab (Figura 15b). Los datos de unión se normalizaron frente a las líneas de base superior e inferior para cada anticuerpo particular, y las curvas representan los ajustes de los datos frente a un modelo de competencia de un sitio. Se utilizó PBS como control negativo.

Figuras 16a - 16b. Ensayo AlphaScreen™ comparando la unión de las variantes Fc de alemtuzumab seleccionadas frente a V158 FcγRIIIa humano (Figura 16a) y FcγRIIb humano (Figura 16b). Los datos de unión se normalizaron a las líneas de base superior e inferior para cada anticuerpo particular, y las curvas representan los ajustes de los datos a un modelo de competencia de un sitio. Se utilizó PBS como control negativo.

Figura 17. Ensayo AlphaScreen™ que mide la unión frente a V158 FcγRIIIa humano por variantes de Fc seleccionadas en el contexto de trastuzumab. Los datos de unión se normalizaron frente a las líneas de base superior e inferior para cada anticuerpo particular, y las curvas representan los ajustes de los datos frente a un modelo de competencia de un sitio. Se utilizó PBS como control negativo.

Figura 18. Ensayo AlphaScreen™ que muestra la unión de las variantes de Fc de alemtuzumab seleccionadas frente a R131 FcγRIIA humano. Los datos de unión se normalizaron frente a las líneas de base superior e inferior para cada anticuerpo particular, y las curvas representan los ajustes de los datos frente a un modelo de competencia de un sitio.

Figuras 19a y 19b. Ensayo AlphaScreen™ que muestra la unión de variantes de Fc de alemtuzumab seleccionados frente a V158 FcγRIIIa humano. Los datos de unión se normalizaron frente a las líneas de base superior e inferior para cada anticuerpo particular, y las curvas representan los ajustes de los datos frente a un modelo de competencia de un sitio. Se utilizó PBS como control negativo.

Figura 20. Ensayo AlphaScreen™ que muestra la unión de variantes de Fc de alemtuzumab aglicosiladas frente a V158 FcγRIIA humano. Los datos de unión se normalizaron frente a las líneas de base superior e inferior para cada anticuerpo particular, y las curvas representan los ajustes de los datos frente a un modelo de competencia de un sitio. Se utilizó PBS como control negativo.

Figura 21. Ensayo AlphaScreen™ comparando la unión de V158 FcγRIIA humano por variantes de Fc de alemtuzumab seleccionadas en glicosiladas (símbolos sólidos, líneas continuas) y desglicosiladas (símbolos abiertos, líneas punteadas). Los datos de unión se normalizaron frente a las líneas de base superior e inferior para cada anticuerpo particular, y las curvas representan los ajustes de los datos frente a un modelo de competencia de un sitio.

Figuras 22a-22b. Ensayo AlphaScreen™ que muestra la unión de variantes de Fc de alemtuzumab seleccionadas frente a los alotipos V158 (Figura 22a) y F158 (Figura 22b) de FcγRIIA humano. Los datos de unión se normalizaron frente a las líneas de base superior e inferior para cada anticuerpo particular, y las curvas representan los ajustes de los datos frente a un modelo de competencia de un sitio. Se utilizó PBS como control negativo.

Figuras 23a-23d. Las figuras 23 a y 23b muestran la correlación entre las Kd de SPR y la IC50 de AlphaScreen™ a partir de la unión de variantes de Fc de alemtuzumab seleccionadas para V158 FcγRIIIa (Figura 23a) y F158 FcγRIIIa (Figura 23b). Las figuras 23c y 23d muestran la correlación entre las veces de mejoras de SPR y AlphaScreen™ con respecto a WT para la unión de variantes de Fc de alemtuzumab seleccionadas frente a V158 FcγRIIIa (Figura 23c) y F158 FcγRIIIa (Figura 23d). Los datos de unión se presentan en la Tabla 63. Las líneas a través de los datos representan los ajustes lineales de los datos, y los valores de r^2 indican la significancia de estos ajustes.

Figuras 24a-24b. Ensayos de ADCC basados en células de variantes de Fc seleccionadas en el contexto de alemtuzumab. Se midió ADCC usando el ensayo de citotoxicidad basado en EuTDA DELFIA® (Perkin Elmer, MA), como se describe en el Ejemplo 7, utilizando células diana de linfoma DOHH-2 y PBMCs humanas 50 veces en exceso. La figura 24a es un gráfico de barras que muestra los datos de fluorescencia en bruto para los anticuerpos alemtuzumab indicados a 10 ng/ml. La barra de PBMC indica los niveles basales de citotoxicidad en ausencia de anticuerpo. La figura 24b muestra la dependencia de la dosis de ADCC sobre la concentración de anticuerpo para los anticuerpos alemtuzumab indicados, normalizados al mínimo y máximo de la señal de fluorescencia para cada curva en particular, proporcionadas por las líneas de base a concentraciones de anticuerpo bajas y altas, respectivamente. Las curvas representan los ajustes de los datos frente a un modelo dosis-respuesta sigmoidal usando regresión no lineal.

Figuras 25a-25c. Ensayos de ADCC basados en células de variantes de Fc seleccionadas en el contexto de trastuzumab. Se midió ADCC usando el ensayo de citotoxicidad basado en EuTDA DELFIA®, como se describe en el Ejemplo 7, utilizando BT474 y células diana de carcinoma de Sk-Br-3 de mama y PBMCs humanas 50 veces en exceso.La figura 25a es un gráfico de barras que muestra los datos de fluorescencia en bruto para los anticuerpos trastuzumab indicados a 1 ng/ml. La barra de PBMC indica los niveles basales de citotoxicidad en ausencia de anticuerpo. Las figuras 25b y 25c muestran la dependencia de la dosis de ADCC sobre la concentración de anticuerpo para los anticuerpos trastuzumab indicados, normalizados al mínimo y máximo de la señal de fluorescencia para cada curva en particular, proporcionadas por las líneas de base a concentraciones de anticuerpo bajas y altas, respectivamente. Las curvas representan los ajustes de los datos frente a un modelo dosis-respuesta sigmoidal usando regresión no lineal.

Figuras 26a-26c. Ensayos de ADCC basados en células de variantes de Fc seleccionadas en el contexto de rituximab. Se midió ADCC usando el ensayo de citotoxicidad basado en EuTDA DELFIA®, como se describe en el Ejemplo 7, utilizando células diana de linfoma WIL2-S y PBMCs humanas 50 veces en exceso.La figura 26a es un gráfico de barras que muestra los datos de fluorescencia en bruto para los anticuerpos rituximab indicados a 1 ng/ml. La barra de PBMC indica los niveles basales de citotoxicidad en ausencia de anticuerpo. Las figuras 26b y 26c muestran la dependencia de la dosis de ADCC sobre la concentración de anticuerpo para los anticuerpos rituximab indicados, normalizados frente al mínimo y máximo de la señal de fluorescencia para cada curva en particular, proporcionadas por las líneas de base a concentraciones de anticuerpo bajas y altas, respectivamente. Las curvas representan los ajustes de los datos frente a un modelo dosis-respuesta sigmoidal usando regresión no lineal.

Figuras 27a- 27b. Ensayo de ADCC basado en células de variantes Fc de trastuzumab seleccionadas (Figura 27a) y rituximab (Figura 27b) que muestra mejoras en la potencia y eficacia. Ambos ensayos utilizaron PBMCs de F158/F158 FcγRIIIa homocigotos como células efectoras en un exceso de 25 veces frente a las células diana, que eran Sk-Br-3 para el ensayo de trastuzumab y WIL2-S para el ensayo de rituximab. Los datos se normalizaron de acuerdo con la lisis mínima absoluta para el ensayo, proporcionados por la señal de fluorescencia de las células diana en presencia de PBMC solas (sin anticuerpo), y la lisis máxima absoluta para el ensayo, proporcionada por la señal de fluorescencia de las células diana en presencia de Triton X1000, como se describe en el Ejemplo 7.

Figura 28. Ensayo de ADCC basado en células de variantes de Fc de trastuzumab seleccionadas frente a diferentes líneas celulares que expresan diferentes niveles del antígeno diana Her2/neu. Ensayos de ADCC se realizaron como se describe en el Ejemplo 7, con varias líneas celulares que expresan niveles de bajos a amplificados del receptor Her2/neu, incluyendo Sk-Br-3 (1×10^6 copias), SKOV3 ($\sim 1 \times 10^5$), OVCAR3 ($\sim 1 \times 10^4$) y MCF-7 ($\sim 3 \times 10^3$ copias). Se utilizaron PBMCs humanos alotipados como F158/F158 FcγRIIIa homocigoto en exceso de 25 veces frente a células diana. El gráfico de barras proporciona datos de ADCC para la variante de WT y Fc contra las líneas celulares indicadas, normalizado frente a la mínima y máxima señal de fluorescencia proporcionada por un lisis mínima (PBMCs solo) y lisis máxima (Triton X1000).

Figura 29. Ensayos de ADCC basados en células de variantes de Fc seleccionadas en el contexto de trastuzumab utilizando células asesinas (NK) naturales como células efectoras y midiendo la liberación de LDH para monitorizar la lisis celular. Las células NK, alotipadas como V158/F158 FcγRIIIa heterocigotos, estaban en un exceso de 8 veces frente a las células diana de carcinoma de mama Sk-Br-3, y el nivel de citotoxicidad se midió usando el kit de detección de citotoxicidad de LDH, de acuerdo con el protocolo del fabricante (Roche Diagnostics GmbH, Penzberg, Alemania). El gráfico muestra la dependencia de la dosis de ADCC sobre la concentración de anticuerpo para los anticuerpos trastuzumab indicados, normalizados frente al mínimo y máximo de la señal de fluorescencia para cada curva particular, proporcionadas por las líneas de base a concentraciones de anticuerpo bajas y altas, respectivamente. Las curvas representan los ajustes de los datos frente a un modelo dosis-respuesta sigmoidal usando regresión no lineal.

Figura 30. Ensayo ADCP basado en células de variantes seleccionadas. El ensayo ADCP se llevó a cabo como se describe en el Ejemplo 8, utilizando una estrategia de co-marcado junto con citometría de flujo. Se utilizaron macrófagos diferenciados como células efectoras, y se utilizaron células Sk-Br-3 como células diana. El porcentaje de fagocitosis representa el número de células co-marcadas (macrófagos + Sk-Br-3) respecto al número total de Sk-Br-3 en la población (fagocitados + no fagocitado).

Figuras 31a-31c. Capacidad de variantes Fc seleccionadas para mediar en la unión y la activación del complemento. La figura 31a muestra un ensayo de AlphaScreen™ que mide la unión de variantes de Fc de alemtuzumab seleccionadas frente a C1q. Los datos de unión se normalizaron frente a las líneas de base superior e inferior para cada anticuerpo particular, y las curvas representan los ajustes de los datos frente a un modelo de competencia de un sitio. Las figuras 31b y 31c muestran un ensayo basado en células que mide la capacidad de variantes de Fc seleccionadas de rituximab para mediar en CDC. Los ensayos de CDC se realizaron usando Alamar Blue para monitorizar la lisis de la variante de Fc y células de linfoma WIL2-S de rituximab opsonizado WT por el complemento de suero humano (Quidel, San Diego, Calif.). La dependencia de la dosis en la concentración de anticuerpo de la lisis mediada por el complemento se muestra para los anticuerpos rituximab indicados, normalizados al mínimo y máximo de la señal de fluorescencia para cada curva particular, proporcionadas por las líneas de base a concentraciones de anticuerpo bajas y altas, respectivamente. Las curvas representan los ajustes de los datos frente a un modelo dosis-respuesta sigmoidal usando regresión no lineal.

Figura 32. Ensayo AlphaScreen™ que mide la unión de variantes de Fc de alemtuzumab seleccionadas frente a la proteína A bacteriana, como se describe en el Ejemplo 10. Los datos de unión se normalizaron frente a las líneas de base superior e inferior para cada anticuerpo particular, y las curvas representan los ajustes de los datos frente a un modelo de competencia de un único sitio. Se utilizó PBS como control negativo.

Figura 33. Ensayo AlphaScreen™ que mide la unión de variantes de Fc de alemtuzumab seleccionadas frente a FcRn humano, como se describe en el Ejemplo 10. Los datos de unión se normalizaron frente a las líneas de base superior e inferior para cada anticuerpo particular, y las curvas representan los ajustes de los datos frente a un modelo de competición de un sitio. Se utilizó PBS como control negativo.

Figuras 34a y 34b. Ensayo AlphaScreen™ que mide la unión de variantes Fc de alemtuzumab (Figura 34a) y trastuzumab (Figura 34b) seleccionadas frente a FcγRIII de ratón, como se describe en el Ejemplo 11. Los datos de unión se normalizaron frente a las líneas de base superior e inferior para cada anticuerpo particular, y las curvas representan los ajustes de los datos frente a un modelo de competencia de un sitio. Se utilizó PBS como control negativo.

Figura 35. Ensayos de ADCC basados en células de variantes de Fc seleccionadas en el contexto de trastuzumab usando PBMC de ratón como células efectoras. ADCC se midió usando el ensayo de citotoxicidad basado en EuTDA DELFIA® usando células diana de carcinoma de mama Sk-Br-3 y PBMCs de ratón 8 veces en exceso. El gráfico de barras muestra los datos de fluorescencia en bruto para los anticuerpos de trastuzumab indicados a 10 ng/ml. La barra de PBMC indica los niveles basales de citotoxicidad en ausencia de anticuerpo, y TX indica la lisis celular completa en presencia de Triton X1000.

Figura 36. Ensayo de AlphaScreen™ que mide la unión frente a V158 FcγRIIIa humano por variantes de Fc de trastuzumab seleccionadas expresadas en células 293T y CHO, como se describe en el Ejemplo 12. Los datos de unión se normalizaron frente a las líneas de base superior e inferior para cada anticuerpo en particular, y las curvas representan los ajustes de los datos frente a un modelo de competencia de un sitio. Se utilizó PBS como control negativo.

Figuras 37a-37b. Sinergia de las variantes de Fc y glicoformas modificadas. La figura 37a presenta un ensayo AlphaScreen™ que muestra la unión de V158 FcγRIIIa por la variante de trastuzumab de WT y Fc (V209, S239/I332E/A330L) expresada en células 293T, CHO, y Lec-13 CHO. Los datos se normalizaron frente a las líneas de base superior e inferior para cada anticuerpo, y las curvas representan los ajustes de los datos frente a un modelo de competencia de un sitio. Se utilizó PBS como control negativo. La figura 37b presenta un ensayo de ADCC basado en células que muestra la capacidad del trastuzumab de WT y V209 expresado en de 239T, CHO, y Lec-13 CHO para mediar ADCC. ADCC se midió usando el ensayo de citotoxicidad basado en EuTDA DELFIA®, como se describió anteriormente, con las células diana de carcinoma Sk-Br-3 de mama. Los datos muestran la dependencia de la dosis de ADCC sobre la concentración de anticuerpo para los anticuerpos trastuzumab indicados, normalizados al mínimo y máximo de la señal de fluorescencia para cada curva en particular, proporcionadas por las líneas de base a concentraciones de anticuerpo bajas y altas, respectivamente. Las curvas representan los ajustes de los datos frente a un modelo dosis-respuesta sigmoidal usando regresión no lineal.

Figuras 38a-38c. Secuencias que muestran mejores anticuerpos anti-CD20. Las secuencias de cadena ligera y pesada de rituximab se presentan en la figura 38a y la figura 38b, respectivamente, y se han tomado de la secuencia traducida 3 de la Patente de los Estados Unidos. No. 5.736.137. Las posiciones relevantes en la figura 38b están en negrita, incluyendo S239, V240, V264I, E272, K274, N297, S298, K326, A330, y I332. La figura 38c muestra las mejoradas secuencias de anticuerpo anti-CD20 de cadena pesada, con las posiciones variables designadas en negrita como X_1, X_2, X_3, X_4, X_5, X_6, X_7, X_8, Z_1 y Z_2. La tabla siguiente proporciona la secuencia de posibles

sustituciones para estas posiciones. Los mejores secuencias de anticuerpos anti-CD20 comprenden al menos un aminoácido no WT seleccionado del grupo de posibles sustituciones de X_1, X_2, X_3, X_4, X_5, X_6, X_7, X_8. Estas secuencias de anticuerpo anti-CD20 mejoradas también pueden comprender una sustitución de Z_1 y/o Z_2. Estas posiciones están numeradas de acuerdo con el índice EU como en Kabat, y por lo tanto no se corresponden con el orden secuencial en la secuencia.

Descripción detallada de la invención

Con el fin de que la invención pueda entenderse más completamente, se exponen a continuación varias definiciones. Tales definiciones están destinadas a abarcar sus equivalentes gramaticales.

Por “ADCC” o “citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpo”, tal como se usa en el presente documento, se quiere decir la reacción mediada por células en la que las células citotóxicas no específicas que expresan FcγRs reconocen al anticuerpo unido sobre una célula diana y posteriormente causan la lisis de la célula diana.

Por “ADCP” o “fagocitosis mediada por células dependiente de anticuerpo”, tal como se usa en el presente documento, se quiere decir la reacción mediada por células en la que las células citotóxicas no específicas que expresan FcγRs reconocen el anticuerpo unido sobre una célula diana y posteriormente causan la fagocitosis de la célula diana.

Por “modificación de aminoácidos” en el presente documento se quiere decir una sustitución de aminoácido, inserción y/o deleción en una secuencia de polipéptido. La modificación de aminoácidos preferida en este documento es una sustitución. Por “sustitución de aminoácido” o “sustitución” en el presente documento se entiende la sustitución de un aminoácido en una posición particular en una secuencia de polipéptido parenteral con otro aminoácido. Por ejemplo, la sustitución I332E se refiere a un polipéptido variante, en este caso una variante de Fc, en la que la isoleucina en la posición 332 se sustituye con un ácido glutámico.

Por “anticuerpo” en este documento se entiende una proteína que consiste en uno o más polipéptidos codificados sustancialmente por la totalidad o parte de los genes de inmunoglobulina reconocidos. Los genes de inmunoglobulina reconocidos, por ejemplo, en seres humanos, incluyen kappa (κ), lambda (λ), y loci genéticos de la cadena pesada, que juntos comprenden los innumerables genes de la región variable, y los genes de la región constante mu (υ), delta (δ), gamma (γ), sigma (ε) y alfa (α) que codifican los isotipos IgM, IgD, IgG, IgE, y IgA, respectivamente. Anticuerpo en este documento se entiende que incluye anticuerpos de longitud completa y fragmentos de anticuerpo, y puede referirse a un anticuerpo natural de cualquier organismo, un anticuerpo diseñado, o un anticuerpo generado de forma recombinante con fines experimentales, terapéuticos, u otros, tal como se define a continuación. El término “anticuerpo” incluye fragmentos de anticuerpos, como son conocidos en la técnica, tales como Fab, Fab', $F(ab')_2$, Fv, scFv, u otras subsecuencias de unión a antígeno de los anticuerpos, ya sea producidos por la modificación de todos los anticuerpos o los sintetizados de novo utilizando tecnologías de ADN recombinante. Particularmente preferidos son los anticuerpos de longitud completa que comprenden variantes Fc como se describe en este documento. El término “anticuerpo” comprende anticuerpos monoclonales y policlonales. Los anticuerpos pueden ser antagonistas, agonistas, neutralizantes, inhibitorios, o estimuladores.

Los anticuerpos de la presente invención pueden ser no humanos, quiméricos, humanizados o completamente humanos. Para una descripción de los conceptos de anticuerpos quiméricos y humanizados; véase Clark et al, 2000 y las referencias citadas en el mismo (Clark, 2000, Immunol Today 21: 397-402). Los anticuerpos quiméricos comprenden la región variable de un anticuerpo no humano, por ejemplo, los dominios VH y VL de ratón o de origen de rata, unido operativamente a la región constante de un anticuerpo humano (véase, por ejemplo, la patente de EE.UU. No. 4.816.567). En una realización preferida, los anticuerpos de la presente invención son humanizados. Por anticuerpo “humanizado”, como se usa en este documento, se entiende un anticuerpo que comprende una región marco humana (FR) y una o más regiones determinantes de complementariedad (CDR) de un anticuerpo no humano (por lo general, ratón o rata). El anticuerpo no humano que proporciona la CDR se llama el “donante” y la inmunoglobulina humana que proporciona el marco se llama el “aceptor”. La humanización se basa principalmente en el injerto de CDR del donante a los marcos de VL y VH del aceptor (humanos) (Winter, patente de EE.UU. No. 5.225.539). Esta estrategia se conoce como “injerto de CDR”. La “retromutación” de residuos marco del aceptor seleccionados a los restos del donante correspondientes a menudo se requiere para recuperar la afinidad que se pierde en el constructo injertado inicial (patentes de EE.UU. nº 5.530.101; 5.585.089; 5.693.761; 5.693.762; 6.180.370; 5.859.205; 5.821.337; 6.054.297; 6.407.213). El anticuerpo humanizado también comprenderá óptimamente al menos una porción de una región constante de inmunoglobulina, típicamente la de una inmunoglobulina humana, y por lo tanto típicamente comprenderá una región Fc humana. Los métodos para humanizar anticuerpos no humanos son bien conocidos en la técnica, y se pueden realizar esencialmente siguiendo el procedimiento de Winter y colaboradores (Jones et al, 1986, Nature 321: 522-525; Riechmann et al, 1988, Nature 332: 323-329; Verhoeyen et al, 1988, Science, 239: 1534-1536). Los ejemplos adicionales de anticuerpos monoclonales murinos humanizados también son conocidos en la técnica, por ejemplo, anticuerpos de unión a la proteína C humana (O'Connor et al, 1998, Protein Eng 11: 321-8), la interleucina 2 receptor (Queen et al., 1989, Proc Natl Acad Sci USA 86: 10029-33), y el factor de crecimiento epidérmico humano receptor 2 (Carter et al, 1992, Proc Natl Acad Sci USA 89: 4285-9). En una realización alternativa, los anticuerpos de la presente invención pueden ser

plenamente humanos, es decir las secuencias de los anticuerpos son completamente o sustancialmente humanas. Se conocen una serie de métodos en la técnica para generar anticuerpos completamente humanos, incluyendo el uso de ratones transgénicos (Bruggemann et al., 1997, Curr Opin Biotechnol 8: 455-458) o bibliotecas de anticuerpos humanos junto con métodos de selección (Griffiths et al., 1998, Curr Opin Biotechnol 9: 102-108).

Se incluyen específicamente dentro de la definición de “anticuerpo” los anticuerpos aglicosilados. Por “anticuerpo aglicosilado”, como se usa en el presente documento, se entiende un anticuerpo que carece de hidrato de carbono unido a la posición 297 de la región Fc, en el que la numeración es según el sistema de la UE como en Kabat. El anticuerpo aglicosilado puede ser un anticuerpo desglicosilado, que es un anticuerpo para el que se ha eliminado el hidrato de carbono Fc, por ejemplo química o enzimáticamente. Alternativamente, el anticuerpo aglicosilado puede ser un anticuerpo no glicosilado o desglicosilado, que es un anticuerpo que se expresa sin hidratos de carbono de Fc, por ejemplo por mutación de uno o varios residuos que codifican el patrón de glicosilación o por expresión en un organismo que no adhiere hidratos de carbono a las proteínas, por ejemplo, bacterias.

Se incluyen específicamente dentro de la definición de “anticuerpo” los anticuerpos de longitud completa que contienen una porción de la variante Fc. Por “anticuerpo de longitud completa” en el presente documento se quiere decir la estructura que constituye la forma biológica natural de un anticuerpo, incluyendo regiones variables y constantes. Por ejemplo, en la mayoría de los mamíferos, incluyendo los seres humanos y los ratones, el anticuerpo de longitud completa de la clase IgG es un tetrámero y consta de dos pares idénticos de dos cadenas de inmunoglobulina, teniendo cada par una cadena ligera y una pesada, comprendiendo cada cadena ligera dominios de inmunoglobulina V_L y C_L, y comprendiendo cada cadena pesada dominios de inmunoglobulina V_H, Cγ1, Cγ2, y Cγ3. En algunos mamíferos, por ejemplo en camellos y llamas, los anticuerpos IgG pueden consistir en sólo dos cadenas pesadas, comprendiendo cada cadena pesada un dominio variable unido a la región Fc. Por “IgG”, como se usa en el presente documento, se entiende un polipéptido que pertenece a la clase de anticuerpos que están sustancialmente codificados por un gen de inmunoglobulina gamma reconocido. En los seres humanos esta clase comprende IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4. En los ratones esta clase comprende IgG1, IgG2a, IgG2b, IgG3.

Por “aminoácido” e “identidad de aminoácidos”, como se usa en el presente documento, se quiere decir uno de los 20 aminoácidos de origen natural o cualesquiera análogos no naturales que pueden estar presentes en una posición específica y definida. Por “proteína”, en este documento, se entiende al menos dos aminoácidos unidos covalentemente, que incluye proteínas, polipéptidos, oligopéptidos y péptidos. La proteína puede estar compuesta de aminoácidos de origen natural y enlaces peptídicos, o estructuras peptidomiméticas sintéticas, es decir, “análogos”, tales como peptoides (véase Simon et al, 1992, Proc Natl Acad Sci USA 89 (20): 9367), en particular cuando los péptidos de LC se han de administrar a un paciente. Por lo tanto, “aminoácido” o “residuo de péptido”, como se usa en el presente documento, significa tanto aminoácidos de origen natural como sintéticos. Por ejemplo, homofenilalanina, citrulina y norleucina se consideran aminoácidos para los propósitos de la invención. “Aminoácido” incluye también residuos de iminoácido, tales como prolina e hidroxiprolina. La cadena lateral puede estar en la configuración (R) o la configuración (S). En la realización preferida, los aminoácidos están en la configuración (S) o L. Si se utilizan cadenas laterales de origen no natural, los sustituyentes no aminoácidos pueden usarse, por ejemplo para prevenir o retrasar la degradación in vivo.

Por “método de cribado computacional” en el presente documento se entiende cualquier método para el diseño de una o más mutaciones en una proteína, en el que dicho método utiliza un ordenador para evaluar las energías de las interacciones de las posibles sustituciones de cadena lateral de aminoácido entre sí y/o con el resto de la proteína. Como se apreciará por los expertos en la técnica, la evaluación de las energías, referido como cálculo de energía, se refiere a un método de puntuación de una o más modificaciones de aminoácidos. Dicho método puede implicar un término de energía física o química, o puede implicar términos de energía basados en el conocimiento, estadísticos, secuenciales y similares. Los cálculos que componen los métodos de cribado computacionales se denominan en este documento como “cálculos de cribado computacional”.

Por “función efectora”, como se usa en el presente documento, se entiende un acontecimiento bioquímico que resulta de la interacción de una región Fc de anticuerpo con un receptor de Fc o ligando. Las funciones efectoras incluyen, pero no se limitan, a ADCC, ADCP, y CDC. Por “célula efectora”, como se usa en el presente documento, se entiende una célula del sistema inmune que expresa uno o más receptores Fc y media una o más funciones efectoras. Las células efectoras incluyen, pero no se limitan a monocitos, macrófagos, neutrófilos, células dendríticas, eosinófilos, mastocitos, plaquetas, células B, linfocitos grandes granulares, células de Langerhans, células asesinas naturales (NK), y células γγ T, y pueden ser de cualquier organismo incluyendo, pero no limitado a seres humanos, ratones, ratas, conejos y monos. Por “biblioteca”, en este documento, se entiende un conjunto de variantes Fc en cualquier forma, incluyendo pero no limitado a una lista de secuencias de ácidos nucleicos o de aminoácidos, una lista de sustituciones de ácido nucleico o aminoácidos en posiciones variables, una biblioteca física que comprende ácidos nucleicos que codifican las secuencias de la biblioteca, o una biblioteca física que comprende las proteínas variantes de Fc, ya sea en forma purificada o no purificada.

Por “Fc”, “región Fc”, polipéptido FC”, etc., como se usa en el presente documento, se entiende un anticuerpo como se define en el presente documento que incluye los polipéptidos que comprenden la región constante de un anticuerpo excluyendo el primer dominio de la región constante de inmunoglobulina. Así Fc se refiere a los dos últimos dominios de la región constante de inmunoglobulina de IgA, IgD, e IgG, y los últimos tres dominios de la

región constante de inmunoglobulina de IgE y IgM, y la bisagra flexible N-terminal a estos dominios. Para IgA e IgM Fc puede incluir la cadena J. Para IgG, como se ilustra en la figura 1, Fc comprende dominios de inmunoglobulina Cgamma2 y Cgamma3 (Cγ2 y Cγ3) y la bisagra entre Cgamma1 (gamma 1) y Cgamma2 (Cγ2). Aunque los límites de la región Fc pueden variar, la región Fc de la cadena pesada de IgG humana se define usualmente para comprender los residuos C226 o P230 a su extremo carboxilo terminal, en el que la numeración es según el índice de EU de Kabat. Fc puede referirse a esta región de forma aislada, o esta región en el contexto de un anticuerpo, fragmento de anticuerpo, o fusión de Fc. Un Fc puede ser un anticuerpo, fusión de Fc, o un dominio de proteína o proteína que comprende Fc. Se prefieren particularmente las variantes de Fc, que son variantes de origen no natural de un Fc.

Por "fusión Fc", como se usa en el presente documento, se quiere decir una proteína en la que uno o más polipéptidos están unidos operativamente a una región Fc o un derivado del mismo. La fusión Fc, en el presente documento, pretende ser sinónimo de los términos "inmunoadhesina", "fusión de Ig", "quimera de Ig", y "globulina del receptor" (a veces con guiones) tal como se utiliza en la técnica anterior (Chamow et al., 1996, Trends Biotechnol. 14: 52-60; Ashkenazi et al, 1997, Curr Opin Immunol 9: 195-200). Una fusión Fc combina la región Fc de una inmunoglobulina con una pareja de fusión que, en general, puede ser cualquier proteína o molécula pequeña. El papel de la parte no Fc de una fusión Fc, es decir, la pareja de fusión, es mediar la unión a la diana y, por lo tanto, es funcionalmente análoga a las regiones variables de un anticuerpo. Prácticamente cualquier proteína o molécula pequeña pueden estar unidos a Fc para generar una fusión Fc. Parejas de fusión de proteínas pueden incluir, pero no se limitan a, la región de unión a diana de un receptor, una molécula de adhesión, un ligando, una enzima, una citocina, una quimiocina, o algún otro dominio de proteína o proteína. Pequeñas parejas de fusión de moléculas pueden incluir cualquier agente terapéutico que dirige la fusión Fc a una diana terapéutica. Tales objetivos pueden ser cualquier molécula, preferiblemente un receptor extracelular, que esté implicada en la enfermedad. Dos familias de receptores de superficie que son dianas de una serie de fármacos de moléculas pequeñas aprobados son los receptores acoplados a la proteína G (GPCR), y los canales iónicos, incluyendo los canales de K+, Na+, Ca+. Casi el 70% de todos los medicamentos actualmente comercializados en todo el mundo se dirigen a los GPCR. Así, las variantes de Fc de la presente invención pueden fusionarse a una molécula pequeña que reconoce, por ejemplo, uno o más receptores de GABA, receptores purinérgicos, receptores adrenérgicos, receptores histaminérgicos, receptores de opioides, receptores de quimiocinas, receptores de glutamato, receptores nicotínicos, el receptor 5HT (serotonina), y los receptores de estrógeno. Una pareja de fusión puede ser un agente mimético de molécula pequeña de una proteína que reconoce a un objetivo terapéuticamente útil. Los ejemplos específicos de fármacos particulares que pueden servir como parejas de fusión Fc se pueden encontrar en L.S. Goodman et al., Eds., Goodman and Gilman´s The Pharmacological Basis of Therapeutics (McGraw-Hill, Nueva York, ed. 9, 1996). Las parejas de fusión incluyen no sólo las moléculas pequeñas y proteínas que se unen a objetivos conocidos para los medicamentos existentes, sino los receptores huérfanos que todavía no existen como dianas de fármacos. La finalización de los proyectos del genoma y del proteoma están demostrando ser una fuerza impulsora en el descubrimiento de fármacos, y estos proyectos han dado un tesoro de receptores huérfanos. Existe un enorme potencial para validar estas nuevas moléculas como dianas de fármacos, y desarrollar proteínas y moléculas pequeñas terapéuticas que les dirigen. Dichas terapias de proteínas y moléculas pequeñas se contemplan como parejas de fusión Fc que emplean las variantes de Fc de la presente invención. Una variedad de enlazadores, definidos y descritos a continuación, se puede usar para unir covalentemente Fc a un compañero de fusión para generar una fusión Fc.

Por "receptor Fc gamma" o "FcγR", como se usa en este documento, se entiende cualquier miembro de la familia de proteínas que se une a la región Fc del anticuerpo IgG y son codificados sustancialmente por los genes FcγR. En los seres humanos esta familia incluye, pero no se limita a FcγRI (CD64), incluyendo las isoformas FcγRIa, FcγRIb, y FcγRIc; FcγRII (CD32), incluyendo las isoformas FcγRIIA (incluyendo los alotipos H131 y R131), FcγRIIb (incluyendo FcγRIIb-1 y FcγRIIb-2), y FcγRIIc; y FcγRIII (CD16), incluyendo las isoformas FcγRIIIa (incluyendo los alotipos V158 y F158) y FcγRIIIb (incluyendo los alotipos FcγRIIIb-NA1 y FcγRIIIb-NA2) (Jefferis et al, 2002, Immunol Lett 82: 57-65), así como cualquier FcγRs humano no descubierto o las isoformas de FcγR o alotipos. Los FcγR pueden provenir de cualquier organismo, incluyendo, pero no limitado a seres humanos, ratones, ratas, conejos y monos. Los FcγRs de ratón incluyen, pero no se limitan a FcγRI (CD64), FcγRII (CD32), FcγRIII (CD16), y FcγRIII-2 (CD16-2), así como cualquier FcγRs de ratón no descubierto o isoformas de FcγR o alotipos.

Por "ligando de Fc", como se usa en el presente documento, se entiende una molécula, preferiblemente un polipéptido, de cualquier organismo que se una a la región Fc de un anticuerpo para formar un complejo de Fc-ligando. Los ligandos Fc incluyen, pero no se limitan, a FcγRs, FcγRs, FcγRs, FcRn, C1q, C3, lectina de unión a manano, receptor de manosa, proteína A estafilocócica, proteína G estreptocócica, y FcγR viral. Los ligandos Fc también incluyen homólogos del receptor Fc (FcRH), que son una familia de receptores de Fc que son homólogas a los FcγRs (Davis et al, 2002, Immunological Reviews 190: 123-136). Los ligandos Fc pueden incluir moléculas no descubiertas que se unen a Fc.

Por "IgG", como se usa en el presente documento, se entiende un polipéptido que pertenece a la clase de anticuerpos que están sustancialmente codificados por un gen de inmunoglobulina gamma reconocido. En los seres humanos esta clase comprende IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4. En los ratones esta clase comprende IgG1, IgG2a, IgG2b, IgG3. Por "inmunoglobulina (Ig)" en el presente documento se entiende una proteína que consiste en uno o más polipéptidos sustancialmente codificados por genes de inmunoglobulina. Las inmunoglobulinas incluyen pero no se

limitan a anticuerpos. Las inmunoglobulinas pueden tener un número de formas estructurales, incluyendo, pero no limitado a anticuerpos de longitud completa, fragmentos de anticuerpos y dominios de inmunoglobulina individuales. Por “dominio de inmunoglobulina (Ig)” en el presente documento se entiende una región de una inmunoglobulina que existe como una entidad estructural distinta como es comprobada por cualquier experto en la técnica de la estructura de la proteína. Los dominios de Ig tienen típicamente una característica de topología plegable □ -sandwich. Los dominios Ig conocidos en la clase IgG de anticuerpos son V_H, Cγ1, Cγ2, Cγ3, V_L, y C_L.

Por “polipéptido original” o “polipéptido precursor” (incluyendo Fc original o precursores), como se usa en este documento, se entiende un polipéptido que se modifica posteriormente para generar una variante. Dicho polipéptido parental puede ser un polipéptido de origen natural, o una variante o versión modificada de un polipéptido de origen natural. El polipéptido original puede referirse al polipéptido en sí, las composiciones que comprenden el polipéptido parental, o la secuencia de aminoácidos que lo codifica. En consecuencia, por “polipéptido Fc parenteral”, como se usa en el presente documento, se quiere decir un polipéptido Fc no modificado que se ha modificado para generar una variante, y por “anticuerpo parental”, como se usa en el presente documento, se entiende un anticuerpo no modificado que se ha modificado para generar un anticuerpo variante.

Como se ha indicado anteriormente, ciertas posiciones de la molécula de Fc pueden ser alteradas. Por “posición”, tal como se utiliza en este documento, se entiende una ubicación en la secuencia de una proteína. Las posiciones se pueden numerar secuencialmente o de acuerdo con un formato establecido, por ejemplo, el índice de EU de Kabat. Por ejemplo, la posición 297 es una posición en la IgG1 de anticuerpos humanos. Las posiciones correspondientes se determinan como se describe anteriormente, generalmente a través de la alineación con otras secuencias parentales.

Por “residuo”, como se usa en el presente documento, se entiende una posición en una proteína y su identidad de aminoácidos asociada. Por ejemplo, asparagina 297 (también referido como Asn297, también referido como N297) es un residuo en el anticuerpo IgG1 humano.

Por “antígeno diana”, como se usa en el presente documento, se entiende la molécula que está unida específicamente por la región variable de un anticuerpo dado. Un antígeno diana puede ser una proteína, un hidrato de carbono, lípido, u otro compuesto químico.

Por “célula diana”, como se usa en el presente documento, se entiende una célula que expresa un antígeno diana.

Por “región variable”, tal como se utiliza en este documento, se entiende la región de una inmunoglobulina que comprende uno o más dominios de Ig sustancialmente codificados por cualquiera de los genes VK, Vλ, y/o V_H que componen los loci genéticos de inmunoglobulina kappa, lambda, y cadena pesada, respectivamente.

Por “polipéptido variante”, como se usa en el presente documento, se quiere decir una secuencia de polipéptido que difiere de la de una secuencia de polipéptido original en virtud de al menos una modificación de aminoácidos. El polipéptido variante puede referirse al propio polipéptido, una composición que comprende el polipéptido, o la secuencia de aminoácidos que lo codifica. Preferiblemente, el polipéptido variante tiene al menos una modificación de aminoácidos en comparación con el polipéptido parental, por ejemplo, de aproximadamente uno a aproximadamente diez modificaciones de aminoácidos, y preferiblemente de aproximadamente una a aproximadamente cinco modificaciones de aminoácidos en comparación con el origen. La secuencia del polipéptido variante en el presente documento poseerá preferiblemente al menos aproximadamente 80% de homología con una secuencia de polipéptido parental, y lo más preferiblemente al menos aproximadamente 90% de homología, más preferiblemente al menos aproximadamente 95% de homología. En consecuencia, por “variante de Fc”, como se usa en el presente documento, se quiere decir una secuencia Fc que difiere de la de una secuencia de Fc original en virtud de al menos una modificación de aminoácidos. Una variante de Fc solamente puede abarcar una región Fc, o puede existir en el contexto de un anticuerpo, fusión Fc, u otro polipéptido que está codificado sustancialmente por Fc. La variante de Fc puede referirse al polipéptido Fc mismo, las composiciones que comprenden el polipéptido variante de Fc, o la secuencia de aminoácidos que lo codifica. En una realización preferida, las proteínas variantes de la invención comprenden una variante de Fc, como se describe en el presente documento, y como tal, pueden comprender un anticuerpo (y los correspondientes derivados) con la variante de Fc, o una proteína de fusión Fc que comprende la variante de Fc. Además, en algunos casos, la Fc es una variante en comparación con un Fc natural, o para una variante “original”.

Para todas las posiciones discutidas en la presente invención, la numeración de una cadena pesada de inmunoglobulina está de acuerdo con el índice EU (Kabat et al., 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed., United States Public Health Svice, National Institutes of Health, Bethesda). El “índice de EU como en Kabat” se refiere a la numeración de residuos del anticuerpo humano IgG1 UE.

Las variantes de Fc de la presente invención se optimizan para mejorar la afinidad para un FcγR. En una realización preferida, las variantes de Fc de la presente invención se optimizan para poseer una afinidad mejorada para un FcγR de activación humano, preferiblemente FcγRI, FcγRIIa, FcγRIIc, FcγRIIIa, y FcγRIIIb, lo más preferiblemente FcγRIIIa. Estas realizaciones preferidas se prevé que proporcionan anticuerpos y fusiones de Fc con propiedades terapéuticas mejoradas en los seres humanos, por ejemplo una mayor función efectora y mayor potencia anti-

cancerígena. Estas realizaciones se prevé que proporcionan anticuerpos y fusiones de Fc con propiedades terapéuticas mejoradas en los seres humanos, por ejemplo un aumento de la función efectora y mayor potencia anti-cancerígena. Las realizaciones preferidas comprenden la optimización de la unión de Fc a un FcγR humano, sin embargo, en realizaciones alternativas las variantes de Fc de la presente invención poseen una mejorada afinidad por FcγRs de organismos no humanos, incluyendo, pero no limitado a ratones, ratas, conejos y monos. Las variantes de Fc que están optimizadas para la unión a un FcγR no humano pueden encontrar su uso en la experimentación. Por ejemplo, los modelos de ratón están disponibles para una variedad de enfermedades que permiten las pruebas de propiedades tales como la eficacia, toxicidad, y la farmacocinética de un candidato a fármaco determinado. Como se sabe en la técnica, las células cancerosas se pueden injertar o inyectar en ratones para imitar al cáncer humano, un proceso referido como xenoinjertos. Ensayos de anticuerpos o fusiones de Fc que comprenden variantes de Fc que están optimizados para una o más FcγRs de ratón, pueden proporcionar una información valiosa con respecto a la eficacia del anticuerpo o de la fusión de Fc, su mecanismo de acción, y similares. Las variantes de Fc de la presente descripción también pueden ser optimizadas para una mejor funcionalidad y/o propiedades de disolución mejoradas en la forma aglicosilada. En un caso preferido, las variantes de Fc aglicosiladas de la presente descripción se unen a un ligando Fc con mayor afinidad que la forma aglicosilada del polipéptido Fc parenteral. Dichos ligandos Fc incluyen, pero no se limitan a FcγRs, C1q, FcRn, y las proteínas A y G, y pueden ser de cualquier fuente incluyendo, pero no limitado a, humano, ratón, rata, conejo, o mono, preferiblemente un ser humano. En una realización preferida alternativa, las variantes de Fc están optimizadas para ser más estables y/o más soluble que la forma aglicosilada del polipéptido Fc parenteral. Una variante de Fc que está diseñado o se predice para mostrar cualquiera de las propiedades optimizadas antes mencionadas se denomina en este documento como una “variante de Fc optimizada”.

Las variantes de Fc de la presente invención pueden ser derivadas de polipéptidos de Fc parenterales que vienen por sí mismos de una amplia gama de fuentes. El polipéptido Fc parenteral puede ser codificado sustancialmente por uno o más genes de Fc a partir de cualquier organismo, incluyendo, pero no limitado a seres humanos, ratones, ratas, conejos, camellos, llamas, dromedarios, monos, preferiblemente mamíferos y más preferiblemente seres humanos y ratones. En una realización preferida, el polipéptido Fc parenteral compone un anticuerpo, y se refiere como el anticuerpo parenteral. El anticuerpo parenteral puede ser completamente humano, obtenido, por ejemplo, utilizando ratones transgénicos (Bruggemann et al., 1997, Curr Opin Biotechnol 8: 455-458) o bibliotecas de anticuerpos humanos junto con métodos de selección (Griffiths et al, 1998, Curr Opin Biotechnol 9: 102-108). El anticuerpo parenteral no tiene por qué ser de origen natural. Por ejemplo, el anticuerpo parenteral puede ser un anticuerpo modificado, incluyendo pero no limitado a, anticuerpos quiméricos y anticuerpos humanizados (Clark, 2000, Immunol Today 21: 397-402). El anticuerpo parenteral puede ser una variante modificada de un anticuerpo que está codificado sustancialmente por uno o más genes de anticuerpos naturales. En una realización, el anticuerpo parenteral ha sido madurado por afinidad, como se conoce en la técnica. Alternativamente, el anticuerpo se ha modificado de alguna otra manera, por ejemplo, como se describe en la patente de los Estados Unidos. No. 10/339.788, presentada el 3 de marzo de 2003.

Las variantes de Fc de la presente invención pueden estar codificadas sustancialmente por genes de inmunoglobulina que pertenecen a cualquiera de las clases de anticuerpos. En una realización preferida, las variantes de Fc de la presente invención encuentran su uso en anticuerpos o fusiones de Fc que comprenden las secuencias que pertenecen a la clase IgG de anticuerpos, incluyendo IgG1, IgG2, IgG3, o IgG4. En una realización alternativa, las variantes de Fc de la presente invención encuentran su uso en los anticuerpos o fusiones de Fc que comprenden las secuencias que pertenecen a las clases IgA (incluyendo las subclases IgA1 e IgA2), IgD, IgE, IgG, o IgM de anticuerpos. Las variantes de Fc de la presente invención pueden comprender más de una cadena de proteína. Es decir, la presente invención puede encontrar uso en un anticuerpo o fusión de Fc que es un monómero o un oligómero, incluyendo un homo- o hetero-oligómero.

En una realización preferida, los anticuerpos de la invención se basan en secuencias humanas y, por tanto, las secuencias humanas se utilizan como las secuencias de “base”, contra las cuales se comparan otras secuencias, tales como las secuencias de rata, ratón, y mono. A fin de establecer una homología con la secuencia o estructura primaria, la secuencia de aminoácidos de un precursor o polipéptido Fc parenteral se compara directamente con la secuencia de Fc humana que se describe en el presente documento. Después de alinear las secuencias, usando uno o más de los programas de alineamiento de homología conocidos en la técnica (por ejemplo, usando los residuos conservados como entre especies), permitiendo las inserciones y deleciones necesarias con el fin de mantener la alineación (es decir, evitando la eliminación de residuos conservados a través de la deleción e inserción arbitrarias), se definen los residuos equivalentes a aminoácidos particulares en la secuencia primaria de Fc humano. La alineación de residuos conservados preferiblemente debería conservar el 100% de tales residuos. Sin embargo, la alineación de más de 75% o tan poco como el 50% de residuos conservados es también adecuada para definir los residuos equivalentes (a veces conocidos como los “residuos correspondientes”). Los residuos equivalentes se pueden definir también mediante la determinación de la homología a nivel de la estructura terciaria para un polipéptido Fc cuya estructura terciaria ha sido determinada. Los residuos equivalentes se definen como aquellos para los que las coordenadas atómicas de dos o más de los átomos de la cadena principal de un residuo de aminoácido particular del original o el precursor (N en N, CA en CA, C en C y O en O) están dentro de 0,13 nm y preferiblemente 0,1 nm después de la alineación. La alineación se consigue después de que el mejor modelo ha sido

orientado y posicionado para dar el máximo solapamiento de las coordenadas atómicas de átomos de proteína de no hidrógeno del polipéptido Fc.

Las variantes de Fc de la presente invención se pueden combinar con otras modificaciones de Fc, incluyendo pero no limitado a modificaciones que alteran la función efectora o la interacción con uno o más ligandos Fc. Dicha combinación puede proporcionar propiedades aditivas, sinérgicas, o novedosas en anticuerpos o fusiones de Fc. En una realización, las variantes de Fc de la presente invención pueden combinarse con otras variantes de Fc conocidas (Duncan et al, 1988, Nature 332: 563-564; Lund et al, 1991, J Immunol 147: 2657-2662; Lund et al, 1992, Mol Immunol 29: 53-59; Alegre et al, 1994, Trasplantation 57: 1537-1543; Hutchins et al, 1995, Proc Natl Acad Sci USA 92: 11980-11984; Jefferis et al, 1995, Immunol Lett . 44: 111-117; Lund et al, 1995, Faseb J 9: 115-119; Jefferis et al, 1996, Immunol Lett. 54: 101-104; Lund et al, 1996, J Immunol 157: 4963-4969; Armour et al, 1999, Eur J Immunol. 29: 2613-2624; Idusogie et al, 2000, J Immunol 164: 4.178-4.184; Reddy et al, 2000, J Immunol 164: 1925-1933; Xu et al, 2000, Cell Immunol 200: 16-26; Idusogie et al, 2001, J Immunol 166: 2571-2575; Shields et al., 2001, J Biol Chem 276: 6591-6604; Jefferis et al., 2002, Immunol Lett, 82: 57-65; Presta et al, 2002, Biochem Soc Trans. 30: 487-490; Hinton et al, 2004, J Biol Chem, 279: 6.213-6.216) (patente de Estados Unidos No. 5.624.821; patente de Estados Unidos No. 5.885.573; patente de EE.UU. No. 6.194.551; documentos PCT WO 00/42072; PCT WO 99/58572; patente de Estados Unidos 2004/0002587 A1). En una realización alternativa, las variantes de Fc de la presente invención se incorporan en un anticuerpo o fusión de Fc que comprende una o más glicoformas modificadas. Por “glicoforma modificada”, como se usa en el presente documento, se entiende una composición de hidratos de carbono que está unida covalentemente a un polipéptido de Fc, en el que dicha composición de hidrato de carbonos difiere químicamente de la de un polipéptido Fc parenteral. Las glicoformas modificadas pueden ser útiles para una variedad de propósitos, incluyendo pero no limitado a aumentar o reducir la función efectora. Las glicoformas modificadas pueden ser generadas por una variedad de métodos conocidos en la técnica (Umaña et al, 1999, Nat Biotechnol. 17: 176-180; Davies et al, 2001, Biotechnol Bioeng 74: 288-294; Shields et al., 2002, J Biol Chem 277: 26.733-26.740; Shinkawa et al, 2003, J Biol Chem 278: 3466-3473); (Patente de Estados Unidos Nº 6.602.684; patente de los Estados Unidos. No. 10/277.370; patente de los Estados Unidos. No. 10/113.929; PCT WO 00/61739A1; PCT WO 01/29246A1; PCT WO 02/31140A1; PCT WO 02/30954A1); (Tecnología Potelligent™ [BioWa, Inc., Princeton, NJ]; tecnología de la ingeniería de glicosilación GlycoMAb™ [biotecnología GLYCART AG, Zurich, Suiza]). Muchas de estas técnicas se basan en el control del nivel de oligosacáridos fucosilados y/o de bisectriz que se unen covalentemente a la región Fc, por ejemplo mediante la expresión de un polipéptido de Fc en diversos organismos o líneas celulares, modificados o de otro modo (por ejemplo células Lec-13 CHO o células de hibridoma de rata YB2/0), mediante la regulación de enzimas implicadas en la ruta de glicosilación (por ejemplo FUT8 [α1,6-fucosiltranserasa] y/o β1-4-N-acetilglucosaminiltransferasa III [GnTIII]), o mediante la modificación de hidratos de carbono después de que el polipéptido de Fc se haya expresado. Las glicoformas modificadas se refieren típicamente a los diferentes hidratos de carbono u oligosacáridos; por lo tanto un polipéptido de Fc, por ejemplo, un anticuerpo o fusión de Fc, puede comprender una glicoforma modificada. Alternativamente, la glicoforma modificada puede referirse al polipéptido Fc que comprende el diferente hidrato de carbono u oligosacárido. Así, las combinaciones de las variantes de Fc de la presente invención con otras modificaciones de Fc, así como las modificaciones de Fc sin descubrir, se contemplan con el objetivo de generar nuevos anticuerpos o fusiones de Fc con propiedades optimizadas.

Las variantes de Fc de la presente invención pueden encontrar uso en un anticuerpo. Por “anticuerpo de la presente invención”, como se usa en este documento, se entiende un anticuerpo que comprende una variante de Fc de la presente invención. La presente invención puede, de hecho, encontrar uso en cualquier proteína que comprende Fc, y, por lo tanto, la aplicación de las variantes de Fc de la presente invención no se limita a los anticuerpos. Las variantes de Fc de la presente invención pueden encontrar uso en una fusión de Fc. Por “fusión de Fc de la presente invención”, como se usa en este documento, se refiere a una fusión de Fc que comprende una variante de Fc de la presente invención. Las fusiones de Fc pueden comprender una variante de Fc de la presente invención unida operativamente a una citoquina, dominio del receptor soluble, molécula de adhesión, ligando, enzima, péptido, u otro dominio de proteína o proteína, e incluyen pero no se limitan a fusiones de Fc descritas en las Patentes de EE.UU. No. 5.843.725; 6.018.026; 6.291.212; 6.291.646; 6.300.099; 6.323.323; el documento PCT WO 00/24782; y en (Chamow et al, 1996, Trends Biotechnol, 14: 52-60; Ashkenazi et al, 1997, Curr Opin Immunol 9: 195-200).

Prácticamente cualquier antígeno puede ser reconocido por los anticuerpos y fusiones de la presente invención, incluyendo pero no limitado a la siguiente lista de proteínas, subunidades, dominios, motivos, y epítopos pertenecientes a la siguiente lista de proteínas: CD2; CD3, CD3E, CD4, CD11, CD11a, CD14, CD16, CD18, CD19, CD20, CD22, CD23, CD25, CD28, CD29, CD30, CD32, CD33 (proteína p67), CD38, CD40, CD40L, CD52, CD54, CD56, CD80, CD147, GD3, IL-1, IL-1R, IL-2, IL-2R, IL-4, IL-5, IL-6, IL-6R, IL-8, IL-12, IL- 15, IL-18, IL-23, interferón alfa, interferón beta, interferón gamma; TNF-alfa, TNFbeta2, TNFc, TNFalphabeta, TNF-RI, TNF-RII, FasL, CD27L, CD30L, 4-1BBL, TRAIL, RANKL, TWEAK, APRIL, BAFF, LIGHT, VEGI, OX40L, TRAIL receptor-1, A1 receptor de adenosina, linfotoxina beta del receptor, TACI, BAFF-R, EPO; LFA-3, ICAM-1, ICAM-3, EpCAM, integrina beta1, integrina beta2, integrina alfa4/beta7, integrina alfa2, integrina alfa3, integrina alfa4, integrina alfa5, integrina alfa6, integrina alfaV, integrina alphaVbeta3, FGFR-3, factor de crecimiento de queratinocitos, VLA-1, VLA-4, L-selectina, anti-Id, E-selectina, HLA, HLA-DR, CTLA-4, receptor de células T, B7-1, B7-2, VNRintegrina, TGFbeta1, TGFbeta2, eotaxin1, BLyS (estimulador de B-linfocitos), complemento C5, IgE, factor VII, CD64, CBL, NCA 90, EGFR (ErbB-1), Her2/neu (ErbB-2), Her3 (ErbB-3), Her4 (ErbB-4), factor tisular, VEGF, VEGFR, receptor de endotelina, VLA-4,

hapteno NP-cap o NIP-cap, receptor de células T alfa/beta, E-selectina, digoxina, fosfatasa alcalina placentaria (PLAP) y fosfatasa alcalina testicular tipo PLAP, receptor de transferrina, antígeno carcinoembrionario (CEA), CEACAM5, HMFG PEM, mucina MUC1, MUC18, heparanasa I, miosina cardíaca humana, glicoproteína-72 (TAG-72) asociada a tumor, antígeno asociado a tumor CA 125, antígeno prostático específico de membrana (PSMA), antígeno asociado a melanoma de peso molecular alto (HMW-MAA), antígeno asociado a carcinoma, Gcoproteina IIb/IIIa (GPIIb/IIIa), antígeno asociado a tumor que expresa hidrato de carbonos relacionado con Lewis Y, glicoproteína de la envoltura gH (HCMV) del citomegalovirus humano, gp120 del VIH, HCMV, virus sincital respiratorio RSV F, RSVF Fgp, VNRintegrina, IL-8, antígeno asociado a tumor de citoqueratina, Hep B gp120, CMV, gpIIbIIIa, bucle IIIB del VIH gp120 V3, Fgp del virus sincitial respiratorio (RSV), glicoproteína gD del virus del herpes simple (HSV), glicoproteína gB del HSV, glicoproteína de la envuelta gB de HCMV, y toxina de Clostridium perfringens.

Cualquier experto en la técnica apreciará que la lista de objetivos anteriormente mencionada se refiere no sólo a proteínas específicas y biomoléculas, sino a la vía bioquímica o vías que las componen. Por ejemplo, la referencia a CTLA-4 como un antígeno diana implica que los ligandos y receptores que forman la vía de células T co-estimuladoras, incluyendo CTLA-4, B7-1, B7-2, CD28, y cualesquiera otros ligandos no descubiertos o receptores que se unen a estas proteínas, también son objetivos. Por lo tanto, el objetivo como se usa en este documento, se refiere no sólo a una biomolécula específica, sino al conjunto de proteínas que interactúan con dicha diana y los miembros de la ruta bioquímica a la que dicho objetivo pertenece. Cualquier experto en la técnica apreciará, además, que cualquiera de los antígenos objetivo mencionados, los ligandos o receptores a los que se unen, u otros miembros de su ruta bioquímica correspondiente, se pueden unir operativamente a las variantes de Fc de la presente invención con el fin de generar una fusión Fc. Así, por ejemplo, una fusión Fc que reconoce EGFR podría construirse uniendo operativamente una variante de Fc a EGF, TGFα, o cualquier otro ligando, descubierto o por descubrir, que se une a EGFR. Por consiguiente, una variante de Fc de la presente invención podría estar unida operativamente a EGFR con el fin de generar una fusión Fc que se une a EGF, TGFα, o cualquier otro ligando, descubierto o por descubrir, que se une a EGFR. Por lo tanto, virtualmente, cualquier polipéptido, tanto un ligando, receptor, como algún otro dominio de proteína o proteína, incluyendo pero no limitado a, los objetivos antes mencionados y las proteínas que componen sus correspondientes vías bioquímicas, se puede unir operativamente a las variantes de Fc de la presente invención para desarrollar una fusión Fc.

Un número de anticuerpos y fusiones de Fc que están aprobadas para su uso en ensayos clínicos o en desarrollo puede beneficiarse de las variantes de Fc de la presente invención. Dichos anticuerpos y fusiones de Fc se denominan en este documento “productos y candidatos clínicos”. Así, en una realización preferida, las variantes de Fc de la presente invención pueden encontrar uso en una gama de productos clínicos y candidatos. Por ejemplo, un número de anticuerpos que reconocen CD20 puede beneficiarse de las variantes de Fc de la presente invención. Por ejemplo, las variantes de Fc de la presente invención pueden encontrar uso en un anticuerpo que es sustancialmente similar a rituximab (Rituxan®, IDEC/Genentech/Roche) (véase, por ejemplo, Pat. de EE.UU. No. 5.736.137), un anticuerpo quimérico anti-CD20 aprobado para tratar el linfoma no Hodgkin; HuMax-CD20, un anticuerpo anti-CD20 que actualmente está siendo desarrollado por Genmab, un anticuerpo anti-CD20 descrito en la patente de los Estados Unidos. No. 5.500.362, AME-133 (Applied Molecular Evolution), hA20 (Immunomedics, Inc.), y HumaLYM (Intracel). Un número de anticuerpos que reconocen a los miembros de la familia de receptores del factor de crecimiento epidérmico, incluyendo EGFR (ErbB-1), Her2/neu (ErbB-2), Her3 (ErbB-3), Her4 (ErbB-4), se puede beneficiar de las variantes de Fc de la presente invención. Por ejemplo, las variantes de Fc de la presente invención pueden encontrar uso en un anticuerpo que es sustancialmente similar a trastuzumab (Herceptin®, Genentech) (véase, por ejemplo, la Pat. de EE.UU. No. 5.677.171), un anticuerpo humanizado anti-Her2/neu aprobado para tratar el cáncer de mama; pertuzumab (rhuMab-2C4, Omnitarg™), que está siendo desarrollado actualmente por Genentech; un anticuerpo anti-Her2 que se describe en la patente de los Estados Unidos. No. 4.753.894; cetuximab (Erbitux®), Imclone) (Patente de Estados Unidos No. 4.943.533; documento PCT WO 96/40210), un anticuerpo anti-EGFR quimérico en ensayos clínicos para una variedad de cánceres; ABX-EGF, que está siendo desarrollado por Abgenix/Immunex/Amgen (Patente de Estados Unidos No. 6.235.883); HuMax-EGFr (patente de los Estados Unidos. No. 10/172.317), que actualmente está siendo desarrollado por Genmab; 425, EMD55900, EMD62000, y EMD72000 (Merck KGaA) (Patente de Estados Unidos No. 5.558.864; Murthy et al 1987, Arch Biochem Biophys. 252 (2): 549-60; Rodeck et al, 1987, J Cell Biochem. 35 (4): 315-20; Kettleborough et al, 1991, Protein Eng. 4 (7): 773-83); ICR62 (Instituto de Investigación del Cáncer) (documento PCT WO 95/20045; Modjtahedi et al, 1993, J. Cell Biophys. 1993, 22 (1-3): 129-46; Modjtahedi et al, 1993, Br J Cancer. 1993, 67 (2): 247-53; Modjtahedi et al, 1996, Br J Cancer, 73 (2): 228-35; Modjtahedi et al, 2003, Int J Cancer, 105 (2): 273-80); TheraCIM hR3 (YM Biosciences, Canadá y Centro de Immunologia Molecular, Cuba (Patente de Estados Unidos Nº 5.891.996; Patente de Estados Unidos No. 6.506.883; Mateo et al, 1997, Immunotechnology, 3 (1): 71-81); mAb-806 (Ludwig Institute for Cancer Research, Memorial Sloan-Kettering) (Jungbluth et al 2003, Proc Natl Acad Sci USA. 100 (2): 639-44); KSB-102 (KS Biomedix); MR1-1 (IVAX, National Cancer Institute) (documento PCT WO 0162931A2); y SC100 (ScanCell) (documento PCT WO 01/88138). En otra realización preferida, las variantes de Fc de la presente invención pueden encontrar uso en alemtuzumab (Campath®, Millenium), un anticuerpo monoclonal humanizado aprobado actualmente para el tratamiento de la leucemia linfocítica crónica de células B. Las variantes de Fc de la presente invención pueden encontrar uso en una variedad de anticuerpos o fusiones de Fc que son sustancialmente similares a otros productos clínicos y candidatos, incluyendo, pero no limitados, a muromonab-CD3 (Orthoclone OKT3®), un anticuerpo anti-CD3 desarrollado por Ortho Biotech/Johnson & Johnson, ibritumomab

tiuxetan (Zevalin®), un anticuerpo anti-CD20 desarrollado por IDEC/Schering AG, gemtuzumab ozogamicina (Mylotarg®), un anticuerpo anti-CD33 (proteína p67) desarrollado por Celltech/Wyeth, alefacept (Amevive®), una fusión anti-LFA-3 Fc desarrollada por Biogen), abciximab (ReoPro®), desarrollado por Centocor/Lilly, basiliximab (Simulect®), desarrollado por Novartis, palivizumab (Synagis®), desarrollado por MedImmune, infliximab (Remicade®), un anticuerpo anti-TNF-alfa desarrollado por Centocor, adalimumab (Humira®), un anticuerpo anti-TNF-alfa desarrollado por Abbott, Humicade™, un anticuerpo anti-TNF-alfa desarrollado por Celltech, etanercept (Enbrel®), una fusión Fc anti-TNF-alfa desarrollada por Immunex/Amgen, ABX-CBL, un anticuerpo anti-CD147 que está siendo desarrollado por Abgenix, ABX-IL-8, un anticuerpo anti-IL-8 que está siendo desarrollado por Abgenix, ABX-MA1, un anticuerpo anti-MUC18 que está siendo desarrollado por Abgenix, Pemtumomab (R1549, ^{90}Y-muHMFG1), un anti-MUC1 en desarrollo de Antisoma, Therex (R1550), un anticuerpo anti-MUC1 que está siendo desarrollado por Antisoma, AngioMab (AS1405), que está siendo desarrollado por Antisoma, HUBc-1, que está siendo desarrollado por Antisoma, Tioplatino (AS1407) que está siendo desarrollado por Antisoma, Antegren® (natalizumab), un anti-alfa-4-beta-1 (VLA-4) y un anticuerpo alfa-4-beta-7 que está siendo desarrollado por Biogen, mAb VLA-1, un anticuerpo de integrina anti-VLA-1 que está siendo desarrollado por Biogen, mAb LTBR, un anticuerpo del receptor beta anti-linfotoxina (LTBR) que está siendo desarrollado por Biogen, CAT-152, un anticuerpo anti-TGF02 que está siendo desarrollado por Cambridge Antibody Technology, J695, un anticuerpo anti-IL-12 que está siendo desarrollado por Cambridge Antibody Technology y Abbott, CAT-192, un anticuerpo anti-TGFß1 que está siendo desarrollados por Cambridge Antibody Technology y Genzyme, CAT-213, un anticuerpo anti-Eotaxin1 que está siendo desarrollado por Cambridge Antibody Technology, LymphoStat-B™, un anticuerpo anti-Blys que está siendo desarrollado por Cambridge Antibody Technology and Human Genome Sciences Inc., TRAIL-R1mAb, un anticuerpo anti-TRAIL-R1 que está siendo desarrollado por Cambridge Antibody Technology and Human Genome Sciences, Inc., Avastin™ (bevacizumab, rhuMAb-VEGF), un anticuerpo anti-VEGF que está siendo desarrollado por Genentech, un anticuerpo de la familia de receptores anti-HER que está siendo desarrollado por Genentech, Factor anti-Tisular (ATF), un anticuerpo del Factor anti-Tisular que está siendo desarrollado por Genentech, Xolair™ (omalizumab), un anticuerpo anti-IgE que está siendo desarrollado por Genentech, Raptiva™ (efalizumab), un anticuerpo anti-CD11a que está siendo desarrollado por Genentech y Xoma, anticuerpo MLN-02 (anteriormente LDP-02), que está siendo desarrollado por Genentech y Millenium Pharmaceuticals, HuMax CD4, un anticuerpo anti-CD4 que está siendo desarrollado por Genmab, HuMax-IL15, un anticuerpo anti-IL15 que está siendo desarrollado por Genmab y Amgen, HuMax-Inflam, que está siendo desarrollado por Genmab y Medarex, HuMax-Cancer, un anticuerpo anti-heparanasa I que está siendo desarrollado por Genmab y Medarex y Oxford GcoSciences, HuMax-linfoma, que está siendo desarrollado por Genmab y Amgen, HuMax-TAC, que está siendo desarrollado por Genmab, IDEC-131, y el anticuerpo anti-CD40 que está siendo desarrollado por IDEC Pharmaceuticals, IDEC-151 (clenoliximab), un anticuerpo anti-CD4 que está siendo desarrollado por IDEC Pharmaceuticals, IDEC-114, un anticuerpo anti-CD80 que está siendo desarrollado por IDEC Pharmaceuticals, IDEC-152, un anti-CD23 que está siendo desarrollado por IDEC Pharmaceuticals, anticuerpos del factor de migración anti-macrófagos (MIF) que están siendo desarrollados por IDEC Pharmaceuticals, BEC2, un anticuerpo anti-idiotipo que está siendo desarrollado por Imclone, IMC-1C11, un anticuerpo anti-KDR que está siendo desarrollado por Imclone, DC101, un anticuerpo anti-flk-1 que está siendo desarrollado por Imclone, anticuerpos anti-VE cadherina que están siendo desarrollados por Imclone, CEA-Cide™ (labetuzumab), un anticuerpo del antígeno anti-carcinoembriónico (CEA) que está siendo desarrollado por Immunomedics, LymphoCide™ (epratuzumab), un anticuerpo anti-CD22 que está siendo desarrollado por Immunomedics, AFP-Cide, que está siendo desarrollado por Immunomedics, MyelomaCide, que está siendo desarrollado por Immunomedics, LkoCide, que está siendo desarrollado por Immunomedics, ProstaCide, que está siendo desarrollado por Immunomedics, MDX-010, un anticuerpo anti-CTLA4 que está siendo desarrollado por Medarex, MDX-060, un anticuerpo anti-CD30 que está siendo desarrollado por Medarex, MDX-070 que está siendo desarrollado por Medarex, MDX-018 que está siendo desarrollado por Medarex, Osidem™ (IDM-1), y el anticuerpo anti-Her2 que está siendo desarrollado por Medarex y Immuno-Designed Molecules, HuMax™-CD4, un anticuerpo anti-CD4 que está siendo desarrollado por Medarex y Genmab, HuMax-IL15, un anticuerpo anti-IL15 que está siendo desarrollado por Medarex y Genmab, CNTO 148, un anticuerpo anti-TNFα que está siendo desarrollado por Medarex y Centocor/J & J, CNTO 1275, un anticuerpo anti-citoquina que está siendo desarrollado por Centocor/J & J, MOR101 y MOR102, anticuerpos de anti-molécula de adhesión intercelular-1 (ICAM-1) (CD54) que están siendo desarrollados por MorphoSys, MOR201, un anticuerpo del receptor del factor de crecimiento anti-fibroblástico 3 (FGFR-3) que está siendo desarrollado por MorphoSys, Nuvion® (visilizuma b), un anticuerpo anti-CD3 que está siendo desarrollado por Protein Design Labs, HuZAF™, un anticuerpo anti-interferón gamma que está siendo desarrollado por Protein Design Labs, Anti-□5□1 integrina, que está siendo desarrollado por Protein Design Labs, anti-IL- 12, que está siendo desarrollado por Protein Design Labs, ING-1, un anticuerpo anti-Ep-CAM que está siendo desarrollado por Xoma, y MLN01, un anticuerpo anti-integrina Beta2 que está siendo desarrollado por Xoma.

La aplicación de las variantes Fc al anticuerpo antes mencionado y a los productos y candidatos clínicos de fusión Fc no está destinada a ser limitada a su composición precisa. Las variantes de Fc de la presente invención se pueden incorporar en los candidatos clínicos antes mencionados y productos, o en anticuerpos y fusiones de Fc que son sustancialmente similares a ellos. Las variantes de Fc de la presente invención se pueden incorporar en las versiones de los candidatos clínicos antes mencionados y los productos que están humanizados, madurados por afinidad, modificados, o modificados de alguna otra manera. Además, todo el polipéptido de los productos clínicos antes mencionados y los candidatos no necesita ser utilizado para construir un nuevo anticuerpo o fusión Fc que incorpore las variantes de Fc de la presente invención; por ejemplo, puede ser utilizada sólo la región variable de un

producto clínico o anticuerpo candidato, una región variable sustancialmente similar, o una versión humanizada, madurada por afinidad, modificada de la región variable. En otra realización, las variantes de Fc de la presente invención pueden encontrar uso en un anticuerpo o Fc de fusión que se una al mismo epítopo, antígeno, ligando, o receptor como uno de los productos clínicos antes mencionados y candidatos.

Las variantes de Fc de la presente invención pueden encontrar uso en una amplia gama de productos de anticuerpos y de fusión de Fc. En una realización, el anticuerpo o fusión de Fc de la presente invención es un agente terapéutico, diagnóstico o un reactivo de investigación, preferiblemente un agente terapéutico. Alternativamente, los anticuerpos y fusiones de Fc de la presente invención pueden utilizarse para usos agrícolas o industriales. En una realización alternativa, las variantes de Fc de la presente invención componen una biblioteca que se puede rastrear experimentalmente. Esta biblioteca puede ser una lista de secuencias de ácidos nucleicos o aminoácidos, o puede ser una composición física de ácidos nucleicos o polipéptidos que codifican las secuencias de la biblioteca. La variante de Fc puede encontrar uso en una composición de anticuerpos que es monoclonal o policlonal. Los anticuerpos y fusiones de Fc de la presente invención pueden ser agonistas, antagonistas, neutralizantes, inhibitorios, o estimuladores. En una realización preferida, los anticuerpos y fusiones de Fc de la presente invención se utilizan para matar las células diana que llevan el antígeno diana, por ejemplo, las células cancerosas. En una realización alternativa, los anticuerpos y fusiones de Fc de la presente invención se utilizan para bloquear, antagonizar o agonizar el antígeno diana, por ejemplo para antagonizar un receptor de citoquina o citoquinas. En una realización preferida alternativa, los anticuerpos y fusiones de Fc de la presente invención se utilizan para bloquear, antagonizar o agonizar el antígeno diana y matar las células diana que llevan el antígeno diana.

Las variantes de Fc de la presente invención pueden utilizarse para diversos fines terapéuticos. En una realización preferida, las proteínas variantes de Fc se administran a un paciente para tratar un trastorno relacionado con anticuerpos. Un “paciente” para los fines de la presente invención incluye tanto seres humanos como otros animales, preferiblemente mamíferos y seres humanos, lo más preferiblemente. Así, los anticuerpos y fusiones de Fc de la presente invención tienen tanto aplicaciones de terapia humana como veterinarias. En la realización preferida el paciente es un mamífero, y en la realización más preferida el paciente es un ser humano. El término “tratamiento” en la presente descripción se entiende que incluye el tratamiento terapéutico, así como profiláctico o medidas supresoras para una enfermedad o trastorno. Así, por ejemplo, la administración exitosa de un anticuerpo o fusión de Fc antes de la aparición de la enfermedad da como resultado el tratamiento de la enfermedad. Como otro ejemplo, la administración exitosa de un anticuerpo optimizado o fusión de Fc después de la manifestación clínica de la enfermedad para combatir los síntomas de la enfermedad comprende el tratamiento de la enfermedad. “Tratamiento” también abarca la administración de un anticuerpo optimizado o proteína de fusión Fc después de la aparición de la enfermedad con el fin de erradicar la enfermedad. La administración exitosa de un agente después de la aparición y después de que los síntomas clínicos se han desarrollado, con una posible reducción de los síntomas clínicos y quizás la mejoría de la enfermedad, comprende el tratamiento de la enfermedad. Aquellos “en necesidad de tratamiento” incluyen mamíferos que ya tienen la enfermedad o el trastorno, así como aquellos propensos a tener la enfermedad o el trastorno, incluyendo aquellos en los que debe prevenirse la enfermedad o el trastorno. Por “trastorno relacionado con el anticuerpo” o “trastorno sensible al anticuerpo” o “condición” o “enfermedad” en este documento se entiende un trastorno que puede ser mejorado por la administración de una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo o fusión de Fc de la presente invención. Los trastornos relacionados con los anticuerpos incluyen, pero no se limitan, a las enfermedades autoinmunes, enfermedades inmunológicas, enfermedades infecciosas, enfermedades inflamatorias, enfermedades neurológicas, y enfermedades oncológicas y neoplásicas, incluyendo el cáncer. Por “cáncer” y “canceroso” en el presente documento se refiere o se describe la condición fisiológica en mamíferos que se caracteriza típicamente por un crecimiento celular no regulado. Ejemplos de cáncer incluyen, pero no se limitan a, carcinoma, linfoma, blastoma, sarcoma (incluyendo liposarcoma), tumores neuroendocrinos, mesotelioma, schwanoma, meningioma, adenocarcinoma, melanoma, y leucemia o malignidades linfoides. Ejemplos más particulares de dichos cánceres incluyen cáncer de células escamosas (por ejemplo, cáncer de células escamosas epiteliales), cáncer de pulmón incluyendo cáncer de pulmón de células pequeñas, cáncer de pulmón de células no pequeñas, adenocarcinoma del pulmón y carcinoma escamoso del pulmón, cáncer del peritoneo, cáncer hepatocelular, cáncer gástrico o de estómago incluyendo cáncer gastrointestinal, cáncer pancreático, glioblastoma, cáncer cervical, cáncer de ovario, cáncer de hígado, cáncer de vejiga, hepatoma, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer rectal, cáncer colorrectal, carcinoma endometrial o uterino, carcinoma de las glándulas salivales, cáncer de riñón o renal, cáncer de próstata, cáncer de vulva, cáncer de tiroides, carcinoma hepático, carcinoma anal, carcinoma de pene, cáncer testicular, cáncer esofágico, tumores del tracto biliar, así como cáncer de cabeza y cuello. Además, las variantes de Fc de la presente invención se pueden usar para tratar afecciones que incluyen, pero no se limitan a, la insuficiencia cardíaca congestiva (CHF), vasculitis, rosecea, acné, eczema, miocarditis y otras condiciones del miocardio, lupus eritematoso sistémico, diabetes, espondilopatías , fibroblastos sinoviales, y estroma de médula ósea; pérdida de hueso; enfermedad de Paget, osteoclastoma; mieloma múltiple; cáncer de mama; osteopenia por desuso; malnutrición, enfermedad periodontal, enfermedad de Gaucher, histiocitosis de células de Langerhans, lesión de la médula espinal, artritis séptica aguda, osteomalacia, síndrome de Cushing, displasia fibrosa monostótica, displasia fibrosa poliostótica, reconstrucción periodontal, y fracturas óseas; sarcoidosis; mieloma múltiple; cánceres óseos osteolíticos, cáncer de pecho, cáncer de pulmón, cáncer de riñón y cáncer rectal; metástasis ósea, gestión de dolor de huesos, e hipercalcemia maligna humoral, espondialistis anquilosante y otras espondiloartropatías; rechazo de trasplantes, infecciones virales, neoplasisas hematológicas y condiciones del tipo neoplásicas, por ejemplo, linfoma

de Hodgkin; linfomas no Hodgkin (linfoma de Burkitt, linfoma linfocítico pequeño/leucemia linfocítica crónica, micosis fungoide, linfoma de células del manto, linfoma folicular, linfoma de células B grandes, linfoma de la zona marginal, leucemia de células pilosas y leucemia linfoplasmocítica difusa), tumores de células precursoras de linfocitos, incluyendo la leucemia linfoblástica aguda de células B/linfoma, y leucemia/linfoma linfoblástico agudo de células T, timoma, tumores de las células T y NK maduras, incluyendo leucemias de células T periféricas, leucemia de células T adultas/linfomas células T y leucemia linfocítica granular grande, histiocitosis de células de Langerhans, neoplasias mieloides, tales como leucemias mielógenas agudas, incluyendo AML con maduración, AML sin diferenciación, leucemia promielocítica aguda, leucemia mielomonocítica aguda y leucemias monocíticas agudas, síndromes mielodisplásicos y trastornos mieloproliferativos crónicos, incluyendo leucemia mielógena crónica, tumores del sistema nervioso central, por ejemplo, tumores cerebrales (glioma, neuroblastoma, astrocitoma, meduloblastoma, ependimoma, y retinoblastoma), tumores sólidos (cáncer nasofaríngeo, carcinoma de células basales, cáncer pancreático, cáncer del conducto biliar, sarcoma de Kaposi, cáncer testicular, cánceres de útero, vaginal o cervical, cáncer de ovario, cáncer primario de hígado o cáncer de endometrio, y tumores del sistema vascular (angiosarcoma y hemangiopericitoma), osteoporosis, hepatitis, VIH, SIDA, espondiloartritis, artritis reumatoide, enfermedades inflamatorias del intestino (IBD), sepsis y choque séptico, enfermedad de Crohn, psoriasis, esclerodermia, enfermedad de injerto contra huésped (GVHD), rechazo alogénico de injertos de islotes, neoplasias malignas hematológicas, tales como el mieloma múltiple (MM), síndrome mielodisplásico (MDS) y la leucemia mielógena aguda (AML), inflamación asociada con tumores, lesión del nervio periférico o enfermedades desmielinizantes.

En un caso, un anticuerpo o fusión de Fc de la presente invención se administra a un paciente que tiene una enfermedad que implica la expresión inapropiada de una proteína. Dentro del alcance de la presente descripción, esto pretende incluir enfermedades y trastornos caracterizados por proteínas aberrantes, debido, por ejemplo, a alteraciones en la cantidad de una proteína presente, la presencia de una proteína mutante, o ambos. Un exceso puede ser debido a cualquier causa, incluyendo, pero no limitado a, la sobreexpresión a nivel molecular, prolongada o aparición acumulada en el sitio de acción, o aumento de la actividad de una proteína con relación a la normalidad. Se incluyen dentro de esta definición enfermedades y trastornos caracterizados por una reducción de una proteína. Esta reducción puede ser debida a cualquier causa, incluyendo, pero no limitado a la expresión reducida a nivel molecular, aparición acortada o reducida en el sitio de acción, formas mutantes de una proteína, o disminución de la actividad de una proteína con relación a la normalidad. Una sobreabundancia o reducción tal de una proteína se puede medir en relación a la expresión normal, la apariencia, o la actividad de una proteína, y dicha medición pueden desempeñar un papel importante en el desarrollo y/o la prueba clínica de los anticuerpos y fusiones de Fc de la presente invención.

En un caso, un anticuerpo o fusión de Fc de la presente invención es el único agente terapéuticamente activo administrado a un paciente. Alternativamente, el anticuerpo o la fusión de Fc de la presente invención se administra en combinación con uno o más de agentes terapéuticos diferentes, incluyendo, pero no limitados, a agentes citotóxicos, agentes quimioterapéuticos, citoquinas, agentes inhibidores del crecimiento, agentes anti-hormonales, inhibidores de quinasa, agentes anti-angiogénicos, cardioprotectores u otros agentes terapéuticos. Tales moléculas están presentes adecuadamente en combinación en cantidades que son eficaces para el propósito pretendido. El médico experto puede determinar empíricamente la dosis o las dosis apropiadas de otros agentes terapéuticos útiles en esta invención. Los anticuerpos y fusiones de Fc de la presente invención se pueden administrar de forma concomitante con uno o más de otros regímenes terapéuticos. Por ejemplo, un anticuerpo o fusión de Fc de la presente invención se pueden administrar al paciente junto con quimioterapia, radioterapia, o quimioterapia y terapia de radiación. En un caso, el anticuerpo o fusión de Fc de la presente invención se pueden administrar en combinación con uno o más anticuerpos o fusiones de Fc, que pueden o pueden no comprender una variante de Fc de la presente invención.

En un caso, los anticuerpos y fusiones de Fc de la presente invención se administran con un agente quimioterapéutico. Por “agente quimioterapéutico”, como se usa en este documento, se entiende un compuesto químico útil en el tratamiento del cáncer. Ejemplos de agentes quimioterapéuticos incluyen, pero no se limitan, a agentes alquilantes tales como tiotepa y ciclofosfamida (CYTOXAN™); sulfonatos de alquilo tales como busulfán, improsulfan y piposulfan; aziridinas tales como benzodopa, carboquona, meturedopa, y uredopa; etileniminas y metilamelaminas incluyendo altretamina, trietilenmelamina, trietilenfosforamida, trietilentiofosforamida y trimetilolomelamina; mostazas de nitrógeno tales como clorambucilo, clornafazina, colofosfamida, estramustina, ifosfamida, mecloretamina, clorhidrato de óxido de mecloretamina, melfalán, novembichina, fenesterina, prednimustina, trofosfamida, mostaza de uracilo; nitrosoureas tales como carmustina, clorozotocina, fotemustina, lomustina, nimustina, ranimustina; antibióticos tales como aclacinomisinas, actinomicina, autramicina, azaserina, bleomicinas, cactinomicina, caliqueamicina, carabicina, caminomicina, carzinofilina, cromomicinas, dactinomicina, daunorrubicina, detorrubicina, 6-diazo-5-oxo-L-norleucina, doxorubicina, epirubicina, esorubicina, idarubicina, marcelomicina, mitomicinas, ácido micofenólico, nogalamicina, olivomicinas, peplomicina, potfiromicina, puromicina, quelamicina, rodorubicina, estreptonigrina, estreptozocina, tubercidina, ubenimex, zinostatina, zorubicina; antimetabolitos tales como metotrexato y 5-fluorouracilo (5-FU); análogos del ácido fólico tales como denopterina, metotrexato, pteropterina, trimetrexato; análogos de purina tales como fludarabina, 6-mercaptopurina, tiamiprina, tioguanina; análogos de pirimidina tales como ancitabina, azacitidina, 6-azauridina, carmofur, citarabina, didesoxiuridina, doxifluridina, enocitabina, floxuridina, 5-FU; andrógenos tales como calusterona, propionato de

dromostanolona, epitiostanol, mepitiostano, testolactona; anti-adrenales tales como aminoglutetimida, mitotano, trilostano; rellenador de ácido fólico tal como ácido frolínico; aceglatona; glicósido de aldofosfamida; ácido aminolevulínico; amsacrina; bestrabucilo; bisantreno; edatraxato; defofamina; demecolcina; diazicuona; elformitina; acetato de eliptinio; etoglucido; nitrato de galio; hidroxiurea; lentinan; lonidamina; mitoguazona; mitoxantrona; mopidamol; nitracrina; pentostatina; fenameto; pirarrubicin; ácido podofilínico; 2-etilhidrazida; procarbazina; PSK®; razoxana; sizofuran; espirogermanio; ácido tenuazónico; triazicuona; 2,2',2"-triclorotrietilamina; uretano; vindesina; dacarbazina; manomustina; mitobronitol; mitolactol; pipobromano; gacitosina; arabinósido ("Ara-C"); ciclofosfamida; tiotepa; taxanos, por ejemplo, paclitaxel (TAXOL®, Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, NJ) y docetaxel (TAXOTERE®, Rhne-Poulenc Rorer, Antony, Francia); clorambucil; gemcitabina; 6-tioguanina; mercaptopurina; metotrexato; análogos de platino tales como cisplatino y carboplatino; vinblastina; platino; etopósido (VP-16); ifosfamida; mitomicina C; mitoxantrona; vincristina; vinorelbina; navelbina; novantrona; tenipósido; daunomicina; aminopterina; xeloda; ibandronato; CPT-11; inhibidor de topoisomerasa RFS 2000; difluorometilornitina (DMFO); ácido retinoico; esperamicinas; capecitabina; inhibidor de la timidilato sintasa (tales como Tomudex); inhibidores de COX-2, tales como celicoxib (CELEBREX®) o MK-0966 (VIOXX®); y sales, ácidos o derivados de cualquiera de los anteriores farmacéuticamente aceptables. También se incluyen en esta definición los agentes anti-hormonales que actúan para regular o inhibir la acción hormonal sobre tumores, tales como agentes anti-estrógenos incluyendo, por ejemplo, tamoxifeno, raloxifeno, inhibidores de aromatasa 4(5)-imidazoles, 4-hidroxitamoxifeno, trioxifeno, keoxifeno, LY 117018, onapristona, y toremifeno (Fareston); y agentes antiandrógenos tales como flutamida, nilutamida, bicalutamida, leuprolida, y goserelina; y sales, ácidos o derivados de cualquiera de los anteriores farmacéuticamente aceptables.

Se puede administrar un agente quimioterapéutico u otro citotóxico como profármaco. Por "profármaco", tal como se utiliza en este documento, se entiende un precursor o forma derivada de una sustancia farmacéuticamente activa que es menos citotóxica para las células tumorales en comparación con el fármaco original y es capaz de ser activado o convertido enzimáticamente en la forma parenteral más activa. Véase, por ejemplo, Wilman, 1986, Biochemical Society Transactions, 615a Meeting Belfast, 14: 375-382; y Stella et al, "Prodrugs: A Chemical Approach to Targeted Drug Delivery", Directed Drug Delivery, Borchardt et al, (ed.): 247-267, Humana Press, 1985. Los profármacos que pueden encontrar uso con la presente invención incluyen, pero no se limitan a los profármacos que contienen fosfato, profármacos que contienen tiofosfato, profármacos que contienen sulfato, profármacos que contienen péptidos, profármacos modificados con D-aminoácidos, profármacos glicosilados, profármacos que contienen beta-lactama, profármacos que contienen fenoxiacetamida opcionalmente sustituidos o profármacos que contienen fenilacetamida opcionalmente sustituidos, profármacos de 5-fluorocitosina y otros de 5-fluorouridina que se pueden convertir en el fármaco libre citotóxico más activo. Ejemplos de fármacos citotóxicos que pueden derivatizarse en una forma de profármaco para su uso con los anticuerpos y fusiones de Fc de la presente invención incluyen, pero no se limitan a, cualquiera de los agentes quimioterapéuticos mencionados.

Los anticuerpos y fusiones de Fc de la presente invención pueden combinarse con otros regímenes terapéuticos. Por ejemplo, en un caso, el paciente a tratar con el anticuerpo o fusión de Fc también puede recibir radioterapia. La radioterapia se puede administrar según protocolos comúnmente empleados en la técnica y conocidos por los expertos en la materia. Dicha terapia incluye, pero no se limita a, radiación de cesio, iridio, yodo o cobalto. La radioterapia puede ser la irradiación completa del cuerpo, o puede estar dirigida localmente a un sitio o tejido específico en o sobre el cuerpo, tal como el pulmón, la vejiga o la próstata. Típicamente, la radioterapia se administra en pulsos durante un período de tiempo de aproximadamente 1 a 2 semanas. La radioterapia puede, sin embargo, ser administrada durante períodos de tiempo más largos. Por ejemplo, la radioterapia se puede administrar a pacientes que tienen cáncer de cabeza y cuello por aproximadamente 6 a aproximadamente 7 semanas. Opcionalmente, la radioterapia puede administrarse como una dosis única o como dosis múltiples y secuenciales. El médico experto puede determinar empíricamente la dosis o las dosis apropiadas de la radioterapia, útiles en este documento. De acuerdo con otro caso de la descripción, el anticuerpo o la fusión de Fc de la presente invención y una o más de otras terapias contra el cáncer se emplean para tratar células cancerosas ex vivo. Se contempla que tal tratamiento ex vivo puede ser útil en el trasplante de médula ósea y, en particular, el trasplante autólogo de médula ósea. Por ejemplo, el tratamiento de células o tejido(s) que contienen células cancerosas con anticuerpo o fusión de Fc y una o más de otras terapias contra el cáncer, como se ha descrito anteriormente, se puede emplear para eliminar o eliminar sustancialmente las células cancerosas antes del trasplante en un paciente receptor. Se contempla, por supuesto, que los anticuerpos y fusiones de Fc de la invención se puedan emplear en combinación con aún otras técnicas terapéuticas, tales como la cirugía.

En un caso alternativo, los anticuerpos y fusiones de Fc de la presente invención se administran con una citoquina. Por "citoquina", como se usa en este documento, se entiende un término genérico para proteínas liberadas por una población celular que actúan sobre otra célula como mediadores intercelulares. Ejemplos de dichas citoquinas son linfoquinas, monoquinas, y hormonas polipeptídicas tradicionales. Entre las citoquinas se incluyen hormonas del crecimiento, tales como la hormona de crecimiento humana, hormona del crecimiento humano N-metionilo, y hormona de crecimiento bovina; hormona paratiroidea; tiroxina; insulina; proinsulina; relaxina; prorelaxina; hormonas glicoproteicas tales como la hormona estimulante del folículo (FSH), hormona estimulante del tiroides (TSH), y hormona luteinizante (LH); factor de crecimiento hepático; factor de crecimiento de fibroblastos; prolactina; lactógeno placentario; factor de necrosis tumoral alfa y beta; sustancia inhibidora de Müller; péptido gonadotropina de ratón asociado; inhibina; activina; factor de crecimiento vascular endotelial; integrina; trombopoyetina (TPO); factores de

crecimiento nervioso, tales como NGF-beta; factor de crecimiento plaquetario; factores de crecimiento transformante (TGF) tales como TGF-alfa y TGF-beta; factor de crecimiento I y II tipo insulina; eritropoyetina (EPO); factores osteoinductivos; interferones tales como el interferón alfa, beta, y gamma; factores estimulantes de colonias (CSFs) tales como el CSF de macrófagos (M-CSF); granulocito-macrófago-CSF (GM-CSF); y CSF de granulocitos (G-CSF); interleucinas (IL) tales como IL-1, IL-1 alfa, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10 , IL-11, IL-12; IL-15, un factor de necrosis tumoral, tal como TNF-alfa o TNF-beta; y otros factores de polipéptidos que incluyen LIF y ligando kit (KL). Tal como se utiliza en este documento, el término citoquina incluye proteínas de fuentes naturales o de cultivos celulares recombinantes y equivalentes biológicamente activos de las citoquinas de secuencia nativa.

Una variedad de otros agentes terapéuticos puede encontrar uso para la administración con los anticuerpos y fusiones de Fc de la presente invención. En un caso, el anticuerpo o la fusión de Fc se administra con un agente anti-angiogénico. Por “agente anti-angiogénico”, como se usa en este documento, se entiende un compuesto que bloquea, o interfiere en cierto grado, el desarrollo de los vasos sanguíneos. El factor anti-angiogénico puede, por ejemplo, ser una molécula pequeña o una proteína, por ejemplo, un anticuerpo, fusión de Fc, o citoquina, que se une a un receptor del factor de crecimiento o factor de crecimiento implicado en la promoción de la angiogénesis. El factor anti-angiogénico preferido en este documento es un anticuerpo que se une al Factor de Crecimiento Vascular Endotelial (VEGF). En una realización alternativa, el anticuerpo o la fusión de Fc se administra con un agente terapéutico que induce o mejora la respuesta inmune adaptativa, por ejemplo, un anticuerpo que reconoce a CTLA-4. En un caso alternativo, el anticuerpo o la fusión de Fc se administra con un inhibidor de la tirosina quinasa. Por “inhibidor de la tirosina quinasa”, como se usa en el presente documento, se entiende una molécula que inhibe en cierta medida la actividad de quinasa de tirosina de una tirosina quinasa. Ejemplos de tales inhibidores incluyen, pero no se limitan a, las quinazolinas, tales como PD 153035, 4-(3-cloroanilino)quinazolina; piridopirimidinas; pirimidopirimidinas; pirrolopirimidinas, tales como CGP 59326, CGP 60261 y CGP 62706; pirazolopirimidinas, 4-(fenilamino)-7H-pirrolo(2,3-d)pirimidinas; curcumina (metano diferuloilo, 4,5-bis(4-fluoroanilino)ftalimida); tirfostinas que contienen restos de nitrotiofeno; PD-0183805 (Warner-Lambert); moléculas antisentido (por ejemplo, aquellos que se unen al ácido nucleico que codifica ErbB); quinoxalinas (Patente de Estados Unidos No. 5.804.396); trifostinas (Patente de Estados Unidos No. 5.804.396); ZD6474 (Astra Zeneca); PTK-787 (Novartis/Schering AG); inhibidores pan-ErbB tales como C1-1033 (Pfizer); Affinitac (ISIS 3521; Isis/Lilly); Imatinib mesilato (ST1571, Gleevec®; Novartis); PKI 166 (Novartis); GW2016 (Glaxo SmithKline); C1-1033 (Pfizer); EKB-569 (Wyeth); Semaxinib (Sugen); ZD6474 (AstraZeneca); PTK-787 (Novartis/Schering AG); INC-1C11 (Imclone); o como se describe en cualquiera de las siguientes publicaciones de patentes: Pat. de EE.UU. No. 5.804.396; documento PCT WO 99/09016 (American Cyanamid); documento PCT WO 98/43960 (American Cyanamid); documento PCT WO 97/38983 (Warner-Lambert); documento PCT WO 99/06378 (Warner-Lambert); documento PCT WO 99/06396 (Warner-Lambert); documento PCT WO 96/30347 (Pfizer, Inc); documento PCT WO 96/33978 (AstraZeneca); documento PCT WO96/3397 (AstraZeneca); documento PCT WO 96/33980 (AstraZeneca), gefitinib (IRESSA™, ZD1839, AstraZeneca), y OSI-774 (Tarceva™, OSI Pharmaceuticals/Genentech).

Una variedad de enlazadores puede encontrar uso en la presente invención para generar fusiones de Fc (véase la definición anterior) o conjugados de anticuerpo o de fusión de Fc (véase la definición más adelante). Por “enlazador”, “secuencia de unión”, “espaciador”, “secuencia de inmovilización” o equivalentes gramaticales de los mismos, en este documento se entiende una molécula o grupo de moléculas (tales como un monómero o polímero) que conecta dos moléculas y, a menudo, sirve para colocar las dos moléculas en una configuración preferida. Un número de estrategias se puede usar para unir covalentemente moléculas juntas. Estos incluyen, pero no se limitan a, los enlaces de polipéptidos entre N- y C-terminales de las proteínas o dominios de proteína, la unión a través de enlaces disulfuro, y la unión a través de reactivos de reticulación químicos. En un aspecto de esta realización, el enlazador es un enlace peptídico, generado mediante técnicas recombinantes o síntesis de péptidos. La elección de un enlazador adecuado para un caso específico en el que se pueden conectar dos cadenas polipeptídicas depende de varios parámetros, incluyendo, pero no limitado a, la naturaleza de las dos cadenas polipeptídicas (por ejemplo, ya sea que naturalmente oligomericen), la distancia entre los extremos N- y C-terminales a conectar si se conoce, y/o la estabilidad del enlazador hacia la proteolisis y la oxidación. Además, el enlazador puede contener residuos de aminoácidos que proporcionen flexibilidad. Por lo tanto, el péptido enlazador puede incluir predominantemente los siguientes residuos de aminoácidos: Gly, Ser, Ala, o Thr. El péptido enlazador debe tener una longitud que sea adecuada para unir dos moléculas de tal manera que asuman la conformación correcta de una respecto a la otra de modo que conserven la actividad deseada. Las longitudes adecuadas para este fin incluyen al menos uno y no más de 30 residuos de aminoácidos. Preferiblemente, el enlazador tiene aproximadamente de 1 a 30 aminoácidos de longitud, siendo preferidos los enlazadores de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 19 y 20 aminoácidos de longitud. Además, los residuos de aminoácidos seleccionados para la inclusión en el péptido enlazador deben exhibir propiedades que no interfieran significativamente con la actividad del polipéptido. Por lo tanto, el péptido enlazador en el conjunto no debe exhibir una carga que sea incompatible con la actividad del polipéptido, o interferir con el plegamiento interno, o formar enlaces u otras interacciones con los residuos de aminoácidos en uno o más de los monómeros, que impida seriamente la unión de dominios monoméricos del receptor. Los enlazadores útiles incluyen polímeros de glicina-serina (incluyendo, por ejemplo, (GS)n, (GSGGS)n, (GGGGS)n y (GGGS)n, donde n es un número entero de al menos uno), polímeros de glicina-alanina, polímeros de alanina-serina y otros enlazadores flexibles, tales como el anclaje para el canal de potasio agitador, y una gran variedad de otros enlazadores flexibles, tal como se aprecia por los expertos en la técnica. Se prefieren polímeros de glicina-serina ya que ambos de estos aminoácidos son relativamente no estructurados y, por lo tanto, pueden ser

capaces de servir como un anclaje neutral entre los componentes. En segundo lugar, la serina es hidrofílica y por lo tanto es capaz de solubilizarse, lo que podría ser una cadena de glicina globular. En tercer lugar, cadenas similares han demostrado ser eficaces en unirse a subunidades de proteínas recombinantes tales como anticuerpos de cadena sencilla. Enlazadores adecuados también pueden ser identificados mediante el cribado de bases de datos de estructuras tridimensionales conocidas para detectar motivos de origen natural que puedan cerrar el hueco entre dos cadenas de polipéptidos. En una realización preferida, el enlazador no es inmunogénico cuando se administra en un paciente humano. Por lo tanto, los enlazadores pueden ser elegidos de forma tal que tienen baja inmunogenicidad o se cree que tienen una baja inmunogenicidad. Por ejemplo, puede elegirse un enlazador que exista naturalmente en los seres humanos. En un caso preferido, el enlazador tiene la secuencia de la región bisagra de un anticuerpo, que es la secuencia que une las regiones de anticuerpo Fab y Fc; alternativamente, el enlazador tiene una secuencia que comprende parte de la región bisagra, o una secuencia que es sustancialmente similar a la región bisagra de un anticuerpo. Otra forma de obtener un enlazador adecuado es mediante la optimización de un enlazador simple, por ejemplo, (Gly4Ser)n, a través de mutagénesis aleatoria. Alternativamente, una vez se ha definido un enlazador de polipéptido adecuado, pueden ser creados polipéptidos enlazadores adicionales para seleccionar los aminoácidos que interactúan de manera más óptima con los dominios que se unen. Otros tipos de enlazadores que se pueden utilizar en la presente invención incluyen enlazadores de polipéptido artificiales e inteinas. En otro caso, los enlaces disulfuro están diseñados para enlazar las dos moléculas. En otro caso, los enlazadores son agentes de reticulación químicos. Por ejemplo, una variedad de agentes de acoplamiento de proteínas bifuncionales se puede utilizar, incluyendo pero no limitado a propionato de N-succinimidil-3-(2-piridilditiol) (SPDP), ciclohexano-1-carboxilato de succinimidil-4-(N-maleimidometil), iminotiolano (IT), derivados bifuncionales de imidoésteres (tales como dimetil adipimidato HCL), ésteres activos (tales como suberato de disuccinimidilo), aldehídos (tales como glutaraldehído), compuestos bis-azido (tales como bis(p-azidobenzoilo)hexanodiamina), derivados de bis-diazonio (tales como bis-(p-diazoniobenzoil)-etilendiamina), diisocianatos (tales como, toluen 2,6-diisocianato) y compuestos de flúor bis-activos (tales como 1,5-difluoro-2,4-dinitrobenceno). Por ejemplo, se puede preparar una inmunotoxina de ricina como se describe en Vitetta et al, 1971, Science 238: 1098. Los enlazadores químicos pueden permitir la quelación de un isótopo. Por ejemplo, el ácido 1-isotiocianatobencil-3-metildietilen triaminopentaacético marcado con carbono-14 (MX-DTPA) es un ejemplo de agente quelante para la conjugación de radionucleótidos con el anticuerpo (véase el documento PCT WO 94/11026). El enlazador puede ser escindible, facilitando la liberación del fármaco citotóxico en la célula. Por ejemplo, un enlazador lábil en medio ácido, un enlazador sensible a peptidasa, un enlazador de dimetilo o un enlazador que contiene disulfuro (Chari et al, 1992, Cancer Research 52: 127-131) pueden ser utilizados. Alternativamente, una variedad de polímeros no proteicos, incluyendo, pero no limitados a, polietilenglicol (PEG), polipropilenglicol, polioxialquilenos, o copolímeros de polietilenglicol y polipropilenglicol, pueden encontrar uso como enlazadores, es decir, pueden encontrar uso para unir las variantes de Fc de la presente invención a una pareja de fusión para generar una fusión de Fc, o para unir los anticuerpos y fusiones de Fc de la presente invención a un conjugado.

En un caso, el anticuerpo o fusión de Fc de la presente invención está conjugado o unido operativamente a otro compuesto terapéutico, que se refiere en este documento como un conjugado. El conjugado puede ser un agente citotóxico, un agente quimioterapéutico, una citoquina, un agente anti-angiogénico, un inhibidor de tirosina quinasa, una toxina, un radioisótopo u otro agente terapéuticamente activo. Los agentes quimioterapéuticos, citoquinas, agentes anti-angiogénicos, inhibidores de tirosina quinasa, y otros agentes terapéuticos se han descrito anteriormente, y todos estos agentes terapéuticos anteriormente mencionados pueden encontrar uso como conjugados de anticuerpos o fusión de Fc. En un caso alternativo, el anticuerpo o fusión de Fc está conjugado o unido operativamente a una toxina, incluyendo, pero no limitado a, toxinas de molécula pequeña y toxinas enzimáticamente activas de origen bacteriano, fúngico, vegetal o animal, incluyendo fragmentos y/o variantes de los mismos. Las toxinas de molécula pequeña incluyen, pero no se limitan a caliqueamicina, maitansina (Pat. de EE.UU. No. 5.208.020), tricoteno, y CC1065. En un caso de la descripción, el anticuerpo o la fusión de Fc se conjuga a una o más moléculas de maitansina (por ejemplo, de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 moléculas de maitansina por molécula de anticuerpo). La maitansina, por ejemplo, puede convertirse en May-SS-Me que puede reducirse a May-SH3 y hacerse reaccionar con el anticuerpo modificado o fusión de Fc (Chari et al, 1992, Cancer Research 52: 127-131) para generar un conjugado de maitansinoide-anticuerpo o maitansinoide-fusión de Fc. Otro conjugado de interés comprende un anticuerpo o fusión de Fc conjugado con una o más moléculas de caliqueamicina. La familia de antibióticos de caliqueamicina son capaces de producir roturas de ADN bicatenario a concentraciones sub-picomolares. Los análogos estructurales de caliqueamicina que pueden usarse incluyen, pero no se limitan a γ_1^1, α_2^1, α_3, N-acetil-γ_1^1, PSAG, y Θ^1_1, (Hinman et al., 1993, Cancer Research 53: 3336-3342; Lode et al, 1998, Cancer Research 58:... 2925-2928) (patente de Estados Unidos Nº 5.714.586; patente de Estados Unidos No. 5.712.374; patente de Estados Unidos No. 5.264.586; patente de EE.UU. No. 5.773.001). Los análogos de dolastatina 10, tales como auristatina E (AE) y monometilauristatina E (MMAE), pueden encontrar uso como conjugados para las variantes de Fc de la presente invención (Doronina et al, 2003, Nat Biotechnol 21 (7): 778-84; Francisco et al., 2003 Blood 102 (4): 1458-65). Toxinas útiles enzimáticamente activas incluyen, pero no se limitan a, cadena A de difteria, fragmentos de no unión activos de toxina de la difteria, cadena A de exotoxina (de Pseudomonas aeruginosa), cadena A de ricina, cadena A de abrina, cadena A de modeccina, alfa-sarcina, proteínas de Aleurites fordii, proteínas de diantina, proteínas de Phytolaca americana (PAPI, PAPII, y PAP-S), inhibidor de momordica charantia, curcina, crotina, inhibidor de Saponaria officinalis, gelonina, mitogelina, restrictocina, fenomicina, enomicina y los tricotecenos. Véase, por ejemplo, el documento PCT WO 93/21232. La presente descripción contempla además un conjugado o fusión formado entre un anticuerpo o fusión de Fc de la presente

invención y un compuesto con actividad nucleolítica, por ejemplo, una ribonucleasa o ADN endonucleasa tal como una desoxirribonucleasa (DNasa).

En un caso alternativo, un anticuerpo o fusión de Fc de la presente invención puede ser conjugado o unido operativamente a un radioisótopo para formar un radioconjugado. Una variedad de isótopos radiactivos están disponibles para la producción de anticuerpos radioconjugados y fusiones de Fc. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a, A^{211}, I^{131}, I^{125}, Y^{90}, Re^{186}, Re^{188}, Sm^{153}, Bi^{212}, P^{32}, e isótopos radiactivos de Lu.

En aún otro caso, un anticuerpo o fusión de Fc de la presente invención se puede conjugar a un “receptor” (tal como estreptavidina) para la utilización en el premarcado de tumores, en el que el anticuerpo-receptor o conjugado de fusión de Fc-receptor se administra al paciente, seguido de la eliminación del conjugado no unido de la circulación utilizando un agente de eliminación y después la administración de un “ligando” (por ejemplo, avidina) que se conjuga a un agente citotóxico (por ejemplo, un radionucleótido). En un caso alternativo, el anticuerpo o la fusión Fc está conjugado o unido operativamente a una enzima con el fin de emplear Terapia de profármaco mediada por enzima dependiente de anticuerpo (ADEPT). La ADEPT puede ser utilizada por conjugación o unión de manera operativa del anticuerpo o fusión Fc a una enzima activadora de profármaco que convierte un profármaco (por ejemplo, un agente quimioterapéutico peptidilo, véase el documento PCT WO 81/01145) en un fármaco anti-cáncer activo. Véase, por ejemplo, el documento PCT WO 88/07378 y la patente de los Estados Unidos. No. 4.975.278. El componente enzimático del inmunoconjugado útil para ADEPT incluye cualquier enzima capaz de actuar sobre un profármaco de tal manera que lo convierta en su forma citotóxica más activa. Enzimas que son útiles en el método de esta descripción incluyen, pero no se limitan a, la fosfatasa alcalina útil para convertir profármacos que contienen fosfato en fármacos libres; arilsulfatasa útil para convertir profármacos que contienen sulfato en fármacos libres; citosina desaminasa útil para convertir la 5-fluorocitosina no tóxica en el fármaco anti-cáncer, 5-fluorouracilo; proteasas, tales como la proteasa de serratia, termolisina, subtilisina, carboxipeptidasas y catepsinas (tales como catepsinas B y L), que son útiles para convertir profármacos que contienen péptidos en fármacos libres; D-alanilcarboxipeptidasas, útiles para convertir profármacos que contienen sustituyentes de D-aminoácidos; enzimas que cortan hidrato de carbonos, tales como beta-galactosidasa y neuraminidasa útiles para convertir profármacos glicosilados en fármacos libres; beta-lactamasa útil para convertir fármacos derivatizados con alfa-lactamas en fármacos libres; y penicilina amidasas, tales como penicilina V amidasa o penicilina G amidasa, útiles para convertir fármacos derivatizados en sus nitrógenos de amina con grupos fenoxiacetilo o fenilacetilo, respectivamente, en fármacos libres. Alternativamente, los anticuerpos con actividad enzimática, también conocidos en la técnica como “abzimas”, pueden utilizarse para convertir los profármacos de la descripción en fármacos activos libres (véase, por ejemplo, Massey, 1987, Nature 328: 457-458). Los conjugados de anticuerpo-abzima y fusión Fc-abzima se pueden preparar para la administración de la abzima a una población de células tumorales.

Otras modificaciones de los anticuerpos y fusiones de Fc de la presente invención se contemplan en el presente documento. Por ejemplo, el anticuerpo o la fusión Fc se pueden unir a uno de una variedad de polímeros no proteicos, por ejemplo, polietilenglicol (PEG), polipropilenglicol, polioxialquilenos, o copolímeros de polietilenglicol y polipropilenglicol.

Se contemplan composiciones farmacéuticas, en las que un anticuerpo o fusión de Fc de la presente invención y uno o más terapéuticamente agentes activos se formulan. Las formulaciones de los anticuerpos y fusiones de Fc de la presente invención se preparan para su almacenamiento mezclando dicho anticuerpo o fusión Fc que tiene el grado deseado de pureza con vehículos, excipientes o estabilizantes farmacéuticamente aceptables (Remington Pharmaceutical Sciences 16ª edición, Osol, A. Ed., 1980), en forma de formulaciones liofilizadas o soluciones acuosas. Los vehículos, excipientes o estabilizantes aceptables no son tóxicos para los receptores a las dosis y concentraciones empleadas, e incluyen tampones tales como fosfato, citrato, acetato, y otros ácidos orgánicos; antioxidantes incluyendo ácido ascórbico y metionina; conservantes (tales como cloruro de octadecildimetilbencil-amonio; cloruro de hexametonio; cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio; fenol, alcohol butílico de orbencilo; parabenos de alquilo tales como metil o propil parabeno; catecol; resorcinol; ciclohexanol; 3-pentanol; y m-cresol); polipéptidos de bajo peso molecular (menos de aproximadamente 10 residuos); proteínas, tales como albúmina de suero, gelatina, o inmunoglobulinas; polímeros hidrófilos tales como polivinilpirrolidona; aminoácidos tales como glicina, glutamina, asparagina, histidina, arginina, o lisina; monosacáridos, disacáridos, y otros hidrato de carbonos incluyendo glucosa, manosa, o dextrinas; agentes quelantes tales como EDTA; azúcares tales como sacarosa, manitol, trehalosa o sorbitol; edulcorantes y otros agentes aromatizantes; cargas tales como celulosa microcristalina, lactosa, maíz y otros almidones; agentes de unión; aditivos; agentes colorantes; contraiones formadores de sal tales como sodio; complejos metálicos (por ejemplo, complejos de Zn-proteína); y/o tensioactivos no iónicos tales como TWEEN™, PLURONICS™ o polietilenglicol (PEG). En un caso preferido, la composición farmacéutica que comprende el anticuerpo o fusión de Fc de la presente invención está en una forma soluble en agua, tal como estar como sales farmacéuticamente aceptables presentes, lo que se entiende que incluye tanto sales de adición de ácido como de base. “Sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable” se refiere a aquellas sales que retienen la eficacia biológica de las bases libres y que no son biológicamente, o de otra manera, indeseables, formadas con ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico y similares, y ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido propiónico, ácido glicólico, ácido pirúvico, ácido oxálico, ácido maleico, ácido malónico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido cinámico, ácido mandélico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido salicílico y similares. “Sales de adición de base farmacéuticamente aceptables” incluyen las derivadas de bases inorgánicas

tales como sales de sodio, potasio, litio, amonio, calcio, magnesio, hierro, zinc, cobre, manganeso, aluminio y similares. Particularmente preferidas son las sales de amonio, potasio, sodio, calcio, y magnesio. Las sales derivadas de bases farmacéuticamente aceptables orgánicas no tóxicas incluyen sales de aminas primarias, secundarias, y terciarias, aminas sustituidas que incluyen aminas de origen natural sustituidas, aminas cíclicas y resinas de intercambio iónico básicas, tales como isopropilamina, trimetilamina, dietilamina, trietilamina, tripropilamina, y etanolamina. Las formulaciones a utilizar para la administración in vivo son preferiblemente estériles. Esto se consigue fácilmente mediante la filtración a través de membranas de filtración estériles u otros métodos.

Los anticuerpos y fusiones de Fc descritos en este documento también pueden formularse como inmunoliposomas. Un liposoma es una pequeña vesícula que comprende varios tipos de lípidos, fosfolípidos y/o tensioactivos que es útil para la administración de un agente terapéutico a un mamífero. Los liposomas que contienen el anticuerpo o la fusión de Fc se preparan por métodos conocidos en la técnica, tales como los descritos en Epstein et al, 1985, Proc Natl Acad Sci USA, 82: 3688; Hwang et al, 1980, Proc Natl Acad Sci USA, 77: 4030; Patente de Estados Unidos. No. 4.485.045; Patente de Estados Unidos. No. 4.544.545; y documento PCT WO 97/38731. Los liposomas con mayores tiempos de circulación se describen en la patente de Estados Unidos. No. 5.013.556. Los componentes del liposoma se disponen comúnmente en una formación de bicapa, similar a la disposición de los lípidos de las membranas biológicas. Los liposomas particularmente útiles pueden generarse mediante el método de evaporación de fase inversa con una composición lipídica que comprende fosfatidilcolina, colesterol y fosfatidiletanolamina derivatizada con PEG (PEG-PE). Los liposomas se extruyen a través de filtros de tamaño de poro definido para producir liposomas con el diámetro deseado. Un agente quimioterapéutico u otro agente terapéuticamente activo está contenido opcionalmente dentro del liposoma (Gabizon et al, 1989, J Nacional Cancer Inst 81: 1484).

Los anticuerpos, fusiones de Fc, y otros agentes terapéuticamente activos también pueden atraparse en microcápsulas preparadas por métodos que incluyen pero no se limitan a técnicas de coacervación, polimerización interfacial (por ejemplo, utilizando microcápsulas de hidroximetilcelulosa o microcápsulas de gelatina, o poli(metacrilato de metilo)), sistemas coloidales de suministro de fármacos (por ejemplo, liposomas, microesferas de albúmina, microemulsiones, nanopartículas y nanocápsulas), y macroemulsiones. Tales técnicas se describen en Remington Pharmaceutical Sciences 16ª edición, Osol, A. Ed., 1980. Se pueden preparar preparaciones de liberación sostenida. Los ejemplos adecuados de preparaciones de liberación sostenida incluyen matrices semipermeables de polímero hidrófobo sólido, matrices que están en forma de artículos conformados, por ejemplo películas o microcápsulas. Ejemplos de matrices de liberación sostenida incluyen poliésteres, hidrogeles (por ejemplo poli(2-hidroxietil-metacrilato), o poli(alcohol vinílico)), polilactidas (Pat. de EE.UU. No. 3.773.919), copolímeros de ácido L-glutámico y gamma etil-L-glutamato, acetato no degradable de etileno-vinilo, copolímeros degradables de ácido láctico-ácido glicólico tales como el LUPRON DEPOT™ (que son microesferas inyectables compuestas de copolímero de ácido láctico-ácido glicólico y acetato de leuprolida), poli-D-(-)-ácido 3-hidroxibutírico, y ProLease® (disponible comercialmente de Alkermes), que es un sistema de administración basado en microesferas compuesto por la molécula bioactiva deseada incorporada en una matriz de poli-DL-lactida-co-glicólido (PLG).

La concentración del anticuerpo terapéuticamente activo o fusión de Fc de la presente invención en la formulación puede variar de aproximadamente 0,1 a 100% en peso. En un caso preferido, la concentración del anticuerpo o fusión de Fc está en el intervalo de 0,003 a 1,0 molar. Con el fin de tratar a un paciente, se puede administrar una dosis terapéuticamente eficaz del anticuerpo o fusión de Fc de la presente invención. Por “dosis terapéuticamente eficaz” en el presente documento se quiere decir una dosis que produce los efectos para los que se administra. La dosis exacta dependerá del propósito del tratamiento, y será averiguada por los expertos en la técnica usando técnicas conocidas. Las dosis pueden variar de 0,01 a 100 mg/kg de peso corporal o más, por ejemplo 0,1, 1, 10, o 50 mg/kg de peso corporal, prefiriéndose de 1 a 10 mg/kg. Como se sabe en la técnica, los ajustes para la degradación del anticuerpo o fusión Fc, administración sistémica frente a localizada, y la tasa de la síntesis de nueva proteasa, así como la edad, peso corporal, salud general, sexo, dieta, tiempo de administración, interacción del fármaco y la gravedad de la condición pueden ser necesarios, y serán determinables con experimentación rutinaria por los expertos en la técnica.

La administración de la composición farmacéutica que comprende un anticuerpo o fusión de Fc de la presente invención, preferiblemente en forma de una solución acuosa estéril, puede realizarse en una variedad de maneras, incluyendo, pero no limitado a, vía oral, subcutánea, intravenosa, intranasal, intraóticamente, transdérmicamente, tópicamente (por ejemplo, geles, pomadas, lociones, cremas, etc.), intraperitoneal, intramuscular, intrapulmonar (por ejemplo, la tecnología inhalable AERx® comercialmente disponible de Aradigm, o el sistema de suministro pulmonar Inhance™ disponible comercialmente de Inhale Therapeutics), vaginal, parenteral, rectal o intraocular. En algunos casos, por ejemplo, para el tratamiento de heridas, inflamación, etc., el anticuerpo o fusión Fc se puede aplicar directamente como una solución o aerosol. Como se conoce en la técnica, la composición farmacéutica puede formularse en consecuencia dependiendo de la manera de introducción.

Métodos de ingeniería

La presente invención proporciona métodos de ingeniería que pueden usarse para generar variantes de Fc. Un principal obstáculo que ha obstaculizado los intentos anteriores en la ingeniería de Fc es que sólo han sido posible

los intentos aleatorios en la modificación, debido en parte a la ineficacia de las estrategias y los métodos de ingeniería, y a la naturaleza de bajo rendimiento de la producción y selección de anticuerpos. La presente descripción describe métodos de ingeniería que superan estas deficiencias. Se contempla una variedad de estrategias de diseño, métodos de cribado computacionales, métodos de generación de bibliotecas, y producción experimental y métodos de cribado. Estas estrategias, enfoques, técnicas y métodos se pueden aplicar individualmente o en varias combinaciones para diseñar variantes de Fc optimizadas.

Estrategias de diseño

El enfoque más eficiente para generar variantes de Fc que están optimizadas para una propiedad deseada es dirigir los esfuerzos de ingeniería hacia esa meta. De acuerdo con ello, la presente invención enseña estrategias de diseño que se pueden utilizar para diseñar variantes de Fc optimizados. El uso de una estrategia de diseño está destinado a guiar la ingeniería de Fc, pero no está destinado a limitar una variante de Fc a una propiedad optimizada particular, sobre la base de la estrategia de diseño que se utilizó para diseñar la misma. En un primer lugar, aunque esto puede parecer contrario a la intuición; sin embargo, su validez se deriva de la enorme complejidad de las interacciones sutiles que determinan la estructura, estabilidad, solubilidad, y función de las proteínas y complejos de proteína-proteína. Aunque se pueden hacer esfuerzos para predecir qué posiciones de proteínas, residuos, interacciones, etc., son importantes para un objetivo de diseño, muchas veces los puntos críticos no son predecibles. Efectos sobre la estructura de la proteína, la estabilidad, la solubilidad, y la función, ya sea favorable o desfavorable, son a menudo imprevistos. Sin embargo, hay modificaciones de aminoácidos innumerables que son perjudiciales o deletéreas para las proteínas. Por lo tanto, muchas veces la mejor forma de hacer ingeniería proviene de la generación de variantes de proteínas que se centran generalmente hacia un objetivo de diseño, pero no causan efectos perjudiciales. De esta manera, un objetivo principal de una estrategia de diseño puede ser la generación de la diversidad de calidad. A un nivel simplista esto puede ser pensado como apilar las probabilidades a favor de uno. Como un ejemplo, la perturbación de los hidratos de carbono de Fc o un ángulo de dominio-dominio en particular, como se describe a continuación, son estrategias de diseño válidas para la generación de variantes de Fc optimizadas, a pesar del hecho de que cómo los hidratos de carbono y los ángulos dominio-dominio determinan las propiedades de Fc no está bien comprendido. Al reducir el número de modificaciones de aminoácidos perjudiciales que son evaluadas, es decir, mediante el cribado de la diversidad de la calidad, estas estrategias de diseño se convierten en práctica. Así, el verdadero valor de las estrategias de diseño que se enseñan en la presente descripción es su capacidad para dirigir los esfuerzos de ingeniería hacia la generación de variantes de Fc valiosas. El valor específico de cualquier variante resultante se determina después de la experimentación.

Se proporciona una estrategia de diseño para diseñar variantes de Fc, en la que la interacción de Fc con un poco de ligando Fc se ve alterada por el diseño de modificaciones de aminoácidos en la interfaz entre Fc y dicho ligando Fc. Los ligandos Fc en el presente documento pueden incluir, pero no se limitan a, FcγRs, C1q, FcRn, proteína A o G, y similares. Al explorar sustituciones energéticamente favorable en las posiciones de Fc que afectan a la interfaz de unión, pueden ser diseñadas variantes que muestren nuevas conformaciones de interfaz, algunas de las cuales pueden mejorar la unión al ligando Fc, algunas de las cuales pueden reducir la unión del ligando Fc, y algunas de los cuales pueden tener otras propiedades favorables. Tales nuevas conformaciones de interfaz podrían ser el resultado de, por ejemplo, la interacción directa con los residuos del ligando de Fc que forman la interfaz, o los efectos indirectos causados por las modificaciones de aminoácidos, tales como la perturbación de la cadena lateral o las conformaciones de la cadena principal. Pueden ser elegidas posiciones variables como cualquier posición que se cree que desempeña un papel importante en la determinación de la conformación de la interfaz. Por ejemplo, pueden ser elegidas posiciones variables como el conjunto de residuos que se encuentran dentro de una cierta distancia, por ejemplo 5 Angstroms (Å), preferiblemente entre 1 y 10 Å, de cualquier residuo que entra en contacto directo con el ligando Fc.

Se proporciona una estrategia de diseño adicional para la generación de variantes de Fc, en la que se optimiza la conformación de los hidratos de carbono Fc en N297. La optimización, tal como se utiliza en este contexto, está destinada a incluir cambios conformacionales y de composición en el hidrato de carbono N297 que dan como resultado una propiedad deseada, por ejemplo aumentar o reducir la afinidad para un FcγR. Tal estrategia es apoyada por la observación de que la estructura del hidrato de carbono y la conformación afectan drásticamente a la unión de Fc/FcγR y Fc/C1q (Umaña et al, 1999, Nat Biotechnol. 17: 176-180; Davies et al, 2001, Biotechnol Bioeng 74: 288-294; Mimura et al, 2001, J Biol Chem 276: 45539-45547; Radaev et al, 2001, J Biol Chem 276: 16.478-16.483; Shields et al., 2002, J Biol Chem 277: 26.733-26.740; Shinkawa et al, 2003, J Biol Chem 278: 3466-3473). Sin embargo, el hidrato de carbono no hace contactos específicos con FcγRs. Al explorar sustituciones energéticamente favorables en las posiciones que interactúan con los hidratos de carbono, se puede diseñar una diversidad de calidad de las variantes que muestre nuevas conformaciones de hidratos de carbono, algunas de los cuales pueden mejorar y algunas de los cuales pueden reducir la unión a uno o más ligandos Fc. Mientras que la mayoría de las mutaciones cerca de la interfaz Fc/hidrato de carbono parecen alterar la conformación de los hidratos de carbono, algunas mutaciones han demostrado alterar la composición de glicosilación (Lund et al, 1996, J Immunol. 157: 4963-4969; Jefferis et al, 2002, Immunol Lett 82: 57-65).

Se proporciona otra estrategia de diseño para la generación variantes de Fc, en la que el ángulo entre los dominios Cγ2 y Cγ3 está optimizado. La optimización, tal como se utiliza en este contexto, se entiende que describe los cambios conformacionales en el ángulo de dominio Cγ2-Cγ3 que dan como resultado una propiedad deseada, por

ejemplo, una mayor o menor afinidad por un FcγR. Este ángulo es un determinante importante de la afinidad de Fc/FcγR (Radaev et al, 2001, J Biol Chem 276: 16478-16483), y un número de mutaciones distales a la interfaz Fc/FcγR afectan a la unión potencialmente modulándolo (Shields et al, 2001, J Biol Chem 276: 6591-6604). Al explorar las posiciones de sustituciones energéticamente favorable que parecen desempeñar un papel clave en la determinación del ángulo Cγ2-Cγ3 y la flexibilidad de los dominios de uno respecto al otro, se puede diseñar una diversidad de calidad de las variantes que muestre nuevos ángulos y niveles de flexibilidad, algunas de las que pueden ser optimizadas para una propiedad de Fc deseada.

Se proporciona otra estrategia de diseño para la generación de variantes de Fc en la que Fc está rediseñado para eliminar la dependencia estructural y funcional en la glicosilación. Esta estrategia de diseño consiste en la optimización de la estructura Fc, estabilidad, solubilidad y/o la función Fc (por ejemplo, la afinidad de Fc por uno o más ligandos Fc) en ausencia del hidrato de carbono N297. En un enfoque, las posiciones que están expuestas al disolvente en ausencia de glicosilación están diseñadas de tal manera que son estables, estructuralmente coherentes con la estructura Fc, y no tienen tendencia a agregarse. El Cγ2 es el único dominio Ig no apareado en el anticuerpo (véase la figura 1). Así, el hidrato de carbono N297 cubre hasta el parche hidrófobo expuesto que normalmente sería la interfaz para una interacción proteína-proteína con otro dominio Ig, manteniendo la estabilidad y la integridad estructural de Fc y manteniendo los dominios Cγ2 de la agregación a través del eje central. Enfoques para la optimización de Fc aglicosilado pueden implicar, pero no se limitan a, diseñar modificaciones de aminoácidos que mejoran la estabilidad y/o solubilidad del Fc aglicosilado mediante la incorporación de residuos polares y/o cargados que están de cara hacia el interior hacia el eje del dímero Cγ2-Cγ2, y mediante el diseño de modificaciones de aminoácidos que mejoran directamente la interfaz Fc/FcγR aglicosilada o la interfaz de Fc aglicosilada con algún otro ligando Fc.

Se proporciona una estrategia de diseño adicional para diseñar variantes de Fc, en la que la conformación del dominio Cγ2 está optimizada. La optimización, tal como se utiliza en este contexto, se entiende que describe los cambios conformacionales en el ángulo de dominio Cγ2 que dan como resultado una propiedad deseada, por ejemplo, una mayor o menor afinidad para un FcγR. Mediante la exploración de sustituciones en las posiciones Cγ2 favorables energéticamente que afectan a la conformación Cγ2, puede diseñarse una diversidad de calidad de variantes que muestras nuevas conformaciones Cγ2, algunas de los cuales pueden alcanzar el objetivo de diseño. Tales nuevas conformaciones Cγ2 podrían ser el resultado de, por ejemplo, conformaciones de cadena principal alternas que se muestrean por la variante. Las posiciones variables pueden ser elegidas como cualquier posición que se cree que desempeña un papel importante en la determinación de la estructura Cγ2, estabilidad, solubilidad, flexibilidad, función, y similares. Por ejemplo, los residuos del núcleo hidrófobo Cγ2, que son residuos Cγ2 que son secuestrados parcial o completamente a partir de disolvente, pueden ser rediseñados. Alternativamente, pueden ser considerados residuos no esenciales, o residuos que se consideran importantes para la determinación de la estructura de la cadena principal, la estabilidad, o la flexibilidad.

Se proporciona una estrategia de diseño adicional para la optimización de Fc, en la que la unión a un FcγR, complemento, o algún otro ligando Fc se ve alterada por las modificaciones que modulan la interacción electrostática entre Fc y dicho ligando Fc. Tales modificaciones pueden ser consideradas como la optimización del carácter electrostático global de Fc, e incluyen la sustitución de aminoácidos neutros con un aminoácido cargado, la sustitución de un aminoácido cargado por un aminoácido neutro, o la sustitución de un aminoácido cargado con un aminoácido de carga opuesta (es decir, carga de reversión). Tales modificaciones se pueden usar para efectuar cambios en la afinidad entre un Fc y uno o más ligandos de unión de Fc, por ejemplo FcγRs. En un caso preferido, las posiciones en las que las sustituciones electrostáticas pueden afectar a la unión son seleccionadas usando uno de una variedad de métodos bien conocidos para el cálculo de los potenciales electrostáticos. En el caso más simple, la ley de Coulomb se utiliza para generar los potenciales electrostáticos como una función de la posición en la proteína. Los casos adicionales incluyen el uso de la escala de Debye-Hückel para tener en cuenta los efectos de fuerza iónica, y los casos más sofisticados, tales como los cálculos de Poisson-Boltzmann. Tales cálculos electrostáticos pueden destacar las posiciones y sugerir modificaciones de aminoácidos específicas para lograr el objetivo de diseño. En algunos casos, estas sustituciones pueden ser anticipadas para afectar de forma variable la unión a ligandos diferentes de Fc, por ejemplo, para potenciar la unión a FcγRs activantes mientras que disminuye la afinidad de unión a FcγRs inhibidores.

Selección computacional

Un principal obstáculo para la obtención de valiosas variantes de Fc es la dificultad de predecir qué modificaciones de aminoácido, de la enorme cantidad de posibilidades, logrará los objetivos deseados. De hecho, una de las razones principales de que los intentos previos de ingeniería de Fc no han logrado producir variantes de Fc de valor clínico significativo es que los enfoques de ingeniería de Fc hasta el momento tienen enfoques alejados o desacertados. La presente descripción proporciona procedimientos de cribado de cálculo que permiten la ingeniería cuantitativa y sistemática de variantes de Fc. Estos métodos suelen utilizar funciones de puntuación de nivel atómico, muestreo rotámero de cadena lateral, y métodos de optimización avanzados para capturar con precisión las relaciones entre la secuencia de proteínas, la estructura y la función. El cribado computacional permite la exploración de todo el espacio de secuencia de posibilidades en las posiciones de destino mediante el filtrado de la enorme diversidad que resulta. Las bibliotecas de variantes que se rastrean computacionalmente se enriquecen de manera efectiva para secuencias estables, correctamente plegadas, y funcionales, lo que permite la optimización

activa de Fc para un objetivo deseado. Debido a la superposición de las restricciones de secuencia en la estructura de las proteínas, la estabilidad, la solubilidad, y la función, un gran número de los candidatos en una biblioteca ocupan espacios de secuencia "desperdiciados". Por ejemplo, una gran fracción de espacio secuencia codifica proteínas desplegadas, mal plegadas, incompletamente plegadas, parcialmente plegadas, o agregadas. Esto es particularmente relevante para la ingeniería de Fc porque los dominios de Ig son pequeñas estructuras de lámina beta, la ingeniería de las cuales ha demostrado ser extremadamente exigente (Quinn et al, 1994, Proc Natl Acad Sci USA 91: 8.747-8.751; Richardson et al, 2002, Proc Natl Acad Sci USA 99: 2754-2759). Incluso sustituciones aparentemente inofensivas en la superficie de una hoja beta pueden causar graves conflictos de empaquetamiento, lo que altera drásticamente el equilibrio del plegado (Smith et al, 1995, Science 270: 980-982); por cierto, la alanina es uno de los peores formadores de lámina beta (Minor et al, 1994, Nature 371: 264-267). Los determinantes de la estabilidad de las hojas beta y la especificidad son un delicado equilibrio entre un número extremadamente grande de interacciones sutiles. El cribado computacional permite la generación de bibliotecas que se componen principalmente de espacio de secuencia productivo, y como resultado aumenta las posibilidades de la identificación de proteínas que se optimizan para el objetivo de diseño. En efecto, el cribado computacional produce una tasa de éxito aumentado, disminuyendo de ese modo el número de variantes que deben ser seleccionadas de forma experimental. Un obstáculo adicional a la ingeniería de Fc es la necesidad de un diseño activo de mutaciones correlacionadas o acopladas. Por ejemplo, la mayor mejora de afinidad de Fc/FcγR observada hasta ahora es S298A/E333A/K334A, obtenido mediante la combinación de tres mejores aglutinantes obtenidos por separado en una exploración de alanina (Shields et al, 2001, J Biol Chem 276: 6591 a 6604). El cribado computacional es capaz de generar una variante de este tipo tres veces en un experimento en lugar de tres separados, y además es capaz de probar la funcionalidad de los 20 aminoácidos en esas posiciones en lugar de sólo alanina. El rastreo computacional se ocupa de tal complejidad, reduciendo el problema combinatorio a un tamaño manejable de forma experimental.

El cribado computacional, considerado globalmente, tiene cuatro pasos: 1) la selección y preparación de la estructura de la plantilla de proteína o estructuras, 2) la selección de posiciones variables, los aminoácidos que deben ser considerados en esas posiciones, y/o la selección de rotámeros para modelar los aminoácidos considerados, 3) el cálculo de la energía, y 4) la optimización combinatoria. En más detalle, el proceso de cribado computacional puede ser descrito como sigue. Una estructura tridimensional de una proteína se usa como el punto de partida. Las posiciones que se optimizan son identificadas, las cuales pueden ser toda la secuencia de la proteína o un subconjunto(s) de la misma. Los aminoácidos que serán considerados en cada posición se seleccionan. En un caso preferido, cada aminoácido considerado puede ser representado por un conjunto discreto de conformaciones permitidas, llamados rotámeros. Las energías de interacción se calculan entre cada aminoácido considerado y cada otro aminoácido considerado, y el resto de la proteína, incluyendo el esqueleto de la proteína y los residuos invariables. En un caso preferido, las energías de interacción se calculan entre cada rotámero considerado de la cadena lateral del aminoácido y cada otro rotámero de la cadena lateral de aminoácido considerado y el resto de la proteína, incluyendo el esqueleto de la proteína y los residuos invariables. Uno o más algoritmos de búsqueda combinatorios se utilizan para identificar la secuencia de más baja energía y/o las secuencias de baja energía.

En un caso preferido, el método de cribado computacional utilizado es sustancialmente similar a la tecnología Protein Design Automation® (PDA®), como se describe en la patente de Estados Unidos. No. 6.188.965; Patente de Estados Unidos. No. 6.269.312; Patente de Estados Unidos. No. 6.403.312; patente de los Estados Unidos. No. 09/782.004; patente de los Estados Unidos. No. 09/927.790; patente de los Estados Unidos. No. 10/218.102; documento PCT WO 98/07254; documento PCT WO 01/40091; y documento PCT WO 02/25588. En otro caso preferido, se utiliza un método de cribado computacional sustancialmente similar a secuenciar la tecnología de Sequence Prediction Algorithm™ (SPA™), como se describe en (Raha et al, 2000, Protein Sci 9: 1106-1119), patente de los Estados Unidos. No. 09/877.695, y patente de los Estados Unidos. No. 10/071.859. En otro caso preferido, se utilizan métodos de cribado computacional descritos en la patente de los Estados Unidos. No. 10/339.788, presentada el 3 de marzo de 2003, titulada "Antibody Optimization". En algunos casos, se usan combinaciones de diferentes métodos de cribado computacional, incluyendo combinaciones de la tecnología PDA® y la tecnología SPA™, así como combinaciones de estos métodos computacionales en combinación con otras herramientas de diseño. Del mismo modo, estos métodos computacionales se pueden utilizar simultáneamente o secuencialmente, en cualquier orden.

Se utiliza una estructura de plantilla como entrada en los cálculos de detección computacional. Por "estructura de plantilla" en el presente documento se quiere decir las coordenadas estructurales de parte o la totalidad de una proteína que se optimiza. La estructura de plantilla puede ser cualquier proteína para la cual se conoce una estructura tridimensional (es decir, tres coordenadas dimensionales para un conjunto de átomos de la proteína) o puede calcularse, ser estimada, modelada, generada, o determinada. Las estructuras tridimensionales de las proteínas pueden determinarse usando métodos que incluyen, pero no se limitan a, técnicas de rayos X cristalográficas, técnicas de resonancia magnética nuclear (RMN), el modelado de novo, y el modelado por homología. Si se desea la optimización para una proteína para la que la estructura no se ha resuelto de forma experimental, puede ser generado un modelo estructural adecuado que puede servir como plantilla para los cálculos de cribado computacional. Los métodos para generar modelos de homología de proteínas son conocidos en la técnica, y estos métodos encuentran uso en la presente descripción. Véase, por ejemplo, Luo, et al. 2002, Protein Sci 11: 1218-1226, Lehmann y Wyss, 2001, Curr Opin Biotechnol 12 (4): 371-5; Lehmann et al, 2000, Biochim

Biophys Acta 1543 (2): 408-415; Rath y Davidson, 2000, Protein Sci, 9 (12): 2457-69; Lehmann et al, 2000, Protein Eng 13 (1): 49-57; Desjarlais y Berg, 1993, Proc Natl Acad Sci USA 90 (6): 2256-60; Desjarlais & Berg, 1992, Proteínas 12 (2): 101-4; Henikoff y Henikoff, 2000, Protein Adv Chem 54: 73-97; Henikoff y Henikoff, 1994, J Mol Biol 243 (4): 574-8; Morea et al, 2000, Methods 20: 267-269. También pueden obtenerse complejos de proteína/proteína usando métodos de acoplamiento. Estructuras de proteínas adecuadas que pueden servir como estructuras de plantilla incluyen, pero no se limitan a, todas las que se encuentran en el Protein Data Base compilado y mantenido por el Research Collaboratory for Structural Bioinformatics (RCSB, anteriormente el Laboratorio Nacional de Brookhaven).

La estructura de plantilla puede ser de una proteína que se produzca naturalmente o que esté diseñada. La estructura de plantilla puede ser de una proteína que esté codificada sustancialmente por una proteína a partir de cualquier organismo, siendo los preferidos el ser humano, ratón, rata, conejo, y el mono. La estructura de plantilla puede comprender cualquiera de un número de formas estructurales de proteínas. En un caso preferido, la estructura de plantilla comprende una región Fc o un dominio o fragmento de Fc. En casos alternativamente preferidos, la estructura de plantilla comprende Fc o un dominio o fragmento de Fc unido a uno o más ligandos de Fc, prefiriéndose un complejo Fc/FcγR. La Fc en la estructura de plantilla puede estar glicosilada o no glicosilada. La estructura de plantilla puede comprender más de una cadena de proteína. La estructura de plantilla puede contener adicionalmente componentes no proteicos, incluyendo, pero no limitado a, moléculas pequeñas, sustratos, cofactores, metales, moléculas de agua, grupos prostéticos, polímeros e hidrato de carbonos. En un caso preferido, la estructura de plantilla es una pluralidad o un conjunto de proteínas de plantilla, por ejemplo un conjunto de estructuras tales como las obtenidas a partir del RMN. Alternativamente, se genera el conjunto de estructuras de plantilla a partir de un conjunto de proteínas o estructuras relacionadas, o se crean conjuntos artificialmente. La composición y el origen de la estructura de plantilla depende del objetivo de la ingeniería. Por ejemplo, para la mejora de la afinidad de Fc/FcγR humano, se puede usar como estructura de plantilla una estructura compleja Fc/FcγR humana o derivado de la misma. Alternativamente, la estructura Fc no complejada puede ser usada como la estructura de plantilla. Si el objetivo es mejorar la afinidad de un Fc humano para un FcγR de ratón, la estructura de plantilla puede ser una estructura o modelo de un Fc humano unido a un FcγR de ratón.

La estructura de plantilla puede ser modificada o alterada antes de diseñar los cálculos. Una variedad de métodos para la preparación de la estructura de plantilla se describen en la patente de Estados Unidos No. 6.188.965; Patente de Estados Unidos. No. 6.269.312; Patente de Estados Unidos. No. 6.403.312; patente de los Estados Unidos. No. 09/782.004; patente de los Estados Unidos. No. 09/927.790; patente de los Estados Unidos. No. 09/877.695; patente de los Estados Unidos. No. 10/071.859, patente de los Estados Unidos. No. 10/218.102; documento PCT WO 98/07254; documento PCT WO 01/40091; y documento PCT WO 02/25588. Por ejemplo, en un caso preferido, pueden añadirse hidrógenos explícitos si no están incluidos dentro de la estructura. En un caso alternativo, la minimización de la energía de la estructura se ejecuta para relajar la tensión, incluyendo la tensión debido a fuerzas de van der Waals, ángulos de enlace desfavorables, y longitudes de enlace desfavorables. Alternativamente, la estructura de plantilla se altera usando otros métodos, tales como manualmente, incluyendo perturbaciones dirigidas o aleatorias. También es posible modificar la estructura de plantilla durante los pasos posteriores de selección por ordenador, incluidos en el cálculo de la energía y los pasos de optimización combinatoria. En un caso alternativo, la estructura de plantilla no se modifica antes o durante los cálculos de cribado computacional.

Una vez que se ha obtenido una estructura de plantilla, se escogen posiciones variables. Por “posición variable” en el presente documento se entiende una posición en la que se permite que la identidad de aminoácidos sea alterada en un cálculo de cribado computacional. Como se sabe en la técnica, permitir modificaciones de aminoácidos que han de considerarse sólo en ciertas posiciones variables reduce la complejidad del cálculo y permite que el cribado computacional sea adaptado de manera más directa para el objetivo de diseño. Uno o más residuos pueden ser posiciones variables en los cálculos de detección computacional. Posiciones que se eligen como posiciones variables pueden ser aquellas que contribuyen o se piensa en la hipótesis de que contribuyen a la propiedad de la proteína que se optimiza, por ejemplo, la afinidad de Fc para un FcγR, la estabilidad de Fc, la solubilidad de Fc, y así sucesivamente. Los residuos en las posiciones variables pueden contribuir favorable o desfavorablemente a una propiedad de la proteína específica. Por ejemplo, un residuo en una interfaz Fc/FcγR puede estar implicado en la mediación de la unión, y por lo tanto esta posición puede variarse en los cálculos de diseño destinados a mejorar la afinidad de Fc/FcγR. Como otro ejemplo, un residuo que tiene una cadena lateral hidrófoba expuesta puede ser responsable de causar una agregación desfavorable, y por lo tanto esta posición puede ser variada en los cálculos de diseño destinados a mejorar la solubilidad. Las posiciones variables pueden ser las posiciones que están directamente involucradas en interacciones que son determinantes de una propiedad de la proteína particular. Por ejemplo, el sitio de unión a FcγR de Fc puede ser definido para incluir todos los residuos que entran en contacto con el FγcR particular. Por “contacto”, en este documento, se entiende una interacción química entre al menos un átomo de un resto de Fc con al menos un átomo del FcγR unido, incluyendo la interacción química, pero no limitada a, las interacciones de van der Waals, interacciones de enlace de hidrógeno, interacciones electrostáticas, y las interacciones hidrófobas. En un caso alternativo, las posiciones variables pueden incluir aquellas posiciones que están implicadas indirectamente en una propiedad de la proteína, es decir, tales posiciones pueden ser proximales a los residuos que se sabe, o que hipotéticamente, contribuyen a una propiedad de Fc. Por ejemplo, el sitio de unión a FcγR de un Fc puede ser definido para incluir todos los residuos de Fc dentro de una cierta distancia, por ejemplo 4-

10 Å, de cualquier residuo de Fc que está en contacto van der Waals con el FcγR. Por lo tanto, posiciones variables en este caso se pueden elegir no sólo como residuos que entran en contacto directamente con el FcγR, sino también aquellos que contactan con residuos que contactan con el FcγR y que, por lo tanto, influyen en la unión indirecta. Las posiciones específicas elegidas dependen de la estrategia de diseño que se emplea.

Una o más posiciones en la estructura de plantilla que no son variables pueden ser flotadas. Por "posición flotada" en este documento se entiende una posición en la que se permite la conformación de aminoácidos, pero no la identidad de aminoácidos, se permite que varíe en un cálculo de cribado computacional. En un caso, la posición flotada puede tener la identidad del amino ácido parenteral. Por ejemplo, las posiciones flotadas pueden ser posiciones que estén dentro de una distancia pequeña, por ejemplo, 5 Å, de un residuo de posición variable. En un caso alternativo, una posición flotada puede tener una identidad de aminoácidos no parenteral. Tal caso puede encontrar uso en la presente descripción, por ejemplo, cuando el objetivo es evaluar el resultado energético o estructural de una mutación específica.

Las posiciones que no son variables o que flotaban son fijas. Por "posición fija" en el presente documento se entiende una posición en la que la identidad de los aminoácidos y la conformación se mantienen constantes en un cálculo de cribado computacional. Posiciones que pueden ser fijas incluyen residuos que no se sabe que son o que se tiene la hipótesis de que participan en la propiedad a ser optimizada. En este caso, el supuesto es que hay poco o nada que ganar mediante la variación de estas posiciones. Posiciones que se corrigen también pueden incluir posiciones cuyos residuos son conocidos o se tiene la hipótesis de que son importantes para mantener el plegamiento apropiado, estructura, estabilidad, solubilidad, y/o función biológica. Por ejemplo, las posiciones pueden ser fijas para los residuos que interactúan con un ligando de Fc partircular o residuos que codifican un sitio de glicosilación con el fin de asegurar que la unión al ligando Fc y la glicosilación adecuada, respectivamente, no se perturban. Asimismo, si se está optimizando la estabilidad, puede ser beneficioso fijar posiciones que interactúan directamente o indirectamente con un ligando Fc, por ejemplo, un FcγR, de modo que no se perturbe la unión. Las posiciones fijas pueden incluir también residuos estructuralmente importantes, tales como las cisteínas que participan en puentes disulfuro, residuos críticos para determinar la conformación de la estructura, tales como prolina o glicina, residuos críticos de enlaces de hidrógeno, y los residuos que forman interacciones de empaquetamiento favorables.

El siguiente paso en el cribado computacional es seleccionar un conjunto de posibles identidades de aminoácidos que serán consideradas en cada posición variable particular. Este conjunto de aminoácidos posibles se denomina en este documento "aminoácidos considerados" en una posición variable. Los "aminoácidos", como se usa en el presente documento, se refieren al conjunto de los 20 aminoácidos naturales y cualesquiera análogos no naturales o sintéticos. En un caso, se consideran todos los 20 aminoácidos naturales. Alternativamente, un subconjunto de aminoácidos, o incluso sólo un aminoácido se considera en una posición variable dada. Como se apreciará por los expertos en la técnica, hay un beneficio computacional para considerar sólo ciertas identidades de aminoácidos en posiciones variables, ya que disminuye la complejidad combinatoria de la búsqueda. Además, se puede usar considerar sólo ciertos aminoácidos en las posiciones variables para adaptar los cálculos hacia estrategias de diseño específicas. Por ejemplo, para la optimización de la solubilidad del Fc aglicosilado, puede ser beneficioso permitir que sólo los aminoácidos polares han de considerarse en los residuos de Fc no polares que están expuestos al disolvente en ausencia de hidratos de carbono. Aminoácidos no naturales, incluyendo aminoácidos sintéticos y análogos de aminoácidos naturales, también pueden ser considerados aminoácidos. Por ejemplo, véase Chin et al, 2003, Science, 301 (5635): 964-7; y Chin et al., 2003, Chem Biol. 10 (6): 511-9.

Una amplia variedad de métodos se puede usar, solo o en combinación, para seleccionar qué aminoácidos serán considerados en cada posición. Por ejemplo, el conjunto de aminoácidos considerados en una posición variable dada puede ser elegido basado en el grado de exposición al disolvente. Los aminoácidos hidrófobos o apolares, típicamente residen en el interior o en el núcleo de una proteína, los cuales son inaccesibles o casi inaccesibles al disolvente. Por lo tanto, en las posiciones centrales variables puede ser beneficioso considerar sólo o principalmente aminoácidos no polares tales como alanina, valina, isoleucina, leucina, fenilalanina, tirosina, triptófano, y metionina. Los aminoácidos hidrófilos o polares típicamente residen en el exterior o en la superficie de las proteínas, que tienen un grado significativo de accesibilidad al disolvente. Por lo tanto, en las posiciones de superficie variables, puede ser beneficioso considerar sólo o principalmente aminoácidos polares tales como alanina, serina, treonina, ácido aspártico, asparagina, glutamina, ácido glutámico, arginina, lisina e histidina. Algunas posiciones son parcialmente expuestas y, en parte, enterradas, y no son claramente posiciones de núcleo de proteína o de superficie, en un sentido que sirve como residuos limítrofes entre residuos del núcleo y de la superficie. Así, en tales posiciones de los límites variables puede ser beneficioso considerar los dos aminoácidos no polares y polares, tales como alanina, serina, treonina, ácido aspártico, asparagina, glutamina, ácido glutámico, arginina, histidina lisina, valina, isoleucina, leucina, fenilalanina, tirosina , triptófano, y metionina. La determinación del grado de exposición al disolvente en posiciones variables puede ser por evaluación subjetiva o inspección visual de la estructura de plantilla del experto en la técnica de la biología estructural de proteínas, o mediante el uso de una variedad de algoritmos que son conocidos en la técnica. La selección de tipos de aminoácidos que se examinarán en posiciones variables puede ser ayudada o totalmente determinada por métodos computacionales, tales como el cálculo de superficie accesible al disolvente, o el uso de algoritmos que evalúan la orientación de los vectores de Cα-Cβ en relación a una superficie accesible al disolvente, como se describe en las patentes de Estados Unidos. Nos. 6.188.965; 6.269.312; Patente de Estados Unidos. No. 6.403.312; patente de los Estados Unidos. No. 09/782.004; patente de los Estados Unidos. No.

09/927.790; patente de los Estados Unidos. No. 10/218.102; documento PCT WO 98/07254; documento PCT WO 01/40091; y documento PCT WO 02/25588. En un caso, cada posición variable puede ser clasificada de forma explícita como un núcleo, superficie, o la posición límite o una clasificación sustancialmente similar al núcleo, la superficie, o el límite.

En un caso alternativo, la selección del conjunto de aminoácidos permitido en posiciones variables puede ser impulsada por hipótesis. La hipótesis para qué tipos de aminoácidos deben ser considerados en las posiciones variables se puede derivar por una evaluación subjetiva o inspección visual de la estructura de la plantilla por algún experto en la técnica de la biología estructural de proteínas. Por ejemplo, si se sospecha que una interacción de enlace de hidrógeno puede ser favorable en una posición variable, pueden ser considerados los residuos polares que tienen la capacidad de formar enlaces de hidrógeno, incluso si la posición está en el núcleo. Asimismo, si se sospecha que una interacción de empaquetamiento hidrofóbica puede ser favorable en una posición variable, pueden ser considerados residuos no polares que tienen la capacidad de formar interacciones de empaquetamiento favorables, incluso si la posición está en la superficie. Otros ejemplos de enfoques impulsados por hipótesis pueden implicar problemas de flexibilidad de la estructura o el pliegue de proteínas. Como se conoce en la técnica, ciertos residuos, por ejemplo, prolina, glicina y cisteína, juegan papeles importantes en la estructura de la proteína y la estabilidad. La glicina permite una mayor flexibilidad de la estructura que todos los otros aminoácidos, la prolina constriñe la estructura más que todos los otros aminoácidos, y las cisteínas pueden formar enlaces disulfuro. Por consiguiente, puede ser beneficioso incluir uno o más de estos tipos de aminoácidos para lograr un objetivo de diseño deseado. Alternativamente, puede ser beneficioso excluir uno o más de estos tipos de aminoácidos de la lista de los aminoácidos considerados.

En un caso alternativo, pueden elegirse subconjuntos de aminoácidos para maximizar la cobertura. En este caso, los aminoácidos adicionales con propiedades similares a la de la estructura de la plantilla pueden ser considerados en posiciones variables. Por ejemplo, si el residuo en una posición variable en la estructura de plantilla es un residuo hidrófobo grande, pueden ser considerados grandes aminoácidos hidrófobos adicionales en esa posición. Alternativamente, pueden elegirse subconjuntos de aminoácidos para maximizar la diversidad. En este caso, los aminoácidos con propiedades diferentes a los de la estructura de plantilla pueden ser considerados en posiciones variables. Por ejemplo, si el residuo en una posición variable en la plantilla es un residuo hidrófobo grande, pueden ser considerados aminoácidos que son pequeños, polares, etc.

Como se conoce en la técnica, algunos métodos de cribado computacionales requieren sólo la identidad de los aminoácidos considerados que se determinan durante los cálculos de diseño. Es decir, no se necesita información relativa a las conformaciones o posibles conformaciones de las cadenas laterales de aminoácidos. Otros métodos preferidos utilizan un conjunto de conformaciones de cadenas laterales discretas, llamadas rotámeros, que se consideran para cada aminoácido. Por lo tanto, se puede considerar un conjunto de rotámeros en cada posición variable y flotada. Los rotámeros se pueden obtener a partir de bibliotecas de rotámeros publicadas (véase, por ejemplo, Lovel et al, 2000, Proteins: Structure Function and Genetics 40: 389-408; Dunbrack & Cohen, 1997, Protein Science 6: 1661-1681; DeMaeyer et al., 1997, Folding and Design 2: 53-66; Tuffery et al, 1991, J Biomol Struct Dyn 8: 1267-1289, Ponder & Richards, 1987, J Mol Biol 193: 775-791). Como se sabe en la técnica, las bibliotecas de rotámeros pueden ser independientes de la estructura o dependientes de la estructura. Los rotámeros se pueden obtener también a partir de la mecánica molecular o los cálculos ab initio, y usando otros métodos. En un caso preferido, se utiliza un modelo de rotámero flexible (véase Mendes et al, 1999, Proteins: Structure, Function, and Genetics 37: 530-543). Del mismo modo, se pueden utilizar rotámeros generados artificialmente, o aumentar el conjunto elegido para cada aminoácido y/o posición variable. En un caso, al menos una conformación que no es baja en energía se incluye en la lista de rotámeros. En un caso alternativo, el rotámero del residuo de posición variable en la estructura de plantilla está incluido en la lista de rotámeros permitida para esa posición variable. En un caso alternativo, se proporciona sólo la identidad de cada aminoácido considerado en posiciones variables, y no se usan estados conformacionales específicos de cada aminoácido durante los cálculos de diseño. Es decir, el uso de rotámeros no es esencial para el cribado computacional.

Puede usarse información experimental para guiar la elección de posiciones variables y/o la elección de los aminoácidos considerados en posiciones variables. Como se conoce en la técnica, los experimentos de mutagénesis se llevan a cabo a menudo para determinar el papel de ciertos residuos en la estructura y función de las proteínas, por ejemplo, qué residuos de proteínas desempeñan un papel en la determinación de la estabilidad, o qué residuos conforman la interfaz de una interacción proteína-proteína. Los datos obtenidos de tales experimentos son útiles en la presente descripción. Por ejemplo, las posiciones variables para la mejora de la afinidad de Fc/FcγR podrían implicar variar todas las posiciones en las que se ha demostrado que la mutación afecta a la unión. Del mismo modo, los resultados de un experimento de este tipo se pueden usar para guiar la elección de los tipos de aminoácidos permitidos en posiciones variables. Por ejemplo, si se encuentran favorables ciertos tipos de sustituciones de aminoácidos, pueden ser considerados tipos similares de aquellos aminoácidos. En un caso, los aminoácidos adicionales con propiedades similares a los que se encuentran que son favorables experimentalmente pueden ser considerados en posiciones variables. Por ejemplo, si se encontró favorable la mutación experimental de una posición variable en la interfaz Fc/FcγR a un gran residuo hidrofóbico, el usuario puede elegir incluir aminoácidos hidrófobos grandes adicionales en esa posición en el rastreo computacional. Como se conoce en la técnica, pueden acoplarse tecnologías de visualización u otras de selección con la mutagénesis aleatoria para generar una lista o varias listas de sustituciones de aminoácidos que son favorables para la propiedad seleccionada.

Dicha lista o listas obtenidas a partir de tales trabajos experimentales encuentran uso en la presente descripción. Por ejemplo, las posiciones que se encuentran que son invariables en tal experimento pueden ser excluidas como posiciones variables en los cálculos de detección computacional, mientras que las posiciones que se encuentran que son más aceptables a la mutación o responden favorablemente a la mutación pueden ser elegidas como posiciones variables. Del mismo modo, los resultados de tales experimentos pueden usarse para guiar la elección de los tipos de aminoácidos permitidos en posiciones variables. Por ejemplo, si ciertos tipos de aminoácidos surgen con mayor frecuencia en una selección experimental, se pueden considerar otros tipos similares de aquellos aminoácidos. En un caso, los aminoácidos adicionales con propiedades similares a las que se encuentran que son favorables experimentalmente pueden ser considerados en posiciones variables. Por ejemplo, si se encuentran mutaciones seleccionadas en una posición variable que reside en una interfaz Fc/FcγR que son aminoácidos polares no cargados, el usuario puede elegir incluir aminoácidos adicionales no cargados polares, o aminoácidos polares tal vez cargados, en esa posición.

La información de secuencia también puede ser usada para guiar la elección de las posiciones variables y/o la elección de los aminoácidos considerados en posiciones variables. Como se conoce en la técnica, algunas proteínas comparten un esqueleto estructural común y son homólogas en secuencia. Esta información se puede utilizar para ganar penetración en posiciones particulares de la familia de proteínas. Como se conoce en la técnica, los alineamientos de secuencias se llevan a cabo a menudo para determinar qué residuos de proteínas se conservan y cuáles no se conservan. Es decir, comparando y contrastando alineaciones de secuencias de proteínas, se puede observar el grado de variabilidad en una posición, y se pueden observar los tipos de aminoácidos que se producen naturalmente en las posiciones. Los datos obtenidos de estos análisis son útiles en la presente invención. La ventaja de utilizar información de la secuencia para elegir las posiciones variables y los aminoácidos considerados en las posiciones variables son varios pliegues. Para la elección de las posiciones variables, la ventaja principal de utilizar la información de la secuencia es que puede adquirirse percepción en qué posiciones son más tolerantes y cuáles son menos tolerantes a la mutación. Por lo tanto, la información de secuencia puede ayudar en asegurar que la diversidad de la calidad, es decir, las mutaciones que no son perjudiciales para la estructura de las proteínas, la estabilidad, etc., se prueben computacionalmente. La misma ventaja se aplica al uso de la información de secuencia para seleccionar tipos de aminoácidos considerados en posiciones variables. Es decir, el conjunto de aminoácidos que se producen en una alineación de secuencias de proteínas puede ser pensado como que está siendo pre-seleccionado por la evolución para tener una mayor probabilidad de azar para ser compatible con una estructura de la proteína, la estabilidad, la solubilidad, la función, etc. Por lo tanto una mayor diversidad de calidad se prueba computacionalmente. Una segunda ventaja de utilizar la información de secuencia para seleccionar tipos de aminoácidos considerados en posiciones variables es que ciertas alineaciones pueden representar secuencias que pueden ser menos inmunogénicas que las secuencias aleatorias. Por ejemplo, si los aminoácidos considerados en una posición variable dada son el conjunto de aminoácidos que se producen en esa posición en una alineación de secuencias de proteínas humanas, los aminoácidos pueden ser considerados como que están siendo pre-seleccionados por la naturaleza para generar ninguna o una baja respuesta inmune si la proteína optimizada se utiliza como agente terapéutico humano.

La fuente de las secuencias puede variar ampliamente, e incluyen una o más de las bases de datos conocidas, incluyendo pero no limitado a la base de datos Kabat (Johnson & Wu, 2001, Nucleic Acids Res 29: 205-206; Johnson & Wu, 2000, Nucleic Acids Res 28: 214-218), la base de datos IMGT (IMGT, el sistema internacional de información ImMunoGeneTics®; Lefranc et al, 1999, Nucleic Acids Res 27: 209-212; Ruiz et al., 2000 Nucleic Acids Res. 28: 219-221; Lefranc et al, 2001, Nucleic Acids Res. 29: 207-209; Lefranc et al, 2003, Nucleic Acids Res 31: 307-310), y VBASE, SwissProt, GenBank y Entrez, y la base de datos de secuencias de nucleótidos EMBL. La información de la secuencia de la proteína se puede obtener, compilar, y/o generar a partir de alineamientos de secuencias de proteínas de origen natural de cualquier organismo, incluyendo, pero no limitado a mamíferos. La información de la secuencia de la proteína se puede obtener a partir de una base de datos que se compila de forma privada. Hay numerosos programas de alineamiento de secuencias y métodos conocidos en la técnica, y todos ellos encuentran uso en la presente invención para la generación de alineaciones de secuencia de proteínas que comprenden los ligandos de Fc y Fc.

Una vez que se hacen alineaciones, la información de la secuencia se puede utilizar para orientar la elección de las posiciones variables. Tal información de la secuencia puede relacionar la variabilidad, natural o no, de una posición dada. La variabilidad en el presente documento debe distinguirse de la posición variable. La variabilidad se refiere al grado en el que una posición dada en un alineamiento de secuencia muestra una variación en los tipos de aminoácidos que se producen allí. La posición variable, para reiterar, es una posición elegida por el usuario para variar en la identidad de aminoácidos durante un cálculo de cribado computacional. La variabilidad puede determinarse cualitativamente por cualquier experto en la técnica bioinformática. También hay métodos conocidos en la técnica para determinar cuantitativamente la variabilidad que pueden encontrar uso en la presente invención. El caso más preferido mide la entropía de información o la entropía de Shannon. Las posiciones variables pueden ser elegidas en base a la información de la secuencia obtenida a partir de secuencias de proteínas estrechamente relacionadas, o secuencias que están menos estrechamente relacionadas.

El uso de la información de la secuencia para elegir posiciones variables encuentra amplio uso en la presente descripción. Por ejemplo, si una posición interfaz de Fc/FcγR en la estructura de la plantilla es triptófano, y se observa triptófano en esa posición en más del 90% de las secuencias en una alineación, puede ser beneficioso dejar

esa posición fija. Por el contrario, si se encuentra que otra posición interfaz tiene un mayor nivel de variabilidad, por ejemplo, si se observan cinco aminoácidos diferentes en esa posición con frecuencias de aproximadamente 20% cada uno, esa posición puede ser elegida como una posición variable. En otro caso, la inspección visual de las secuencias de proteínas alineadas puede sustituir o ayudar a la inspección visual de una estructura de proteína. La información de secuencia también se puede utilizar para guiar la elección de los aminoácidos considerados en posiciones variables. Tal información de la secuencia puede relacionarse con la frecuencia que un aminoácido, varios aminoácidos, o tipos de aminoácidos (por ejemplo polar o no polar, cargado o no cargado) se producen, de forma natural o de otra manera, en una posición dada. En un caso, el conjunto de aminoácidos considerados en una posición variable puede comprender el conjunto de aminoácidos que se observa en esa posición en la alineación. Por lo tanto, la información de alineación específica de la posición se utiliza directamente para generar la lista de los aminoácidos considerados en una posición variable en un cálculo de cribado computacional. Tal estrategia es bien conocida en la técnica; véase, por ejemplo Lehmann y Wyss, 2001, Curr Opin Biotechnol 12 (4): 371-5; Lehmann et al, 2000, Biochim Biophys Acta 1543 (2): 408-415; Rath y Davidson, 2000, Protein Sci, 9 (12): 2457-69; Lehmann et al, 2000, Protein Eng 13 (1): 49-57; Desjarlais y Berg, 1993, Proc Nat Acad Sci USA 90 (6): 2256-60; Desjarlais & Berg, 1992, Proteins 12 (2): 101-4; Henikoff & Henikoff, 2000, Adv Protein Chem 54: 73-97; Henikoff & Henikoff, 1994, J Mol Biol 243 (4): 574-8. En un caso alternativo, el conjunto de aminoácidos considerados en una posición variable o posiciones puede comprender un conjunto de aminoácidos que se observa con más frecuencia en la alineación. Por lo tanto, se aplica una serie de criterios para determinar si la frecuencia de un aminoácido o tipo de aminoácido garantiza que su inclusión en el conjunto de aminoácidos sea considerada en una posición variable. Como se conoce en la técnica, los alineamientos de secuencias se pueden analizar utilizando métodos estadísticos para calcular la diversidad de secuencia en cualquier posición en la alineación y la frecuencia de aparición o probabilidad de cada aminoácido en una posición. Tales datos pueden ser utilizados entonces para determinar qué tipos amino ácidos a considerar. En el caso más sencillo, estas frecuencias de aparición se calculan contando el número de veces que se observó un aminoácido en una posición de alineación, a continuación, dividiendo por el número total de secuencias en la alineación. En otros casos, la contribución de cada secuencia, la posición o de aminoácidos en el procedimiento de recuento se pondera mediante una variedad de posibles mecanismos. En un caso preferido, la contribución de cada secuencia alineada a las estadísticas de frecuencia se pondera de acuerdo con su ponderación de diversidad en relación con otras secuencias en la alineación. Una estrategia común para lograr esto es el sistema de ponderación de secuencia recomendado por Henikoff y Henikoff (Henikoff & Henikoff, 2000, Adv Protein Chem 54: 73-97; Henikoff & Henikoff, 1994, J Mol Biol, 243: 574-8 En un caso preferido, la contribución de cada secuencia a las estadísticas depende de su grado de similitud con la secuencia diana, es decir, la estructura de la plantilla utilizada, de manera que las secuencias con mayor similitud con la secuencia diana se ponderan más altamente. Ejemplos de medidas de similitud incluyen, pero no se limitan a, la identidad de secuencia, puntuación de similitud BLOSUM, puntuación de similitud de matriz PAM, y la puntuación BLAST. En un caso alternativo, la contribución de cada secuencia a las estadísticas depende de sus propiedades físicas o funcionales conocidas. Estas propiedades incluyen, pero son no limitadas a, la estabilidad térmica y química, la contribución a la actividad y la solubilidad. Por ejemplo, cuando se optimiza el Fc aglicosilado según la solubilidad, aquellas secuencias en una alineación que son conocidas por ser más solubles (por ejemplo, véase Ewert et al, 2003, J Mol Biol 325: 531-553), contribuirán en mayor medida a las frecuencias calculadas.

Independientemente de qué criterios se apliquen para elegir el conjunto de los aminoácidos en una alineación de secuencia que se considere en posiciones variables, el uso de la información de la secuencia para elegir los aminoácidos considerados encuentra amplio uso en la presente descripción. Por ejemplo, para optimizar la solubilidad de Fc mediante la sustitución de los residuos superficiales no polares expuestos, pueden ser elegidos los aminoácidos considerados como el conjunto de aminoácidos, o un subconjunto de aquellos aminoácidos que cumplen algunos criterios, que se observan en esa posición en una alineación de secuencias de proteínas. Como otro ejemplo, uno o más aminoácidos pueden añadirse o restarse subjetivamente de una lista de aminoácidos derivados de una alineación de secuencia con el fin de maximizar la cobertura. Por ejemplo, los aminoácidos adicionales con propiedades similares a los que se encuentran en una alineación de secuencia pueden ser considerados en posiciones variables. Por ejemplo, si se observa que una posición Fc, que se sabe o se tiene la hipótesis que se une a un FcγR, tiene aminoácidos polares no cargados en un alineamiento de secuencia, el usuario puede elegir incluir aminoácidos polares no cargados adicionales en un cálculo de cribado computacional, o tal vez aminoácidos polares cargados, en esa posición.

En un caso, la información de alineación de secuencias se combina con el cálculo de energía, como se discute a continuación. Por ejemplo, se pueden derivar pseudo energías de la información de secuencia para generar una función de puntuación. El uso de una función de puntuación basada en la secuencia puede ayudar a reducir significativamente la complejidad de un cálculo. Sin embargo, como se apreciará por los expertos en la técnica, el uso de una función de puntuación basada en la secuencia sola puede ser inadecuado porque la información de secuencia a menudo puede indicar correlaciones erróneas entre las mutaciones que pueden en realidad ser estructuralmente conflictivas. Por lo tanto, en un caso preferido, se utiliza un método basado en la estructura del cálculo de energía, ya sea solo o en combinación con una función de puntuación basada en la secuencia. Es decir, el caso preferido no depende de la información de alineación de secuencias solo como el paso del análisis.

El cálculo de la energía se refiere al proceso por el cual se puntúan modificaciones de aminoácidos. Las energías de interacción se miden por una o más funciones de puntuación. Una variedad de funciones de puntuación encuentran

uso en la presente descripción para el cálculo de las energías. Las funciones de puntuación pueden incluir cualquier número de potenciales, en el presente documento denominados como los términos de energía de una función de puntuación, incluyendo pero no limitado a, un potencial de van der Waals, un potencial de enlace de hidrógeno, un potencial de solvatación atómica u otros modelos de solvatación, una potencial propensión de estructura secundaria, un potencial electrostático, un potencial de torsión, y un potencial de entropía. Al menos un término de energía se utiliza para puntuar cada posición variable o flotada, aunque los términos de energía pueden diferir dependiendo de la posición, los aminoácidos considerados, y otras consideraciones. En un caso, se usa una función de puntuación usando un término de energía. En el caso más preferido, las energías se calculan utilizando una función de puntuación que contiene más de un término de energía, por ejemplo, que describe las interacciones de van der Waals, la solvatación, interacciones electrostáticas y enlaces de hidrógeno, y combinaciones de los mismos. En casos adicionales, los términos de energía adicionales incluyen, pero no se limitan a, términos entrópicos, energías torsionales, y energías basadas en el conocimiento.

Una variedad de funciones de puntuación se describen en la patente de los Estados Unidos. No. 6.188.965; Patente de Estados Unidos. No. 6.269.312; Patente de Estados Unidos. No. 6.403.312; patente de los Estados Unidos. No. 09/782.004; patente de los Estados Unidos. No. 09/927.790; patente de los Estados Unidos. No. 09/877.695; patente de los Estados Unidos. No. 10/071.859, patente de los Estados Unidos. No. 10/218.102; documento PCT WO 98/07254; documento PCT WO 01/40091; y documento PCT WO 02/25588. Como se apreciará por los expertos en la técnica, las funciones de puntuación no tienen por qué limitarse a términos de energía físico-química. Por ejemplo, los potenciales basadas en el conocimiento pueden encontrar uso en la metodología del cribado computacional de la presente descripción. Tales potenciales basados en el conocimiento se pueden derivar de la secuencia de la proteína y/o las estadísticas de la estructura que incluyen, pero sin limitación, los potenciales de plegamiento, las energías de referencia, pseudo energías, energías basadas en homología, y sesgos de secuencias derivadas de las alineaciones de secuencia. En un caso preferido, una función de puntuación se modifica para incluir modelos para la inmunogenicidad, tales como las funciones derivadas de los datos sobre la unión de péptidos a MHC (Complejo Mayor de Histocompatibilidad), que pueden usarse para identificar las secuencias potencialmente inmunogénicas (véanse, por ejemplo, patente de los Estados Unidos. No. 09/903.378; patente de los Estados Unidos. No. 10/039.170; patente de los Estados Unidos. No. 60/222.697; patente de los Estados Unidos. No. 10/339.788; documento PCT WO 01/21823; y documento PCT WO 02/00165). En un caso, la información de alineación de la secuencia se puede utilizar para puntuar las sustituciones de aminoácidos. Por ejemplo, la comparación de secuencias de proteínas, independientemente de si la fuente de dichas proteínas es de ser humano, mono, ratón, o de otra manera, se puede usar para sugerir o puntuar mutaciones de aminoácidos en la metodología de cribado computacional de la presente invención. En un caso, como se conoce en la técnica, una o más funciones de puntuación pueden ser optimizadas o “formadas” durante el análisis computacional, y luego el análisis se re-ejecutado mediante el sistema optimizado. Tales funciones de puntuación alteradas pueden obtenerse, por ejemplo, mediante la formación de una función de puntuación a partir de datos experimentales. Como se apreciará por los expertos en la técnica, un número de campos de fuerza, que se componen de uno o más términos de energía, puede servir como funciones de puntuación. Los campos de fuerza incluyen, pero no se limitan a, campos de fuerza de la mecánica cuántica o ab initio, campos de fuerza semi-empíricos, y campos de fuerza de la mecánica molecular. Las funciones de puntuación que se basan en el conocimiento o que usan métodos estadísticos pueden encontrar uso en la presente descripción. Estos métodos se pueden usar para evaluar la correspondencia entre una secuencia y una estructura de proteína tridimensional y, por lo tanto, se pueden usar para marcar las sustituciones de aminoácidos para la fidelidad a la estructura de la proteína. En un caso, los cálculos de la dinámica molecular se pueden usar para rastrear computacionalmente las secuencias mediante el cálculo individualmente de las puntuaciones de la secuencia mutante.

Hay una variedad de maneras de representar los aminoácidos con el fin de permitir el cálculo eficiente de la energía. En un caso preferido, los aminoácidos considerados se representan como rotámeros, como se describió anteriormente, y se calcula la energía (o la puntuación) de la interacción de cada posible rotámero en cada variable y posición flotada con la otra variable y rotámeros flotados, con residuos de posición fija, y con la estructura de cadena principal y cualesquiera átomos que no son proteínas. En un caso preferido, dos conjuntos de energías de interacción se calculan para cada rotámero cadena lateral en cada posición variable y flotada: la energía de interacción entre el rotámero y los átomos fijos (la energía de los “individuales”), y la energía de interacción entre el rotámero de posiciones variables y flotadas y todos los otros posibles rotámeros en todas las demás posiciones (la energía de los “dobles”) variables y flotadas. En un caso alternativo, las energías individuales y dobles son calculadas para posiciones fijas, así como para posiciones variables y flotadas. En un caso alternativo, los aminoácidos considerados no están representados en forma de rotámeros.

Un componente importante del cribado computacional es la identificación de una o más secuencias que tienen una puntuación favorable, es decir, son bajas en energía. Determinar un conjunto de secuencias de baja energía a partir de un número extremadamente grande de posibilidades no es trivial, y para resolver este problema se emplea un algoritmo de optimización combinatoria. La necesidad de un algoritmo de optimización combinatoria se ilustra examinando el número de posibilidades que son consideradas en un cálculo típico de selección por ordenador. La naturaleza discreta de los conjuntos de rotámeros permite un cálculo simple del número de posibles secuencias rotaméricas para un problema de diseño dado. Una estructura de longitud n con m posibles rotámeros por posición tendrá m^n posibles secuencias de rotámeros, un número que crece exponencialmente con la longitud de la

secuencia. Para cálculos muy simples, es posible examinar cada secuencia posible con el fin de identificar la secuencia óptima y/o una o más secuencias más favorables. Sin embargo, para un problema de diseño típico, el número de posibles secuencias (hasta 10^{80} o más) es suficientemente elevado para que el examen de cada secuencia posible sea intratable. Una variedad de algoritmos de optimización combinatoria se puede usar entonces para identificar la secuencia óptima y/o una o más secuencias más favorables. Los algoritmos de optimización combinatoria se pueden dividir en dos clases: (1) los que están garantizados para devolver la configuración de energía mínima global si convergen, y (2) los que no están garantizados para devolver la configuración de energía mínima global, pero que siempre devolverá una solución. Ejemplos de la primera clase de algoritmos incluyen, pero no se limitan a, Dead-End Elimination (DEE) y Branch & Bound (B & B) (incluyendo Branch and Terminate) (Gordon & Mayo, 1999, Structure Fold Des 7: 1089-1098). Ejemplos de la segunda clase de algoritmos incluyen, pero no se limitan a, Monte Carlo (MC), campo medio auto-consistente (SCMF), muestreo de Boltzmann (Metropolis et al, 1953, J Chem Phys 21: 1087), hibridación simulada (Kirkpatrick et al, 1983, Science, 220: 671-680), algoritmo genético (GA), y la Fast and Accurate Side-Chain Topology and Energy Refinement (FASTER) (Desmet et al, 2002, Proteins, 48: 31-43). Un algoritmo de optimización combinatoria se puede usar solo o en conjunción con otro algoritmo de optimización combinatoria.

En un caso de la presente invención, la estrategia para la aplicación de un algoritmo de optimización combinatoria es encontrar la configuración de energía mínima global. En un caso alternativo, la estrategia es encontrar una o más secuencias de baja energía o favorables. En un caso alternativo, la estrategia es encontrar la configuración de energía mínima global y luego encontrar una o más secuencias de baja energía o favorables. Por ejemplo, como se indica en la patente de los Estados Unidos. No. 6.269.312, los casos preferidos utilizan un paso Dead End Elimination (DEE) y una etapa de Monte Carlo. En otros casos, los algoritmos de búsqueda tabu se usan o combinan con DEE y/o Monte Carlo, entre otros métodos de búsqueda (véase Modern Heuristic Search Methods, editado por VJ Rayward-Smith et al., 1996, John Wiley & Sons Ltd.; patente de los Estados Unidos. No. 10/218.102; y documento PCT WO 02/25588). En otro caso preferido, puede ser utilizado un algoritmo genético; véase, por ejemplo, la patente de los Estados Unidos. No. 09/877.695 y patente de los Estados Unidos. No. 10/071.859. Como otro ejemplo, como se describe más completamente en la patente de los Estados Unidos. No. 6.188.965; Patente de Estados Unidos. No. 6.269.312; Patente de Estados Unidos. No. 6.403.312; patente de los Estados Unidos. No. 09/782.004; patente de los Estados Unidos. No. 09/927.790; patente de los Estados Unidos. No. 10/218.102; documento PCT WO 98/07254; documento PCT WO 01/40091; y documento PCT WO 02/25588, el óptimo global puede ser alcanzado, y luego se puede producir un procesamiento adicional de cálculo, que genera secuencias optimizadas adicionales. En el caso más sencillo, los cálculos de diseño no son combinatorios. Esto es, los cálculos de energía se utilizan para evaluar las sustituciones de aminoácidos individualmente en posiciones variables individuales. Para otros cálculos, se prefiere evaluar las sustituciones de aminoácidos en más de una posición variable. En un caso preferido, todas las posibles energías de interacción se calculan antes de la optimización combinatoria. En un caso alternativamente preferido, las energías pueden calcularse según sea necesario durante la optimización combinatoria.

Generación de la biblioteca

La presente descripción proporciona métodos para generar bibliotecas que posteriormente se pueden seleccionar experimentalmente para singularizar variantes de Fc optimizadas. Por “biblioteca”, tal como se utiliza en este documento, se entiende un conjunto de una o más variantes de Fc. La biblioteca puede referirse al conjunto de variantes en cualquier forma. En un caso, la biblioteca es una lista de secuencias de ácido nucleico o aminoácidos, o una lista de sustituciones de ácidos nucleicos o de aminoácidos en las posiciones variables. Por ejemplo, los ejemplos utilizados para ilustrar la presente descripción a continuación proporcionan bibliotecas como sustituciones de aminoácidos en posiciones variables. En un caso, una biblioteca es una lista de al menos una secuencia que son variantes de Fc optimizadas para una propiedad deseada. Por ejemplo, véase, Filikov et al, 2002, Protein Sci 11: 1452-1461 y Luo et al, 2002, Protein Sci 11: 1218-1226. En un caso alternativo, una biblioteca puede ser definida como una lista combinatoria, lo que significa que se genera una lista de sustituciones de aminoácidos para cada posición variable, con la implicación de que cada sustitución es para ser combinada con todas las demás sustituciones diseñadas en todas las otras posiciones variables. En este caso, la expansión de la combinación de todas las posibilidades en todas las posiciones variables se traduce en una gran biblioteca definida de forma explícita. Una biblioteca puede referirse a una composición física de polipéptidos que comprenden la región Fc o un dominio o fragmento de la región Fc. Así, una biblioteca puede referirse a una composición física de anticuerpos o fusiones de Fc, ya sea en forma purificada o no purificada. Una biblioteca puede referirse a una composición física de ácidos nucleicos que codifican las secuencias de la biblioteca. Dichos ácidos nucleicos pueden ser los genes que codifican los miembros de la biblioteca, los genes que codifican los miembros de la biblioteca con cualesquiera ácidos nucleicos unidos operativamente, o vectores de expresión que codifican los miembros de la biblioteca junto con cualesquiera otras secuencias reguladoras unidas operativamente, marcadores seleccionables, construcciones de fusión, y/u otros elementos. Por ejemplo, la biblioteca puede ser un conjunto de vectores de expresión de mamíferos que codifican los miembros de la biblioteca de Fc, los productos proteicos de los cuales pueden ser expresados posteriormente, purificados, y rastreados experimentalmente. Como otro ejemplo, la biblioteca puede ser una biblioteca de presentación. Una biblioteca de este tipo podría, por ejemplo, comprender un conjunto de vectores de expresión que codifican miembros de la biblioteca enlazados operativamente a alguna pareja de fusión que

permita la presentación en fagos, presentación en ribosomas, presentación en levadura, presentación en superficie bacteriana, y similares.

La biblioteca puede ser generada usando la secuencia de salida o las secuencias de cribado computacional. Como se discutió anteriormente, las bibliotecas generadas computacionalmente se enriquecen de manera significativa en secuencias estables, correctamente plegadas, y funcionales en relación a las bibliotecas generadas aleatoriamente. Como resultado, el cribado computacional aumenta las posibilidades de identificar proteínas que se optimizan para un objetivo de diseño. El conjunto de secuencias en una biblioteca es generalmente, pero no siempre, significativamente diferente de la secuencia original, aunque en algunos casos la biblioteca contiene preferiblemente la secuencia parenteral. Como se conoce en la técnica, hay una variedad de maneras en las que una biblioteca puede derivarse de la salida de los cálculos de cribado computacionales. Por ejemplo, los métodos de generación de bibliotecas descritos en la patente de Estados Unidos. No. 6.403.312; patente de los Estados Unidos. No. 09/782.004; patente de los Estados Unidos. No. 09/927.790; patente de los Estados Unidos. No. 10/218.102; documento PCT WO 01/40091; y documento PCT WO 02/25588 encuentran uso en la presente invención. En un caso, las secuencias que puntúan dentro de un cierto intervalo de la secuencia óptima global pueden ser incluidas en la biblioteca. Por ejemplo, todas las secuencias con 10 kcal/mol de la secuencia de energía más baja podrían utilizarse como biblioteca. En un caso alternativo, las secuencias que puntúan dentro de un cierto intervalo de una o más secuencias de mínimos locales se pueden usar. En un caso preferido, las secuencias de la biblioteca se obtienen de un conjunto filtrado. Dicha lista o conjunto pueden ser generados por una variedad de métodos, como se conoce en la técnica, por ejemplo, usando un algoritmo tal como Monte Carlo, B & B, o SCMF. Por ejemplo, las secuencias mejores 10^3 o mejores 10^5 en el conjunto filtrado pueden comprender la biblioteca. Alternativamente, el número total de secuencias definidas por la combinación de todas las mutaciones puede ser usado como un criterio de corte para la biblioteca. Los valores preferidos para el número total de secuencias recombinadas oscilan de 10 a 10^{20}, los valores particularmente preferidos están en el intervalo de 100 a 10^9. Alternativamente, un punto de corte se puede forzar cuando se alcanza un número predeterminado de mutaciones por posición. En algunos casos, las secuencias que no hacen el punto de corte se incluyen en la biblioteca. Esto puede ser deseable en algunas situaciones, por ejemplo, para evaluar el enfoque a la generación de la biblioteca, para proporcionar controles o comparaciones, o para muestrear el espacio de secuencia adicional. Por ejemplo, la secuencia parenteral puede ser incluido en la biblioteca, incluso si no lo hace el punto de corte.

La agrupación de algoritmos puede ser útil para la clasificación de las secuencias derivadas por métodos de cribado computacionales en grupos representativos. Por ejemplo, los métodos de agrupación y su aplicación, descritos en la patente de los Estados Unidos. No. 10/218.102 y el documento PCT WO 02/25588, encuentran uso en la presente descripción. Pueden ser definidos grupos representativos, por ejemplo, por similitud. Las medidas de similitud incluyen, pero no se limitan a, la similitud de secuencia y la similitud energética. Así, las secuencias de salida del cribado computacional pueden ser agrupadas alrededor de los mínimos locales, denominados en este documento como conjuntos agrupados de secuencias. Por ejemplo, los conjuntos de secuencias que están cerca en el espacio de secuencias pueden distinguirse de otros conjuntos. En un caso, la cobertura dentro de uno o un subconjunto de conjuntos agrupados puede maximizarse mediante la inclusión en la biblioteca de algunos, la mayoría, o la totalidad de las secuencias que componen uno o más conjuntos agrupados de secuencias. Por ejemplo, puede ser ventajoso maximizar la cobertura dentro de uno, dos, o tres conjuntos agrupados de energía más bajos mediante la inclusión de la mayoría de las secuencias dentro de estos conjuntos en la biblioteca. En un caso alternativo, la diversidad a través de los conjuntos agrupados de secuencias puede ser muestreada mediante la inclusión dentro de una biblioteca de sólo un subconjunto de las secuencias dentro de cada conjunto agrupado. Por ejemplo, todos o la mayoría de los conjuntos agrupados se puede muestrear ampliamente mediante la inclusión de la secuencia de energía más baja de cada conjunto agrupado en la biblioteca.

La información de secuencia puede usarse para guiar o filtrar los resultados del cribado computacionalmente para la generación de una biblioteca. Como se discutió, comparando y contrastando las alineaciones de secuencias de proteínas, se pueden observar el grado de variabilidad en una posición y los tipos de aminoácidos que se producen de forma natural en esa posición. Los datos obtenidos de estos análisis son útiles en la presente descripción. Los beneficios del uso de la información de la secuencia se han discutido, y esos beneficios se aplican igualmente al uso de la información de la secuencia para guiar la generación de bibliotecas. El conjunto de aminoácidos que se producen en un alineamiento de secuencia puede ser pensado como que están siendo pre-seleccionados por la evolución para tener una mayor probabilidad que el azar de ser compatible con una estructura de proteína, estabilidad, solubilidad, función e inmunogenicidad. La variedad de fuentes de secuencias, así como los métodos para la generación de alineaciones de secuencia que se han discutido, encuentran uso en la aplicación de la información de secuencia para guiar la generación de bibliotecas. Del mismo modo, como se discutió anteriormente, se pueden aplicar diversos criterios para determinar la importancia o el peso de ciertos residuos en una alineación. Estos métodos también encuentran uso en la aplicación de la información de la secuencia para guiar la generación de bibliotecas. El uso de la información de la secuencia para guiar la generación de bibliotecas de los resultados del cribado computacional encuentra amplio uso en la presente descripción. En un caso, la información de secuencia se utiliza para filtrar secuencias de salida de cribado computacional. Es decir, algunas sustituciones se restan de la salida de cómputo para generar la biblioteca. Por ejemplo, la salida resultante de un cálculo de cribado computacional o cálculos se puede filtrar de manera que la biblioteca incluya sólo aquellos aminoácidos, o un subconjunto de aquellos aminoácidos que cumplen algunos criterios, por ejemplo, que se observan en esa posición

en una alineación de secuencias. En un caso alternativo, la información de secuencia se usa para añadir secuencias a la salida del cribado computacional. Es decir, la información de secuencia se utiliza para guiar la elección de los aminoácidos adicionales que se agregan a la salida del cómputo para generar la biblioteca. Por ejemplo, el conjunto de salida de aminoácidos para una posición dada de un cálculo computacional de cribado puede ser aumentado para incluir uno o más aminoácidos que se observan en esa posición en una alineación de secuencias de proteínas. En un caso alternativo, basándose en la información de alineación de secuencias, uno o más aminoácidos pueden ser añadidos o restarse de la salida de la secuencia de cribado de cómputo con el fin de maximizar la cobertura o la diversidad. Por ejemplo, los aminoácidos adicionales con propiedades similares a las que se encuentran en una alineación de secuencias se pueden añadir a la biblioteca. Por ejemplo, si se observa que una posición tiene aminoácidos polares no cargados en una alineación de secuencias, los aminoácidos polares sin carga adicionales pueden ser incluidos en la biblioteca en esa posición.

Las bibliotecas pueden ser procesadas además para generar bibliotecas posteriores. De esta manera, la salida de un cálculo o varios cálculos computacionales de cribado puede ser pensado como una biblioteca primaria. Esta biblioteca primaria se puede combinar con otras bibliotecas primarias de otros cálculos u otras bibliotecas, procesadas utilizando cálculos posteriores, información de secuencia, u otros análisis, o procesadas de forma experimental para generar una biblioteca subsiguiente, denominada en este documento biblioteca secundaria. Como se apreciará a partir de esta descripción, el uso de la información de secuencia para guiar o filtrar bibliotecas, discutido anteriormente, es en sí mismo un método para generar bibliotecas secundarias a partir de las bibliotecas primarias. La generación de bibliotecas secundarias da al usuario un mayor control de los parámetros dentro de una biblioteca. Esto permite una detección experimental más eficiente, y puede permitir la retroalimentación de los resultados experimentales para que sean interpretados con más facilidad, proporcionando un ciclo de diseño/experimentación más eficiente.

Hay una amplia variedad de métodos para generar bibliotecas secundarias a partir de las bibliotecas primarias. Por ejemplo, la patente de los Estados Unidos. No. 10/218.102 y el documento PCT WO 02/25588 describen métodos para la generación de bibliotecas secundarias que encuentran uso en la presente invención. Típicamente, se producen algunas etapas de selección en las que una biblioteca primaria se procesa de alguna manera. Por ejemplo, en un caso, se produce una etapa de selección en la que algún conjunto de secuencias primarias se elige para formar la biblioteca secundaria. En un caso alternativo, la etapa de selección es una etapa computacional, de nuevo generalmente que incluye una etapa de selección, en la que un subconjunto de la biblioteca primaria se elige y luego se somete a un posterior análisis computacional, incluyendo tanto el posterior cribado computacional como técnicas tales como barajado o recombinación “en silico” (véase, por ejemplo, la patente de Estados Unidos Nº 5.830.721; patente de Estados Unidos No. 5.811.238; patente de Estados Unidos No. 5.605.793; y la patente de EE.UU. No. 5.837.458, PCR propensa a errores, por ejemplo utilizando nucleótidos modificados; técnicas conocidas de mutagénesis incluyendo el uso de múltiples casetes; y barajado de ADN (Crameri et al, 1998, Nature 391: 288-291; Coco et al, 2001, Nat Biotechnol 19: 354-9; Coco et al., 2002 , Nat Biotechnol, 20: 1246-1250), muestras de ADN heterogéneas (patente de Estados Unidos No. 5.939.250); ITCHY (Ostermeier et al, 1999,. Nat Biotechnol. 17: 1205-1209); StEP (Zhao et al, 1998, Nat Biotechnol. 16: 258-261), GSSM (patente de Estados Unidos Nº 6.171.820 y la patente de EE.UU. No. 5.965.408); recombinación homóloga in vivo, ensamblaje de genes asistido por ligasa, PCR de extremo complementario, profusión (Roberts & Szostak, 1997, Proc Natl Acad Sci USA 94: 12297-12302); presentación en superficie de levaduras/bacterias (Lu et al, 1995, Biotechnology 13: 366-372); Seed & Aruffo, 1987, Proc Natl Acad Sci USA 84 (10): 3365-3369; Boder y Wittrup, 1997, Nat Biotechnol 15: 553-557). En un caso alternativo, se produce una etapa de selección que es una etapa experimental, por ejemplo cualquiera de las etapas de cribado de bibliotecas posterior, en las que un subconjunto de la biblioteca primaria se elige y luego se recombina experimentalmente, por ejemplo, usando uno de los métodos de evolución dirigida que se discuten a continuación, para formar una biblioteca secundaria. En un caso preferido, se genera la biblioteca primaria y se procesa como se describe en la patente de los Estados Unidos. No. 6.403.312.

La generación de bibliotecas secundarias y subsiguientes encuentra amplio uso en la presente descripción. En un caso, se pueden combinar diferentes bibliotecas primarias para generar una biblioteca secundaria o subsiguiente. En otro caso, pueden ser generadas bibliotecas secundarias mediante el muestreo de la diversidad de secuencias en posiciones altamente mutables o altamente conservadas. La biblioteca primaria puede ser analizada para determinar qué posiciones de aminoácido en la proteína de plantilla tienen una alta frecuencia de mutación, y qué posiciones tienen una baja frecuencia mutacional. Por ejemplo, las posiciones en una proteína que muestran una gran cantidad de diversidad mutacional en el cribado computacional pueden ser fijadas en una ronda posterior de los cálculos de diseño. Un conjunto filtrado del mismo tamaño que el primero mostraría ahora la diversidad en las posiciones que se conservaron en gran medida en la primera biblioteca. Alternativamente, la biblioteca secundaria se puede generar mediante la variación de los aminoácidos en las posiciones que tienen un alto número de mutaciones, manteniendo constantes las posiciones que no tienen mutaciones por encima de una determinada frecuencia.

Esta discusión no está destinada a limitar la generación de bibliotecas posteriores a las bibliotecas primarias a bibliotecas secundarias. Como se apreciará, las bibliotecas primarias y secundarias pueden procesarse adicionalmente para generar bibliotecas terciarias, bibliotecas cuaternarias, y así sucesivamente. De esta manera, la generación de bibliotecas es un proceso iterativo. Por ejemplo, las bibliotecas terciarias pueden ser construidas usando una variedad de etapas adicionales aplicadas a una o más bibliotecas secundarias; por ejemplo, puede ocurrir su posterior procesamiento computacional, pueden recombinarse bibliotecas secundarias, o se pueden

combinar subconjuntos de diferentes bibliotecas secundarias. En un caso preferido, se puede generar una biblioteca terciaria mediante la combinación de bibliotecas secundarias. Por ejemplo, las bibliotecas primarias y/o secundarias que analizaron diferentes partes de una proteína se pueden combinar para generar una biblioteca terciaria que trata las partes combinadas de la proteína. En un caso alternativo, las variantes de una biblioteca primaria pueden combinarse con las variantes de otra biblioteca primaria para proporcionar una biblioteca terciaria combinada a un coste computacional más bajo que la creación de un conjunto filtrado muy largo. Estas combinaciones pueden usarse, por ejemplo, para analizar las proteínas grandes, especialmente las grandes proteínas multi-dominio, de las que Fc es un ejemplo. Así, la descripción anterior de la generación de bibliotecas secundarias se aplica a la generación de cualquier biblioteca subsiguiente a una biblioteca primaria, siendo el resultado final una biblioteca final que puede rastrearse experimentalmente para obtener variantes de proteínas optimizadas para un objetivo de diseño. Estos ejemplos no están destinados a limitar la generación de bibliotecas secundarias para cualquier aplicación particular o teoría de operación para la presente descripción. Más bien, estos ejemplos están destinados a ilustrar que la generación de bibliotecas secundarias, y bibliotecas posteriores, tales como bibliotecas terciarias y así sucesivamente, es ampliamente útil en la metodología de cribado computacional para la generación de bibliotecas.

Producción experimental y rastreo

La presente invención proporciona métodos para producir y rastrear bibliotecas de variantes de Fc. Los métodos descritos no están destinados a limitar la presente descripción a ninguna aplicación o teoría de operación particular. Más bien, los métodos proporcionados están destinados a ilustrar generalmente que una o más variantes de Fc o una o más bibliotecas de variantes de Fc pueden ser producidas y rastreadas experimentalmente para obtener variantes de Fc optimizadas. Las variantes de Fc pueden producirse y rastrearse en cualquier contexto, ya sea como una región Fc como precisamente se define en este documento, un dominio o fragmento del mismo, o un polipéptido más grande que comprende Fc tal como un anticuerpo o fusión de Fc. Los métodos generales para la biología molecular de anticuerpos, expresión, purificación y cribado se describen en Antibody Engineering, editado por Duebel y Kontermann, Springer-Verlag, Heidelberg, 2001; y Hayhurst y Georgiou, 2001, Curr Opin Chem Biol 5: 683-689; Maynard y Georgiou, 2000, Annu Rev Biomed Eng 2: 339-76; Antibodies: A Laboratory Manual de Harlow y Lane, Nueva York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1988.

En un caso de la presente descripción, las secuencias de la biblioteca se utilizan para crear ácidos nucleicos que codifican las secuencias de miembros, y que pueden entonces ser clonados en células huésped, expresados y ensayados, si se desea. Por lo tanto, los ácidos nucleicos, y en particular el ADN, se pueden hacer que codifiquen cada secuencia de la proteína miembro. Estas prácticas se llevan a cabo utilizando procedimientos bien conocidos. Por ejemplo, se describen una variedad de métodos que pueden encontrar uso en la presente invención en Molecular Cloning-A Laboratory Manual, 3ª Ed. (Maniatis, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Nueva York, 2001), y Current Protocols in Molecular Biology (John Wiley & Sons). Como se apreciará por los expertos en la técnica, la generación de las secuencias exactas para una biblioteca que comprende un gran número de secuencias es potencialmente costoso y consume mucho tiempo. En consecuencia, hay una variedad de técnicas que pueden usarse para generar eficientemente las bibliotecas de la presente invención. Tales métodos que pueden encontrar uso en la presente descripción se describen o se hace referencia en la patente de los Estados Unidos. No. 6.403.312; patente de los Estados Unidos. No. 09/782.004; patente de los Estados Unidos. No. 09/927.790; patente de los Estados Unidos. No. 10/218.102; documento PCT WO 01/40091; y documento PCT WO 02/25588. Tales métodos incluyen, pero no se limitan a, los métodos de ensamblaje de genes, métodos basado en PCR y los métodos que utilizan variaciones de la PCR, métodos basados en la reacción en cadena de la ligasa, los métodos de oligo agrupados, tales como los utilizados en el barajado sintético, métodos de amplificación propensos a errores y métodos que utilizan oligos con mutaciones al azar, métodos de mutagénesis dirigida clásica, mutagénesis de casetes, y otros métodos de amplificación y de síntesis génica. Como se conoce en la técnica, hay una variedad de kits y métodos comerciales disponibles para el ensamblaje de genes, mutagénesis, subclonación vector, y similares, y tales productos comerciales encuentran uso en la presente descripción para generar ácidos nucleicos que codifican miembros de la variante de Fc de una biblioteca.

Las variantes de Fc de la presente invención pueden ser producidas cultivando una célula huésped transformada con ácido nucleico, preferiblemente un vector de expresión, que contiene un ácido nucleico que codifica las variantes de Fc, en las condiciones apropiadas para inducir o causar la expresión de la proteína. Las condiciones apropiadas para la expresión variarán con la elección del vector de expresión y la célula huésped, y serán comprobadas fácilmente por cualquier experto en la técnica mediante experimentación de rutina. Se puede utilizar una amplia variedad de células huésped apropiadas, incluyendo, pero no limitado a, células de mamíferos, bacterias, células de insectos y de levadura. Por ejemplo, una variedad de líneas celulares que pueden encontrar uso en la presente invención se describen en el catálogo de la línea celular ATCC®, disponible en la American Type Culture Collection.

En una realización preferida, las variantes de Fc se expresan en sistemas de expresión de mamíferos, incluyendo sistemas en los que las construcciones de expresión se introducen en las células de mamífero utilizando virus tales como retrovirus o adenovirus. Cualquier célula de mamífero puede ser utilizada, siendo particularmente preferidas las células de ser humano, ratón, rata, hámster y primates. Las células adecuadas también incluyen células de investigación conocidas, incluyendo, pero no limitadas a, células T Jurkat, NIH3T3, CHO, COS, y células 293. En una realización preferida alternativa, las proteínas de la biblioteca se expresan en células bacterianas. Los sistemas de expresión bacterianos son bien conocidos en la técnica, e incluyen Escherichia coli (E. coli), Bacillus subtilis,

Streptococcus cremoris, y Streptococcus lividans. En realizaciones alternativas, las variantes de Fc se producen en células de insecto o células de levadura. En una realización alternativa, las variantes de Fc se expresan in vitro usando sistemas de traducción libres de células. Están disponibles sistemas de traducción in vitro derivados de tanto células procariotas (por ejemplo E. coli) como eucariotas (por ejemplo, germen de trigo, reticulocitos de conejo) y pueden ser elegidos en base a los niveles de expresión y las propiedades funcionales de la proteína de interés. Por ejemplo, como apreciarán los expertos en la técnica, se requiere la traducción in vitro para algunas tecnologías de presentación, por ejemplo, para la presentación en ribosomas. Además, las variantes de Fc pueden ser producidas por métodos de síntesis química.

Los ácidos nucleicos que codifican las variantes de Fc de la presente invención se pueden incorporar en un vector de expresión con el fin de expresar la proteína. Una variedad de vectores de expresión se puede utilizar para la expresión de proteínas. Los vectores de expresión pueden comprender vectores autorreplicantes extra-cromosómicos o vectores que se integran en un genoma huésped. Los vectores de expresión se construyen para ser compatible con el tipo de célula huésped. Así, los vectores de expresión que encuentran uso en la presente invención incluyen, pero no se limitan a, los que permiten la expresión de proteínas en células de mamíferos, bacterias, células de insecto, de levadura, y en sistemas in vitro. Como se conoce en la técnica, una variedad de vectores de expresión están disponibles comercialmente, o de otra manera, que pueden encontrar uso en la presente invención para expresar proteínas variantes de Fc.

Los vectores de expresión comprenden típicamente una proteína unida operativamente con secuencias de control o reguladoras, marcadores seleccionables, cualesquiera parejas de fusión, y/o elementos adicionales. Por “unido operativamente” en el presente documento se quiere decir que el ácido nucleico se coloca en una relación funcional con otra secuencia de ácido nucleico. Generalmente, estos vectores de expresión incluyen ácidos nucleicos reguladores de transcripción y de traducción unidos operativamente al ácido nucleico que codifica la variante de Fc, y son típicamente apropiados para la célula huésped usada para expresar la proteína. En general, las secuencias reguladoras transcripcionales y traduccionales pueden incluir secuencias promotoras, sitios de unión ribosómicos, secuencias de inicio y de parada transcripcionales, secuencias de inicio y de parada de traducción, y secuencias potenciadoras o activadoras. Como también se conoce en la técnica, los vectores de expresión contienen típicamente un gen de selección o marcador para permitir la selección de células huésped transformadas que contienen el vector de expresión. Los genes de selección son bien conocidos en la técnica y variarán con la célula huésped usada.

Las variantes de Fc pueden ser unidas operativamente a una pareja de fusión para permitir el reconocimiento de la proteína expresada, la purificación, detección, presentación, y similares. Las parejas de fusión pueden estar unidas a la secuencia de la variante de Fc a través de una secuencia enlazante. La secuencia enlazante comprenderá generalmente un pequeño número de aminoácidos, típicamente menos de diez, aunque también pueden usarse enlazadores más largos. Típicamente, las secuencias enlazadoras se seleccionan para ser flexibles y resistentes a la degradación. Como se apreciará por los expertos en la técnica, puede utilizarse cualquiera de una amplia variedad de secuencias como enlazadores. Por ejemplo, una secuencia enlazadora común comprende la secuencia de aminoácidos GGGGS. Una pareja de fusión puede ser una secuencia de reconocimiento o señal que dirige la proteína variante de Fc y cualesquiera parejas de fusión asociadas a una localización celular deseada o a los medios extracelulares. Como se conoce en la técnica, ciertas secuencias de señalización pueden reconocer una proteína que, o bien se secreta en el medio de crecimiento, o bien en el espacio periplásmico, localizado entre la membrana interna y externa de la célula. Una pareja de fusión puede ser también una secuencia que codifica un péptido o proteína que permite la purificación y/o detección. Tales parejas de fusión incluyen, pero no se limitan a, los marcadores de polihistidina (His-tags) (por ejemplo H_6 y H_{10} u otros marcadores para su uso con sistemas de cromatografía de afinidad con metal inmovilizado (IMAC) (por ejemplo, columnas de afinidad de Ni^{+2})), fusiones de GST, fusiones de MBP, Strep-tag, la secuencia diana de biotinilación de BSP de la enzima bacteriana BirA, y marcadores de epítopos que son el objetivo de los anticuerpos (por ejemplo, marcadores c-myc, marcadores flag, y similares). Como se apreciará por los expertos en la técnica, tales marcadores pueden ser útiles para la purificación, para la detección, o ambas cosas. Por ejemplo, una variante de Fc se puede purificar usando un His-tag inmovilizándolo a una columna de afinidad Ni^{+2} y, a continuación, después de la purificación del mismo His-tag puede usarse para inmovilizar el anticuerpo a una placa recubierta de Ni^{+2} para realizar un ELISA u otro ensayo de unión (como se describe a continuación). Una pareja de fusión puede permitir el uso de un método de selección para cribar variantes de Fc (véase más abajo). Las parejas de fusión que permiten una variedad de métodos de selección son bien conocidas en la técnica, y todas ellas tienen uso en la presente invención. Por ejemplo, mediante la fusión de los miembros de una biblioteca de variantes de Fc de la proteína del gen III, se puede emplear la presentación de fagos (Kay et al, Phage display of peptides and proteins: a laboratory manual, Academic Press, San Diego, California, 199; Lowman et al, 1991, Biochemistry 30: 10.832-10.838; Smith, 1985, Science 228: 1315-1317). Las parejas de fusión pueden permitir que las variantes de Fc se marquen. Alternativamente, una pareja de fusión puede unirse a una secuencia específica en el vector de expresión, permitiendo que la pareja de fusión y la variante de Fc asociada se unan covalentemente o no covalentemente con el ácido nucleico que los codifica. Por ejemplo, patente de los Estados Unidos. No. 09/642.574; patente de los Estados Unidos. No. 10/080.376; patente de los Estados Unidos. No. 09/792.630; patente de los Estados Unidos. No. 10/023.208; patente de los Estados Unidos. No. 09/792.626; patente de los Estados Unidos. No. 10/082.671; patente de los Estados Unidos. No. 09/953.351; patente de los Estados Unidos. No. 10/097.100; patente de los Estados Unidos. No. 60/366.658; documento PCT WO

00/22906; documento PCT WO 01/49058; documento PCT WO 02/04852; documento PCT WO 02/04853; documento PCT WO 02/08023; documento PCT WO 01/28702; y documento PCT WO 02/07466 describen una pareja de fusión tal y técnicas que pueden encontrar uso en la presente descripción.

Los métodos para introducir ácidos nucleicos exógenos en células huésped son bien conocidos en la técnica, y variarán con la célula huésped usada. Las técnicas incluyen, pero no se limitan a, transfección mediada por dextrano, precipitación con fosfato de calcio, tratamiento con cloruro de calcio, transfección mediada por polibreno, fusión de protoplastos, electroporación, infección viral o fago, encapsulación de polinucleótido(s) en liposomas, y microinyección directa del ADN en los núcleos. En el caso de células de mamíferos, la transfección puede ser transitoria o estable.

En un caso preferido, las proteínas variantes de Fc se purifican o aíslan después de la expresión. Las proteínas pueden aislarse o purificarse en una variedad de formas conocidas por los expertos en la técnica. Los métodos de purificación estándar incluyen técnicas cromatográficas, incluyendo intercambio iónico, interacción hidrófoba, filtración por afinidad, tamaño o en gel, y de fase inversa, llevada a cabo a presión atmosférica o a presión elevada usando sistemas tales como FPLC y HPLC. Los métodos de purificación incluyen también técnicas electroforéticas, inmunológicas, de precipitación, diálisis, y cromatoenfoque. Las técnicas de ultrafiltración y diafiltración, conjuntamente con la concentración de proteínas, también son útiles. Como es bien conocido en la técnica, una variedad de proteínas naturales une Fc y anticuerpos, y estas proteínas puede encontrar uso en la presente descripción para la purificación de las variantes de Fc. Por ejemplo, las proteínas bacterianas A y G se unen a la región Fc. Del mismo modo, la proteína bacteriana L se une a la región Fab de algunos anticuerpos, como, por supuesto, hace el antígeno diana del anticuerpo. La purificación a menudo puede ser activada por una pareja de fusión particular. Por ejemplo, las proteínas variantes de Fc pueden ser purificadas utilizando resina de glutatión si se emplea una fusión GST, cromatografía de afinidad de Ni^{+2} si se emplea un His-tag, o anticuerpo anti-flag inmovilizado si se utiliza un marcador flag. Para una guía general en técnicas de purificación adecuadas, véase Protein Purification: Principles and Practice, 3ª Ed., Scopes, Springer-Verlag, NY, 1994. El grado de purificación necesario variará dependiendo de la pantalla o el uso de las variantes de Fc. En algunos casos no es necesaria la purificación. Por ejemplo, en un caso, si se secretan las variantes de Fc, la detección puede tener lugar directamente a partir de los medios. Como es bien conocido en la técnica, algunos métodos de selección no implican la purificación de proteínas. Así, por ejemplo, si una biblioteca de variantes de Fc se convierte en una biblioteca de presentación de fagos, la purificación de proteínas puede no ser realizada.

Las variantes de Fc se pueden cribar utilizando una variedad de métodos, incluyendo, pero no limitado a, los que utilizan ensayos in vitro, in vivo y ensayos basados en células, y las tecnologías de selección. Pueden utilizarse tecnologías de automatización y cribado de alto rendimiento en los procedimientos de cribado. El cribado puede emplear el uso de una pareja de fusión o marcador. El uso de parejas de fusión se ha discutido anteriormente. Por "marcado" en la presente memoria se entiende que las variantes de Fc de la invención tienen uno o más elementos, isótopos o compuestos químicos unidos para permitir la detección en una pantalla. En general, los marcadores se dividen en tres clases: a) los marcadores inmunes, que puede ser un epítopo constituido como una pareja de fusión que es reconocida por un anticuerpo, b) marcadores isotópicos, que pueden ser isótopos radioactivos o pesados, y c) marcadores de pequeñas moléculas, que puede incluir colorantes fluorescentes y colorimétricos, o moléculas, tales como biotina, que permiten otros métodos de marcado. Los marcadores pueden ser incorporadas en el compuesto en cualquier posición y se pueden incorporar in vitro o in vivo durante la expresión de la proteína.

En un caso preferido, las propiedades funcionales y/o biofísicas de las variantes de Fc se criban en un ensayo in vitro. Los ensayos in vitro pueden permitir un amplio rango dinámico para la detección de propiedades de interés. Las propiedades de las variantes de Fc que pueden ser seleccionadas incluyen, pero no se limitan a, la estabilidad, la solubilidad y la afinidad para los ligandos de Fc, por ejemplo, FcγRs. Pueden ser examinadas simultáneamente o individualmente propiedades múltiples. Las proteínas se pueden purificar o no purificar, dependiendo de los requisitos del ensayo. En un caso, el rastreo es un ensayo de unión cualitativa o cuantitativa para la unión de variantes Fc a una molécula proteica o no proteica que se sabe o se cree que se une a la variante de Fc. En un caso preferido, el rastreo es un ensayo de unión para medir la unión al antígeno diana del anticuerpo o de las fusiones Fc. En un caso preferido alternativo, el rastreo es un ensayo para la unión de variantes Fc a un ligando de Fc, incluyendo, pero no sin limitación a, la familia de FcγRs, el receptor neonatal FcRn, la proteína de complemento C1q, y las proteínas bacterianas A y G. Dichos ligandos Fc pueden ser de cualquier organismo, siendo los seres humanos, ratones, ratas, conejos y monos los preferidos. Los ensayos de unión pueden llevarse a cabo usando una variedad de métodos conocidos en la técnica, incluyendo, pero no limitado a, ensayos basados FRET (Transferencia Resonante de Energía en Fluorescencia) y BRET (Transferencia de energía de resonancia por bioluminiscencia), AlphaScreen™ (ensayo homogéneo de proximidad luminiscente amplificado), Ensayo de proximidad de centelleo, ELISA (Ensayo Inmunosorbente Asociado a Enzimas), SPR (resonancia de plasmón de superficie, también conocido como BIAcore®), calorimetría de titulación isotérmica, calorimetría de barrido diferencial, electroforesis en gel y cromatografía, incluyendo filtración en gel. Estos y otros métodos pueden aprovechar algunas parejas de fusión o marcadores de la variante de Fc. Los ensayos pueden emplear una variedad de métodos de detección, incluyendo, pero no limitado a, marcadores cromogénicos, fluorescentes, luminiscentes, o isotópicos.

Las propiedades biofísicas de las proteínas variantes de Fc, por ejemplo, la estabilidad y solubilidad, se pueden rastrear utilizando una variedad de métodos conocidos en la técnica. La estabilidad de la proteína puede

determinarse midiendo el equilibrio termodinámico entre los estados plegado y desplegado. Por ejemplo, las proteínas variantes Fc de la presente invención pueden ser desplegadas utilizando un desnaturalizante químico, calor, o pH, y esta transición pueden ser monitoreada usando métodos que incluyen, pero sin limitación a, espectroscopia de dicroísmo circular, espectroscopía de fluorescencia, espectroscopía de absorbancia, espectroscopía de RMN, calorimetría, y proteólisis. Como se apreciará por los expertos en la técnica, los parámetros cinéticos del plegado y las transiciones del desplegado también pueden ser monitoreados usando estas y otras técnicas. La solubilidad y la integridad estructural global de una proteína variante de Fc pueden ser cuantitativa o cualitativamente determinadas utilizando una amplia gama de métodos que son conocidos en la técnica. Los métodos que pueden encontrar uso en la presente descripción para la caracterización de las propiedades biofísicas de las proteínas variantes de Fc incluyen electroforesis en gel, cromatografía, tal como cromatografía de exclusión por tamaños y cromatografía líquida de alta resolución de fase inversa, espectrometría de masas, espectroscopía de absorbancia ultravioleta, espectroscopia de fluorescencia, espectroscopía de dicroísmo circular, calorimetría isotérmica de titulación, calorimetría diferencial de barrido, análisis de ultra-centrifugación, dispersión dinámica de la luz, proteolisis, y reticulación, medición de la turbidez, ensayos de retardo de filtro, ensayos inmunológicos, ensayos de unión de colorantes fluorescentes, ensayos de tinción de proteínas, microscopía, y la detección de agregados a través de ELISA u otro ensayo de unión. También pueden encontrar uso los análisis estructurales de rayos X que emplea técnicas cristalográficas de rayos X y espectroscopía de RMN. En un caso, la estabilidad y/o la solubilidad pueden medirse mediante la determinación de la cantidad de solución de proteína después de un periodo de tiempo definido. En este ensayo, la proteína puede o no ser expuesta a alguna condición extrema, por ejemplo, temperatura elevada, pH bajo, o la presencia de un desnaturalizante. Dado que la función requiere típicamente de una proteína estable, soluble, y/o bien plegada/estructurada, los ensayos funcionales y de unión anteriormente mencionados también proporcionan formas de realizar una medición de este tipo. Por ejemplo, una solución que comprende una variante de Fc podría ensayarse por su capacidad para unirse al antígeno diana, entonces exponerse a una temperatura elevada durante uno o más períodos de tiempo definidos, a continuación, ensayarse para detectar la unión al antígeno de nuevo. Puesto que una proteína desplegada y agregada no se espera que sea capaz de la unión al antígeno, la cantidad de actividad restante proporciona una medida de la estabilidad y la solubilidad de la variante de Fc.

En un caso preferido, la biblioteca se rastrea utilizando uno o más ensayos basados en células o in vivo. Para tales ensayos, las proteínas variantes de Fc, purificadas o no purificadas, son típicamente añadidas exógenamente de tal manera que las células se exponen a variantes individuales o grupos de variantes que pertenecen a una biblioteca. Estos ensayos se basan típicamente, aunque no siempre, en la función de un anticuerpo o fusión de Fc que comprende la variante de Fc; es decir, en la capacidad del anticuerpo o fusión Fc para unirse a un antígeno diana y mediar algún acontecimiento bioquímico, por ejemplo, la función efectora, la inhibición de la unión al ligando/receptor, la apoptosis y similares. Tales ensayos a menudo implican el control de la respuesta de las células al anticuerpo o fusión Fc, por ejemplo, la supervivencia celular, la muerte celular, el cambio en la morfología celular, o la activación transcripcional, tal como la expresión celular de un gen natural o gen reportero. Por ejemplo, tales ensayos pueden medir la capacidad de las variantes de Fc para provocar ADCC, ADCP o CDC. Para algunos ensayos, puede ser necesario añadir células o componentes adicionales, es decir, además de las células diana, por ejemplo, complemento del suero o células efectoras tales como monocitos de sangre periférica (PBMC), células NK, macrófagos y similares. Dichas células adicionales pueden ser de cualquier organismo, preferiblemente seres humanos, ratones, ratas, conejos, y monos. Los anticuerpos y fusiones de Fc pueden provocar la apoptosis de ciertas líneas celulares que expresan el antígeno diana del anticuerpo, o pueden mediar el ataque en células diana por células inmunes que se han añadido al ensayo. Los métodos para controlar la muerte celular o la viabilidad son conocidos en la técnica, e incluyen el uso de colorantes, reactivos inmunoquímicos, citoquímicos y radiactivos. Por ejemplo, los ensayos de tinción de caspasa pueden permitir la medición de la apoptosis, y la absorción o liberación de sustratos radioactivos o colorantes fluorescentes tales como el azul alamar pueden permitir el control del crecimiento celular o de la activación. En un caso preferido, se utiliza el ensayo de citotoxicidad basado en EuTDA DELFIA® (Perkin Elmer, MA). Alternativamente, las células diana muertas o dañadas pueden monitorizarse mediante la medición de la liberación de una o más proteínas intracelulares naturales, por ejemplo, la lactato deshidrogenasa. La activación transcripcional también puede servir como un método para evaluar la función en ensayos basados en células. En este caso, la respuesta puede monitorizarse mediante el ensayo de genes naturales o proteínas que pueden ser reguladas al alza, por ejemplo, se puede medir la liberación de ciertas interleuquinas, o alternativamente de lectura puede ser a través de un constructo indicador. Los ensayos basados en células también pueden incluir la medida de cambios morfológicos de las células como respuesta a la presencia de una variante de Fc. Los tipos celulares para tales ensayos pueden ser procariotas o eucariotas, y se puede emplear una variedad de líneas celulares que son conocidas en la técnica.

Alternativamente, se llevan a cabo rastreos basadas en células utilizando células que han sido transformadas o transfectadas con ácidos nucleicos que codifican las variantes de Fc. Es decir, las proteínas variantes de Fc no se añaden de forma exógena a las células. Por ejemplo, en una realización, el rastreo basado en células utiliza la presentación en la superficie celular. Puede emplearse una pareja de fusión que permita la presentación de variantes Fc en la superficie de las células (Witrrup, 2001, Curr Opin Biotechnol, 12: 395-399). Los métodos de presentación en la superficie celular que pueden encontrar uso en la presente descripción incluyen, pero no se limitan a, presentación en bacterias (Georgiou et al, 1997, Nat Biotechnol 15: 29-34; Georgiou et al, 1993, Trends Biotechnol 11: 6-10; Lee et al, 2000, Nat Biotechnol 18: 645-648; Jun et al, 1998, Nat Biotechnol 16: 576-80),

levadura (Boder y Wittrup, 2000, Methods Enzymol 328: 430-44; Boder y Wittrup, 1997, Nat Biotechnol 15: 553-557), y células de mamífero (Whitehorn et al, 1995, Bio/technology 13: 1215-1219). En un caso alternativo, las proteínas variantes de Fc no se muestran en la superficie de las células, sino más bien se criban intracelularmente o en algún otro compartimento celular. Por ejemplo, la expresión periplásmica y el cribado por citometría (Chen et al, 2001, Nat Biotechnol 19: 537-542), el ensayo de complementación de fragmento de proteína (Johnsson y Varshavsky, 1994, Proc Natl Acad Sci USA 91: 10340-10344; Pelletier et al, 1998, Proc Natl Acad Sci USA 95: 12141-12146), y el rastreo de dos híbridos de levadura (Fields y Song, 1989, Nature 340: 245-246) pueden encontrar uso en la presente descripción. Alternativamente, si un polipéptido que comprende las variantes de Fc, por ejemplo, un anticuerpo o fusión Fc, imparte alguna ventaja de crecimiento seleccionable a una célula, esta propiedad se puede usar para cribar o seleccionar las variantes de Fc.

Como se sabe en la técnica, un subconjunto de los métodos de cribado son aquellos que seleccionan los miembros favorables de una biblioteca. Dichos métodos se denominan en este documento “métodos de selección”, y estos métodos encuentran uso en la presente descripción para el cribado de bibliotecas de variantes de Fc. Cuando las bibliotecas se criban utilizando un método de selección, sólo aquellos miembros de una biblioteca que son favorables, es decir que cumplen algunos criterios de selección, se propagan, aislan, y/o se observan. Como se apreciará, porque sólo se observan las variantes que más se ajustan, estos métodos permiten el rastreo de bibliotecas que son más grandes que las rastreables por los métodos de ensayo del ajuste de los miembros de la biblioteca de forma individual. Se permite la selección por cualquier método, técnica o pareja de fusión que una, de manera covalente o no covalente, el fenotipo de una variante de Fc con su genotipo, que es la función de una variante de Fc con el ácido nucleico que lo codifica. Por ejemplo, el uso de presentación en fagos como método de selección se permite por la fusión de miembros de la biblioteca a la proteína del gen III. De esta forma, la selección o el aislamiento de proteínas variantes que cumplen algunos criterios, por ejemplo, la afinidad de unión para un FcγR, también selecciona o aísla el ácido nucleico que lo codifica. Una vez aislado, el gen o los genes que codifican las variantes de Fc luego se pueden amplificar. Este proceso de aislamiento y amplificación, referido como panoramización, puede repetirse, permitiendo que las variantes de Fc favorables en la biblioteca se enriquezcan. La secuenciación de ácidos nucleicos del ácido nucleico unido permite en última instancia la identificación de genes.

Una variedad de métodos de selección son conocidos en la técnica que pueden encontrar uso en la presente descripción para el cribado de bibliotecas de variantes de Fc. Estos incluyen, pero no se limitan a la presentación en fagos (Phage display of peptides and proteins: a laboratory manual, Kay et al, 1996, Academic Press, San Diego, California, 1996; Lowman et al, 1991, Biochemistry 30: 10832 -10838; Smith, 1985, Sience 228: 1315-1317) y sus derivados, tales como la infección por fagos selectiva (Malmborg et al., 1997, J Mol Biol 273: 544-551), fago selectivamente infeccioso (Krebber et al., 1997, J Mol Biol 268: 619-630), y panoramización de infectividad retrasada (Benhar et al, 2000, J Mol Biol 301: 893-904), presentación en superficie celular (Witrrup, 2001, Curr Opin Biotechnol, 12: 395-399) tales como presentación en bacterias (Georgiou et al, 1997, Nat Biotechnol. 15: 29-34; Georgiou et al, 1993, Trends Biotechnol. 11: 6-10; Lee et al, 2000, Nat Biotechnol 18: 645- 648; Jun et al, 1998, Nat Biotechnol 16: 576-80), levadura (Boder y Wittrup, 2000, Methods Enzymol 328: 430-44; Boder y Wittrup, 1997, Nat Biotechnol 15: 553-557), y células de mamífero (Whitehorn et al, 1995, Bio/technology 13: 1215-1219), así como tecnologías de presentación in vitro (Amstutz et al, 2001, Curr Opin Biotechnol 12: 400-405), tales como presentación en polisomas (Mattheakis et al, 1994, Proc Natl Acad Sci USA 91: 9022-9026), presentación en ribosomas (Hanes et al, 1997, Proc Natl Acad Sci USA 94: 4937-4942), presentación en ARNm (Roberts & Szostak, 1997, Proc Natl Acad Sci USA 94: 12297-12302; Nemoto et al, 1997, FEBS Lett 414: 405-408), y el sistema de presentación en ribosomas-inactivación (Zhou et al, 2002, J Am Chem Soc 124, 538 a 543).

Otros métodos de selección que pueden encontrar uso en la presente invención incluyen métodos que no se basan en el rastreo, tales como en métodos in vivo, incluyendo, pero no limitado a, la expresión periplásmica y el rastreo por citometría (Chen et al, 2001, Nat Biotechnol 19: 537-542), el ensayo de complementación de fragmento de proteína (Johnsson y Varshavsky, 1994, Proc Natl Acad Sci USA 91: 10340-10344; Pelletier et al, 1998, Proc Natl Acad Sci USA 95: 12141-12146), y el rastreo de dos híbridos de levadura (Fields y Song, 1989, Nature 340: 245-246), que se utiliza en el modo de selección (Visintin et al, 1999, Proc Natl Acad Sci USA 96: 11723-11728). En un caso alternativo, la selección se permite por una pareja de fusión que se une a una secuencia específica en el vector de expresión, uniendo así covalentemente o no covalentemente la pareja de fusión y el miembro de la biblioteca de la variante de Fc asociado con el ácido nucleico que los codifica. Por ejemplo, patente de los Estados Unidos. No. 09/642.574; patente de los Estados Unidos. No. 10/080.376; patente de los Estados Unidos. No. 09/792.630; patente de los Estados Unidos. No. 10/023.208; patente de los Estados Unidos. No. 09/792.626; patente de los Estados Unidos. No. 10/082.671; patente de los Estados Unidos. No. 09/953.351; patente de los Estados Unidos. No. 10/097.100; patente de los Estados Unidos. No. 60/366.658; documento PCT WO 00/22906; documento PCT WO 01/49058; documento PCT WO 02/04852; documento PCT WO 02/04853; documento PCT WO 02/08023; documento PCT WO 01/28702; y el documento PCT WO 02/07466 describen tal pareja de fusión y técnica que pueden encontrar uso en la presente descripción. En un caso alternativo, puede ocurrir la selección in vivo si la expresión de un polipéptido que comprende la variante de Fc, tal como un anticuerpo o fusión Fc, imparte cierto crecimiento, reproducción o ventaja de supervivencia a la célula.

Un subconjunto de métodos de selección conocidos como los métodos de “evolución dirigida” son aquellos que incluyen el acoplamiento o unión de secuencias favorables durante la selección, en ocasiones con la incorporación de nuevas mutaciones. Como se apreciará por los expertos en la técnica, los métodos de evolución dirigida pueden

facilitar la identificación de las secuencias más favorables en una biblioteca y pueden incrementar la diversidad de las secuencias que se criban. Una variedad de métodos de evolución dirigida son conocidos en la técnica que pueden encontrar uso en la presente invención para el cribado de bibliotecas de variantes de Fc, incluyendo pero no limitado al barajado de ADN (documento PCT WO 00/42561 A3; documento PCT WO 01/70947 A3), barajado de exones (patente de Estados Unidos No. 6.365.377; Kolkman y Stemmer, 2001, Nat Biotechnol 19: 423-428), barajado de familias (Crameri et al, 1998, Nature 391: 288-291; patente de Estados Unidos No. 6.376.246), RACHIT™ (Coco et al, 2001, Nat Biotechnol 19: 354-359; documento PCT WO 02/06469), STEP y cebado aleatorio de la recombinación in vitro (Zhao et al, 1998, Nat Biotechnol 16: 258-261; Shao et al., 1998, Nucleic Acids Res 26: 681-683), ensamblaje de genes mediado por exonucleasa (patente de Estados Unidos Nº 6.352.842; patente de Estados Unidos No. 6.361.974), Gene Site Saturation Mutagenesis™ (patente de Estados Unidos No. 6.358.709), Gene Reassembly™ (patente de Estados Unidos Nº 6.358.709.), SCRATCHY (Lutz et al, 2001, Proc Natl Acad Sci USA 98: 11248-11253), métodos de fragmentación de ADN (Kikuchi et al., Gene 236: 159-167), barajado de ADN monocatenario (Kikuchi et al., 2000, Gene 243: 133-137), y la tecnología de ingeniería de proteínas por evolución dirigida AMEsystem™ (Applied Molecular Evolution) (patente de los Estados Unidos. No. 5.824.514; Patente de Estados Unidos. No. 5.817.483; Patente de Estados Unidos. No. 5.814.476; Patente de Estados Unidos. No. 5.763.192; Patente de Estados Unidos. No. 5.723.323).

Las propiedades biológicas de los anticuerpos y las fusiones de Fc que comprenden las variantes de Fc de la presente invención pueden caracterizarse en experimentos con células, tejidos, y organismos completos. Como es conocido en la técnica, los medicamentos son a menudo probados en animales, incluyendo, pero no limitado a, ratones, ratas, conejos, perros, gatos, cerdos y monos, a fin de medir la eficacia de un fármaco para el tratamiento frente a una enfermedad o modelo de enfermedad, o para medir la farmacocinética de un fármaco, la toxicidad y otras propiedades. Dichos animales pueden ser referidos como modelos de enfermedad. La terapéutica se prueba a menudo en ratones, incluyendo, pero no limitado a, ratones desnudos, ratones SCID, ratones de xenoinjerto y ratones transgénicos (incluyendo knockins y knockouts). Por ejemplo, un anticuerpo o fusión de Fc de la presente invención que se pretende como un agente terapéutico anti-cáncer se puede ensayar en un modelo de cáncer de ratón, por ejemplo un ratón de xenoinjerto. En este método, un tumor o una línea celular tumoral se injerta o se inyecta en un ratón, y posteriormente el ratón se trata con el agente terapéutico para determinar la capacidad del anticuerpo o fusión de Fc para reducir o inhibir el crecimiento del cáncer. Dicha experimentación puede proporcionar datos significativos para la determinación del potencial de dicho anticuerpo o fusión Fc que debe utilizarse como agente terapéutico. Cualquier organismo, preferiblemente los mamíferos, se puede utilizar para la prueba. Por ejemplo, debido a su similitud genética con los seres humanos, los monos pueden ser modelos terapéuticos adecuados y, por lo tanto, pueden utilizarse para probar la eficacia, toxicidad, farmacocinética u otra propiedad de los anticuerpos y fusiones de Fc de la presente invención. Análisis de los anticuerpos y fusiones de Fc de la presente invención en los seres humanos son en última instancia requeridos para la aprobación como fármacos y, por tanto, por supuesto, se contemplan estos experimentos. Así, los anticuerpos y fusiones de Fc de la presente invención pueden ensayarse en seres humanos para determinar su eficacia, toxicidad, farmacocinética, u otras propiedades terapéuticas y/o clínicas.

Ejemplos

Se proporcionan ejemplos a continuación para ilustrar la presente invención. Estos ejemplos no están destinados a limitar la presente invención a ninguna aplicación o teoría de operación particular.

Para todas las posiciones discutidas en la presente invención, la numeración es según el índice EU de Kabat (Kabat et al., 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5ª ed., Servicio de Salud Pública de Estados Unidos, Institutos Nacionales de Salud, Bethesda). Los expertos en la técnica de los anticuerpos apreciarán que esta convención consta de una numeración no secuencial en regiones específicas de una secuencia de inmunoglobulina, lo que permite una referencia normalizada a las posiciones conservadas en las familias de inmunoglobulinas. De acuerdo con ello, las posiciones de cualquier inmunoglobulina dada, como se define por el índice de la UE, no necesariamente corresponderá con su secuencia secuencial. La figura 3 muestra los esquemas de numeración secuenciales y de índice de UE para el anticuerpo alemtuzumab con el fin de ilustrar este principio con más claridad. También hay que señalar que se han observado polimorfismos en un número de posiciones de Fc, incluyendo, pero no limitado a, Kabat 270, 272, 312, 315, 356, y 358, y, por lo tanto, pueden existir ligeras diferencias entre la secuencia presentada y las secuencias en la literatura científica.

Ejemplo 1. Rastreo computacional y diseño de bibliotecas de Fc

Se llevaron a cabo cálculos de cribado computacional para diseñar variantes de Fc optimizadas. Las variantes de Fc se seleccionaron computacionalmente, se construyeron, y se investigaron experimentalmente durante varios ciclos de cálculo/experimentación. Para cada ciclo sucesivo, los datos experimentales proporcionaron datos en el siguiente conjunto de cálculos de cribado computacional y diseño de la biblioteca. Todos los cálculos de rastreo computacional y diseño de la biblioteca se presentan en el Ejemplo 1. Para cada conjunto de cálculos, se proporciona una tabla que presenta los resultados y proporciona la información y los parámetros pertinentes.

Varias estructuras diferentes de Fc unidas al dominio extracelular de FcγRs sirvieron como estructuras de plantilla para los cálculos de cribado computacional. Las estructuras disponibles al público del complejo Fc/FcγR incluyen

código de acceso pdb 1E4K (Sondermann et al, 2000, Nature 406: 267-273), y los códigos de acceso pdb 1IIS y 1IIX (Radaev et al, 2001, J Biol Chem 276: 16469- 16477). Las regiones extracelulares de FcγRIIIb y FcγRIIIa son 96% idénticas, y por lo tanto el uso de la estructura Fc/FcγRIIIb es esencialmente equivalente al uso de FcγRIIIa. Sin embargo, para algunos cálculos, una estructura de plantilla Fc/FcγRIIIa más precisa se construyó mediante el modelado de una mutación D129G en las estructuras 1IIS y 1E4K (denominadas estructuras de plantilla D129G 1IIS y D129G 1E4K). Además, las estructuras para el Fc humano unido a los dominios extracelulares de FcγRIIb humano, F158 FcγRIIA humano, y FcγRIII de ratón se modelaron usando métodos estándar, la información de la secuencia de FcγR disponible, las estructuras mencionadas de Fc/FcγR, así como la información estructural para los complejos no unidos (código de acceso pdb 1H9V) (Sondermann et al, 2001, J Mol Biol 309: 737-749) (código de acceso pdb 1 FCG) (Maxwell et al, 1999, Nat Struct Biol 6: 437-442), FcγRIIb (código de acceso pdb 2FCB) (Sondermann et al, 1999, Embo J 18: 1095-1103), y FcγRIIIb (código de acceso pdb 1E4J) (Sondermann et al, 2000, Nature 406: 267-273).

Las posiciones variables y los aminoácidos que deben considerarse en esas posiciones fueron escogidos por inspección visual de las mencionadas estructuras de Fc/FcγR y FcγR, y usando la información de accesibilidad del disolvente y la información de secuencia. La información de secuencia de FCS y FcγRs fue particularmente útil para determinar posiciones variables en las que las sustituciones pueden proporcionar afinidades distintivas entre los receptores de activación e inhibitorios. Prácticamente todas las posiciones Cγ2 fueron seleccionadas computacionalmente. La estructura Fc es un homodímero de dos cadenas pesadas (cadenas marcada A y B en las estructuras 1IIS, 1IIX, y 1E4K) que incluyen cada una la bisagra y los dominios Cγ2-Cγ3 (mostrados en la figura 2). Debido a que el FcγR (cadena C marcada en las estructuras 1IIS, 1IIX, y 1E4K) se une de forma asimétrica al homodímero Fc, cada cadena se considera a menudo por separado en los cálculos de diseño. Para algunos cálculos, los residuos Fc y/o FcγR proximales a los residuos de posición variables se hicieron flotar, es decir la conformación de aminoácidos, pero no la identidad de aminoácidos, se permitió variar en un cálculo de diseño de proteínas para permitir los ajustes conformacionales. Estos se indican más abajo en la tabla para cada conjunto de cálculos cuando sea pertinente. Los aminoácidos considerados típicamente pertenecían ya sea a las clasificaciones Núcleo, Núcleo XM, Superficie, Límite, Límite XM, o Todos 20, a menos que se indique lo contrario. Estas clasificaciones se definen como sigue: Núcleo = alanina, valina, isoleucina, leucina, fenilalanina, tirosina, triptófano, y metionina; Núcleo XM = alanina, valina, isoleucina, leucina, fenilalanina, tirosina y triptófano; Superficie = alanina, serina, treonina, ácido aspártico, asparagina, glutamina, ácido glutámico, arginina, lisina e histidina; Límite = alanina, serina, treonina, ácido aspártico, asparagina, glutamina, ácido glutámico, arginina, lisina, histidina, valina, isoleucina, leucina, fenilalanina, tirosina, triptófano, y metionina; Límite XM = Límite = alanina, serina, treonina, ácido aspártico, asparagina, glutamina, ácido glutámico, arginina, lisina, histidina, valina, isoleucina, leucina, fenilalanina, tirosina y triptófano; Todo 20 = todos los 20 aminoácidos de origen natural.

La mayoría de los cálculos siguió uno de los dos tipos generales de métodos de cribado computacionales. En un método, las conformaciones de aminoácidos en las posiciones variables se representan como un conjunto de rotámeros de cadena lateral de la cadena principal independiente derivados de la biblioteca rotámeros de Dunbrack y Cohen (Dunbrack et al., 1997, Protein Sci 6: 1661-1681). Las energías de todas las combinaciones posibles de los aminoácidos considerados en las posiciones variables elegidas se calcularon usando un campo de fuerza que contenía los términos que describen las interacciones de van der Waals, solvatación, interacciones electrostáticas y enlaces de hidrógeno, y la secuencia óptima (estado fundamental) se determinó usando el algoritmo de Dead End Elimination (DEE). Como se apreciará por los expertos en la técnica, la secuencia de energía más baja predicha no es necesariamente la secuencia de energía más baja verdadera debido a errores principalmente en la función de puntuación, junto con el hecho de que sutiles diferencias conformacionales en las proteínas pueden dar como resultado diferencias dramáticas en la estabilidad. Sin embargo, la secuencia del estado fundamental predicha es probable que esté cercana al estado fundamental verdadero y, por lo tanto, la diversidad adicional favorable puede explorarse mediante la evaluación de la energía de las secuencias que están cerca en el espacio de secuencias y energía alrededor del estado fundamental predicho. Para lograr esto, así como para generar una diversidad de secuencias para una biblioteca, se utilizó el algoritmo de Monte Carlo (MC) para evaluar las energías de 1000 secuencias similares alrededor del estado fundamental predicho. El número de secuencias fuera del conjunto de 1000 secuencias que contiene ese aminoácido en esa posición variable se conoce como la ocupación para tal sustitución, y este valor puede reflejar cómo de favorable es la sustitución. Este método de cribado computacional es sustancialmente similar a la tecnología Protein Design Automation® (PDA®), como se describe en la patente de los Estados Unidos. No. 6.188.965; Patente de Estados Unidos. No. 6.269.312; Patente de Estados Unidos. No. 6.403.312; patente de los Estados Unidos. No. 09/782.004; patente de los Estados Unidos. No. 09/927.790; patente de los Estados Unidos. No. 10/218.102; documento PCT WO 98/07254; documento PCT WO 01/40091; y documento PCT WO 02/25588, y para facilitar la descripción, se conoce como la tecnología PDA® a lo largo de los ejemplos. Las tablas que presentan los resultados de estos cálculos proporcionan para cada posición variable de la cadena designada (columna 1) los aminoácidos considerados en cada posición variable (columna 2), la identidad de aminoácidos WT Fc en cada posición variable (columna 3), la identidad de aminoácidos en cada posición variable en la secuencia del estado fundamental DEE (columna 4), y el conjunto de aminoácidos y la ocupación correspondiente que se observan en la salida de Monte Carlo (columna 5). Por ejemplo, en la primera fila de la Tabla 1 a continuación, cuando la posición 328 se varió utilizando aminoácidos límite como el conjunto de residuos variables para esa posición, L se produjo 330 veces en la secuencia superior 1000, M se produjo 302 veces, etc.

Otros cálculos utilizaron un algoritmo genético (GA) para detectar las secuencias de baja energía, siendo las energías calculadas durante cada ronda de "evolución" para aquellas secuencias que se muestrearon. Las conformaciones de los aminoácidos en las posiciones variables y flotadas se representan como un conjunto de rotámeros de cadena lateral derivados de una biblioteca de rotámeros independiente de la estructura, utilizando un modelo de rotámero flexible (Mendes et al, 1999, Proteins 37: 530-543). Se calcularon las energías usando un campo de fuerza que contenía los términos que describen las interacciones de van der Waals, de solvatación, electrostáticas y enlaces de hidrógeno. Este cálculo generó una lista de 300 secuencias que se predijo que era de baja energía. Para facilitar el análisis de los resultados y la generación de bibliotecas, las 300 secuencias de salida se agruparon computacionalmente en 10 grupos de secuencias similares usando un algoritmo de agrupación jerárquica de unión sencilla del vecino más cercano para asignar las secuencias a los grupos relacionados basados en las puntuaciones de similitud (Diamond, 1995, Acta Cryst D 51: 127-135). Es decir, todas las secuencias dentro de un grupo son las más similares a todas las demás secuencias dentro del mismo grupo y menos similares a las secuencias en otros grupos. La secuencia de energía más baja de cada uno de estos diez grupos se utiliza como un representante de cada grupo, y se presenta como resultados. Este método de cribado computacional es sustancialmente similar a la tecnología de Sequence Prediction Algorithm™ (SPA™), como se describe en (Raha et al, 2000, Protein Sci 9: 1106-1119); patente de los Estados Unidos. No. 09/877.695; y patente de los Estados Unidos. No. 10/071.859, y para facilitar la descripción, se refiere como la tecnología SPA™ a lo largo de los ejemplos. Las tablas que presentan los resultados de estos cálculos proporcionan para cada posición variable de la cadena designada (columna 1) los aminoácidos considerados en cada posición variable (columna 2), la identidad de aminoácidos WT Fc en cada posición variable (columna 3), y la identidad de aminoácidos en las posiciones variables para la secuencia de energía más baja de cada grupo del clúster (columnas 4-13).

Se aplicó el cribado computacional para diseñar interacciones energéticamente favorables en la interfaz Fc/FcγR en grupos de posiciones variables que median o potencialmente median la unión con FcγR. Debido a que la interfaz de unión implica un gran número de residuos de Fc en las dos cadenas diferentes, y porque FcγRs se une de forma asimétrica a Fc, los residuos se agruparon en diferentes conjuntos de posiciones variables interactuantes, y se diseñaron en conjuntos separados de cálculos. En muchos casos, estos conjuntos fueron elegidos como grupos de residuos que se consideraron que se acoplaron; es decir, la energía de uno o más residuos depende de la identidad de uno o más de otros residuos. Se utilizaron diversas estructuras de plantilla, y en muchos casos los cálculos exploraron las sustituciones en ambas cadenas. Para muchos de los conjuntos de posiciones variables, los cálculos se llevaron a cabo utilizando tanto los métodos de cribado computacional de la tecnología PDA® como SPA™ descritos. Los resultados de estos cálculos y relevantes se presentan en las Tablas 1-30 a continuación. Los parámetros y la información pertinentes se presentan más abajo de cada tabla, incluyendo el método de cribado de cálculo utilizado, la estructura de plantilla utilizada, ya sea o no que la estructura tenga átomos de hidratos de carbono, y cualesquiera residuos que pueden haber sido flotados. Por ejemplo, la Tabla 2 presenta los resultados de un cálculo PDA® en el que los residuos 120, 132, y 134 en la cadena C (el receptor FcγRIIIb) fueron flotados.

Se incluyen dentro de las composiciones de la descripción anticuerpos que tienen cualquiera de los residuos de aminoácidos enumerados en las posiciones en la lista, ya sea solos o en cualquier combinación (obsérvese que las combinaciones preferidas se enumeran en las reivindicaciones, el resumen y las figuras). Una combinación preferida es los residuos de aminoácidos indicados en las posiciones indicadas en un estado fundamental (a veces denominado en este documento como "solución global", a diferencia de la natural). Además, tanto dentro de las tablas como entre las tablas, también se incluyen combinaciones entre las proteínas SPA™. Cabe señalar que los residuos que no figuran en una tabla dada se supone que no han sido variados y que, por lo tanto, siguen siendo naturales. Por ejemplo, en los resultados de los cálculos de SPA™ presentados en la Tabla 4, la columna 4 (que representa el grupo 1) indica una proteína con los seis aminoácidos indicados en las seis posiciones indicadas (por ejemplo, la columna 4 es una única proteína con una secuencia natural excepto para 239E, 265G, 267S, 269Y, 270T y 299S). Por lo tanto, cada una de estas proteínas individuales está incluida dentro de la descripción. Alternativamente, las posiciones de residuos y los aminoácidos particulares en las posiciones de los restos pueden combinarse entre las columnas dentro de una tabla, o entre las tablas. Además, cabe señalar que, si bien cada tabla indica la presencia o ausencia de hidratos de carbono, la presencia o ausencia de dichos átomos en el cálculo de cribado computacional no pretende dar a entender que las variantes de Fc diseñadas por tales cálculos deben ser aplicables a solamente el Fc no glicosilado o glicosilado. Así, aunque los cálculos en la Tabla 1 se llevaron a cabo sin átomos de hidratos de carbono presentes en la estructura de la plantilla, las sustituciones predichas resultantes pueden ser favorables en un anticuerpo no glicosilado o glicosilado o fusión de Fc.

Tabla 1

Posición	Aminoácidos considerados	WT	Estado fundamental	Secuencias alrededor del estado fundamental
328 A	Límite	L	L	L: 330 M: 302 E: 111 K: 62 A: 45 Q: 39 D: 36 S: 30 T: 28 N: 10 R: 7
332 A	Superficie	I	R	R: 247 K: 209 Q: 130 H: 95 E: 92 T: 59 D: 51 N: 51 S: 42 A: 24
328 B	Límite	L	L	L: 321 M: 237 T: 166 K: 73 R: 72 S: 55 Q: 20 D: 17 E: 13 A: 12 V: 10 N: 4
332 B	Superficie	I	E	E: 269 Q: 180 R: 145 K: 111 D: 97 T: 78 N: 65 S: 28 A: 14 H: 13

Tecnología PDA®, estructura de plantilla 1IIS; -hidrato de carbono

Tabla 2

Posición	Aminoácidos considerados	WT	Estado fundamental	Secuencias alrededor del estado fundamental
239 A	Superficie	S	K	E: 349 D: 203 K: 196 A: 95 Q: 83 S: 63 N: 10 R: 1
265 A	Límite XM	D	D	D: 616 N: 113 L: 110 E: 104 S: 25 A: 23 Q: 9
299 A	Límite XM	T	I	I: 669 H: 196 V: 135
327 A	Límite XM	A	S	A: 518 S: 389 N: 67 D: 26
265 B	Límite XM	D	Q	Q: 314 R: 247 N: 118 I: 115 A: 63 E: 55 D: 34 S: 22 K: 21 V: 11

Tecnología PDA®; estructura de la plantilla 1IIS; + Hidrato de carbono; 120 C, 132 C, 134 C flotados

Tabla 3

Posición	Aminoácidos considerados	WT	Estado fundamental	Secuencias alrededor del estado fundamental
239 A	Superficie	S	E	E: 872 Q: 69 D: 39 K: 16 A: 4
265 A	Límite XM	D	Y	Y: 693 H: 111 E: 69 D: 62 F: 29 K: 19 R: 14 W: 2 Q: 1
267 A	Límite XM	S	S	S: 991 A: 9
269 A	Núcleo XM	E	F	F: 938 E: 59 Y: 3
270 A	Superficie	D	E	E: 267 T: 218 K: 186 D: 89 Q: 88 R: 46 S: 34 N: 29 H: 23 A: 20
299 A	Límite XM	T	H	H: 486 T: 245 K: 130 E: 40 S: 39 D: 27 Q: 27 A: 4 N: 2

Tecnología PDA®; estructura de la plantilla 1IIS; -hidrato de carbono; 120 C, 122 C, 132 C, 133 C, 134 C flotados

Tabla 4

Posición	Aminoácidos considerados	WT	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
239 A	Superficie	S	E	Q	Q	Q	E	E	E	Q	E	E
265 A	Todo 20	D	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
267 A	Todo 20	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
269 A	Núcleo	E	Y	Y	A	A	V	Y	A	A	A	A
270 A	Superficie	D	T	S	A	S	T	T	T	A	A	A
299 A	Todo 20	T	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

Tecnología SPA™; estructura de la plantilla 1IIS; + Hidrato de carbono; 120 C, 122 C, 132 C, 133 C, 134 C flotados

Tabla 5

Posición	Aminoácidos considerados	WT	Estado fundamental	Secuencias alrededor del estado fundamental
235 A	Límite XM	L	T	T: 195 V: 131 L: 112 W: 107 K: 85 F: 66 Y: 56 E: 52 Q: 38 S: 37 I: 34 R: 29 H: 26 N: 23 D: 9
296 A	Superficie	Y	N	N: 322 D: 181 R: 172 K: 76 Y: 70 Q: 59 E: 48 S: 40 H: 20 T: 11 A: 1
298 A	Superficie	S	T	T: 370 R: 343 K: 193 A: 55 S: 39
235 B	Límite XM	L	L	L: 922 I: 78

Tecnología PDA ®; estructura de la plantilla 1IIS; -hidrato de carbono; 119 C, 128 C, 157 C flotados

Tabla 6

Posición	Aminoácidos considerados	WT	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
235 A	Todo 20	L	S	S	P	S	S	S	S	S	S	S
296 A	Superficie	Y	Q	Q	Q	E	E	Q	E	Q	Q	N
298 A	Superficie	S	S	K	K	K	K	S	S	S	K	S
235 B	Todo 20	L	K	K	K	L	L	L	L	L	L	K

Tecnología SPA™; estructura de la plantilla 1IIS; + Hidrato de carbono; 119 C, 128 C, 157 C flotados

Tabla 7

Posición	Aminoácidos considerados	WT	Estado fundamental	Secuencias alrededor del estado fundamental
239 B	Superficie	S	E	K: 402 E: 282 H: 116 T: 67 R: 47 Q: 39 D: 26 A: 11 S: 7 N: 3
265 B	Límite XM	D	W	Y: 341 W: 283 I: 236 V: 77 F: 36 H: 9 T: 7 E: 4 K: 4 A: 2 D: 1
327 B	Límite XM	A	R	R: 838 K: 86 H: 35 E: 12 T: 10 Q: 7 A: 6 D: 3 N: 3
328 B	Núcleo XM	L	L	L 1000

329 B	Núcleo XM	P	P	P: 801 A: 199
330 B	Núcleo XM	A	Y	Y: 918 F: 42 L: 22 A: 18
332 B	Superficie	I	I	I: E 792: 202 Q: 5 K: 1

Tecnología PDA®; estructura de la plantilla 1IIS; -hidrato de carbono; 88 C, 90 C, 113 C, 114 C, 116 C, 160 C, 161 C flotados

Tabla 8

Posición	Aminoácidos considerados	WT	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
239 B	Superficie	S	D	T	E	E	E	E	E	E	E	E
265 B	Todo 20	D	G	G	K	G	K	G	G	K	K	G
327 B	Todo 20	A	K	M	L	L	N	L	K	L	L	L
328 B	Núcleo	L	M	M	M	L	A	M	L	M	L	L
329 B	Núcleo	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P
330 B	Núcleo	A	L	A	A	A	A	A	A	A	A	A
332 B	Superficie	I	I	Q	I	I	Q	Q	E	D	I	I

Tecnología SPA™; estructura de la plantilla 1IIS; + Hidrato de carbono; 88 C, 90 C, 113 C, 114 C, 116 C, 160 C, 161 C flotados

Tabla 9

Posición	Aminoácidos considerados	WT	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
239 A	Superficie	S	Q	Q	Q	E	Q	E	Q	E	Q	Q
265 A	Todo 20	D	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
299 A	Todo 20	T	S	S	A	S	S	S	S	S	S	S
327 A	Todo 20	A	A	S	S	S	S	S	S	S	A	S
265 B	Todo 20	D	N	G	G	G	G	G	G	G	G	G

Tecnología SPA™; estructura de la plantilla 1IIS; -hidrato de carbono; 120 C, 132 C, 134 C flotados

Tabla 10

Posición	Aminoácidos considerados	WT	Estado fundamental	Secuencias alrededor del estado fundamental
234 A	Límite XM	L	K	Y: 401 L: 260 F: 151 I: 82 K: 63 H: 17 Q: 11 W: 7 R: 3 T: 2 E: 2 V: 1
235 A	Límite XM	L	L	W: 777 L: 200 K: 12 Y: 5 I: 3 F: 2 V: 1
234 B	Límite XM	L	W	W: 427 Y: 203 L: 143 F: 74 I: 59 E: 32 K: 23 V: 14 D: 10 T: 7 H: 4 R: 4
235 B	Límite XM	L	W	W: 380 Y: 380 F: 135 K: 38 L: 26 E: 15 Q: 12 H: 8 R: 4 T: 2

Tecnología PDA®; estructura de la plantilla D129G 1E4K; -hidrato de carbono; 113 C, 116 C, 132 C, 155 C, 157 C flotados

Tabla 11

Posición	Aminoácidos considerados	WT	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
234 A	Todo 20	L	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
235 A	Todo 20	L	T	L	L	L	L	L	L	L	T	L
234 B	Todo 20	L	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
235 B	Todo 20	L	S	A	S	A	A	S	S	S	A	A

Tecnología SPA™; estructura de la plantilla D129G 1E4K; + Hidrato de carbono; 113 C, 116 C, 132 C, 155 C, 157 C flotados

Tabla 12

Posición	Aminoácidos considerados	WT	Estado fundamental	Secuencias alrededor del estado fundamental
239 A	Límite XM	S	E	E: 235 S: 122 D: 94 Q: 93 A: 74 K: 70 L: 67 T: 63 N: 57 R: 51 I: 29 V: 18 W: 15 H: 12
328 A	Límite XM	L	L	L: 688 E: 121 K: Q 43: 41 A: 33 D: 26 S: 14 T: 14 N: 12 R: 8
332 A	Límite XM	I	W	I: 155 W: 95 L: 82 K: 79 E: 74 Q: 69 H: 67 V: 63 R: 57 T: 57 D: 45 S: 43 N: 42 A: 35 F: 19 Y: 18

Tecnología PDA®; estructura de la plantilla D129G 1IIS; -hidrato de carbono; 120 C flotado

Tabla 13

Posición	Aminoácidos considerados	WT	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
239 A	Todo 20	S	L	E	E	Q	E	E	K	K	K	K
328 A	Todo 20	L	L	Q	L	Q	K	L	L	Q	K	L
332 A	Todo 20	I	K	K	L	Q	A	K	L	Q	A	Q

Tecnología SPA™; estructura de la plantilla D129G 1IIS; + Hidrato de carbono; 120 C flotado

Tabla 14

Posición	Aminoácidos considerados	WT	Estado fundamental	Secuencias alrededor del estado fundamental
239 B	Límite XM	S	I	R: 195 I: 169 L: 126 V: 91 K: 89 E: 61 H: 52 T: 50 Q: 42 N: 35 S: 34 D: 30 A: 26
328 B	Límite XM	L	L	L: 671 T: 165 K: 40 S: 38 E: 28 R: 17 Q: 17 V: 11 A: 8 D: 5
332 B	Límite XM	I	I	I: E 387: 157 L: 151 V: 78 Q: 63 K: 50 R: 33 T: 29 D: 25 A: 12 N: 8 S: 6 W: 1

Tecnología PDA®; estructura de la plantilla D129G 1IIS; -hidrato de carbono; 90 C, 160 C, 161 C flotados

Tabla 15

Posición	Aminoácidos considerados	WT	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
239 B	Todo 20	S	T	L	L	L	L	L	L	L	L	L
328 B	Todo 20	L	M	R	M	D	T	M	L	Q	D	L
332 B	Todo 20	I	I	D	Q	Q	Q	L	L	T	Q	L

Tecnología SPA™; estructura de la plantilla D129G 1IIS; + Hidrato de carbono; 90 C, 160 C, 161 C flotados

Tabla 16

Posición	Aminoácidos considerados	WT	Estado fundamental	Secuencias alrededor del estado fundamental
239 B	Límite XM	S	T	T: 164 S: 159 L: 156 E: 86 W: 76 K: 71 D: 65 A: 52 R: 43 H: 38 Q: 38 N: 31 I: 14 V: 7
328 B	Límite XM	L	L	L: 556 E: 114 T: 84 K: 80 S: 69 Q: 36 A: 31 D: 15 R: 11 N: 4
332 B	Límite XM	I	W	I: 188 W: 177 E: 97 L: 94 T: 59 Q: 57 V: 54 K: 52 F: 51 D: 34 H: 33 S: 27 R: 26 N: 18 A: 17 Y: 16

Tecnología PDA®; estructura de la plantilla D129G 1E4K; -hidrato de carbono; 117 C flotado

Tabla 17

Posición	Aminoácidos considerados	WT	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
239 B	Todo 20	S	P	S	P	E	L	L	L	L	L	L
328 B	Todo 20	L	K	K	K	K	K	L	K	K	K	L
332 B	Todo 20	I	S	S	E	L	L	L	E	L	L	L

Tecnología SPA™; estructura de la plantilla D129G 1E4K; + Hidrato de carbono; 117 C flotado

Tabla 18

Posición	Aminoácidos considerados	WT	Estado fundamental	Secuencias alrededor del estado fundamental
239 A	Límite XM	S	L	K: 196 L: 171 I: E 146: 88 V: 76 R: 75 T: 50 H: 45 D: 43 Q: 39 S: 30 N: 22 A: 19
328 A	Límite XM	L	W	L: 517 F: 230 W: 164 H: 40 K: 29 E: 11 R: 5 T: 4
332 A	Límite XM	I	E	I: 283 L: 217 E: 178 Q: 81 V: 64 D: 47 T: 35 K: 27 W: 18 R: 12 A: 10 Y: 7 N: 7 F: 6 S: 5 H: 3

Tecnología PDA®; estructura de la plantilla D129G 1E4K; -hidrato de carbono; 87 C, 157 C, 158 C flotado

Tabla 19

Posición	Aminoácidos considerados	WT	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
239 A	Todo 20	S	F	Q	E	T	P	P	T	P	P	P
328 A	Todo 20	L	K	R	R	K	K	M	R	K	M	R
332 A	Todo 20	I	L	L	I	I	E	I	E	E	I	I

Tecnología SPA™; estructura de la plantilla D129G 1E4K; + Átomos de hidratos de carbono; 87 C, 157 C, 158 C flotados

Tabla 20

Posición	Aminoácidos considerados	WT	Estado fundamental	Secuencias alrededor del estado fundamental
240 A	Núcleo + Thr	V	V	V: 698 M: 162 T: 140
263 A	Núcleo + Thr	V	V	V: 966 T: 34
266 A	Núcleo + Thr	V	V	V: 983 T: 17
325 A	Límite	N	N	N: 943 T: 40 A: 17
328 A	Límite	L	L	L: 610 M: 363 K: 27
332 A	Glu	I	E	E: 1000

Tecnología PDA®; estructura de la plantilla D129G 1IIS; -hidrato de carbono; 273 A, 275 A, 302 A, 323 A, 134 C flotados

Tabla 21

Posición	Aminoácidos considerados	WT	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
240 A	Todo 20	V	V	A	V	V	V	V	V	V	V	V
263 A	Todo 20	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V
266 A	Todo 20	V	I	V	I	I	T	V	V	V	V	I
325 A	Todo 20	N	A	N	N	N	Q	T	T	Q	N	T
328 A	Todo 20	L	K	K	L	K	L	K	L	L	L	L
332 A	Glu	I	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D

Tecnología SPA™; estructura de la plantilla D129G 1IIS; + Hidrato de carbono; 273 A, 275 A, 302 A, 323 A, 134 C flotados

Tabla 22

Posición	Aminoácidos considerados	WT	Estado fundamental	Secuencias alrededor del estado fundamental
240 B	Núcleo + Thr	V	V	V: 713 T: 287
263 B	Núcleo + Thr	V	V	V: 992 T: 8
266 B	Núcleo + Thr	V	V	V: 976 T: 24
325 B	Límite	N	N	N: 453 T: 296 A: 116 D: 96 S: 30 V: 9
328 B	Límite	L	L	L: 623 M: 194 T: 100 R: 72 K: 11
332 B	Glu	I	E	E: 1000

Tecnología PDA®; estructura de la plantilla D129G 1IIS; -hidrato de carbono; 273 B, 275 B, 302 B, 323 B, 161 C flotados

Tabla 23

Posición	Aminoácidos considerados	WT	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
240 B	Todo 20	V	A	T	A	T	T	A	A	T	T	T
263 B	Todo 20	V	V	A	A	T	T	V	V	T	A	T
266 B	Todo 20	V	V	V	V	V	V	V	V	V	I	V
325 B	Todo 20	N	N	K	K	N	K	K	N	N	N	N
328 B	Todo 20	L	R	L	L	L	L	L	L	L	L	L
332 A	Glu	I	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D

Tecnología SPA™; estructura de la plantilla D129G 1IIS; + Hidrato de carbono; 273 B, 275 B, 302 B, 323 B, 161 C flotados

Tabla 24

Posición	Aminoácidos considerados	WT	Estado fundamental	Secuencias alrededor del estado fundamental
240 B	Núcleo + Thr	V	M	V: 715 M: 271 T: 12 I: 2
263 B	Núcleo + Thr	V	V	V: 992 T: 8
266 B	Núcleo + Thr	V	V	V: 996 T: 4
325 B	Límite	N	N	N: 651 T: 232 D: 64 A: 53
328 B	Límite	L	M	M: 556 L: 407 K: 37
332 B	Glu	I	E	E: 1000

Tecnología PDA®; estructura de la plantilla D129G 1E4K; -hidrato de carbono; 273 B, 275 B, 302 B, 323 B, 131 C flotados

Tabla 25

Posición	Aminoácidos considerados	WT	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
240 B	Todo 20	V	T	A	T	A	A	A	A	T	A	A
263 B	Todo 20	V	T	W	T	T	A	T	T	T	L	L
266 B	Todo 20	V	L	A	T	T	V	L	T	T	L	V
325 B	Todo 20	N	A	N	A	A	N	A	A	A	A	A
328 B	Todo 20	L	L	K	L	L	L	L	L	L	L	L
332 A	Glu	I	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D

Tecnología SPA™; estructura de la plantilla D129G 1E4K; + Hidrato de carbono; 273 B, 275 B, 302 B, 323 B, 131 C flotados

Tabla 26

Posición	Aminoácidos considerados	WT	Estado fundamental	Secuencias alrededor del estado fundamental
240 A	Núcleo + Thr	V	V	V: 876 T: 109 M: 15
263 A	Núcleo + Thr	V	V	V: 913 T: 87
266 A	Núcleo + Thr	V	V	V: 969 T: 31
325 A	Límite	N	V	V: 491 N: 236 T: 187 A: 35 D: 32 S: 19
328 A	Límite	L	L	L: 321 W: 290 H: 271 F: 49 K: 46 R: 23
332 A	Glu	I	E	E: 1000

Tecnología PDA®; estructura de la plantilla D129G 1E4K; -hidrato de carbono; 273 A, 275 A, 302 A, 323 A, 158 C flotados

Tabla 27

Posición	Aminoácidos considerados	WT	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
240 A	Todo 20	V	A	T	A	A	T	T	A	A	A	T
263 A	Todo 20	V	T	T	V	V	T	V	L	L	V	T
266 A	Todo 20	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V
325 A	Todo 20	N	Q	N	Q	Q	Q	Q	Q	Q	N	N
328 A	Todo 20	L	K	M	K	K	K	K	K	K	K	K
332 A	Glu	I	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D

Tecnología SPA™; estructura de la plantilla D129G 1E4K; + Hidrato de carbono; 273 A, 275 A, 302 A, 323 A, 158 C flotados

Los cálculos computacionales de cribado tenían por objeto el diseño de las variantes de Fc para optimizar la conformación de los hidratos de carbono N297 y el dominio Cγ2. Al explorar las sustituciones energéticamente favorables en las posiciones que interactúan con los hidratos de carbono, pueden ser diseñadas variantes que prueban nuevas conformaciones de hidratos de carbono potencialmente favorables. Los residuos de Fc F241, F243, V262, y V264 median la interacción de Fc/hidrato de carbono y por lo tanto son posiciones diana. Los resultados de estos cálculos de diseño se presentan en la Tabla 28.

Tabla 28

Posición	Aminoácidos considerados	WT	Estado fundamental	Secuencias alrededor del estado fundamental
241 A	Núcleo	F	Y	Y: 172 M: 162 L: 144 F: 140 W: 110 I: 97 A: 91 V: 84
243 A	Núcleo	F	Y	Y: 211 L: 204 W: 199 F: 160 M: 141 A: 85
262 A	Núcleo	V	M	M: 302 I: 253 V: 243 A: 202
264 A	Núcleo	V	F	I: 159 M: 152 V: 142 L: 140 W: 136 F: 120 Y: 104 A: 47

Tecnología PDA®, estructura de la plantilla1IIS; -hidrato de carbono

Los cálculos de cribado computacional se orientaron al diseño de variantes de Fc para optimizar el ángulo entre los dominios Cγ3 y Cγ2. Los residuos P244, P245, P247 y W313, que residen en la interfaz Cγ2/Cγ3, parecen jugar un papel clave en la determinación del ángulo Cγ2-Cγ3 y la flexibilidad de los dominios relativos unos respecto a los otros. Al explorar sustituciones energéticamente favorables en estas posiciones, pueden ser diseñadas variantes que prueben nuevos ángulos y niveles de flexibilidad potencialmente favorables. Los resultados de estos cálculos de diseño se presentan en la Tabla 29.

Tabla 29

Posición	Aminoácidos considerados	WT	Estado fundamental	Secuencias alrededor del estado fundamental
244 A	Límite	P	H	K: 164 H: 152 R: 110 M: 100 S: 92 N: 57 A: 54 D: 50 Q: 49 T: 46 E: 37 V: 30 L: 27 W: 23 F: 9
245 A	Límite	P	A	A: 491 S: 378 N: 131
247 A	Límite	P	V	V: 156 T: 125 K: 101 E: 87 Q: 79 R: 78 S: 76 A: 72 D: 72 H: 60 M: 47 N: 47
313 A	Límite	W	W	W: 359 F: 255 Y: 128 M: 114 H: 48 K: 29 T: 24 A: 11 E: 10 V: 10 S: 9 Q: 3

Tecnología PDA®; estructura de la plantilla 1IIS; -hidrato de carbono

Además de los cálculos anteriores utilizando los métodos de cribado computacional PDA® y SPA™, se utilizaron cálculos adicionales utilizando únicamente un potencial electrostático para cribar computacionalmente las variantes de Fc. Los cálculos con la ley de Coulomb y el escalado de Debye-Hückel destacaron una serie de posiciones en el Fc para los que las sustituciones de aminoácidos afectarían favorablemente a la unión a uno o más FcγRs, incluyendo posiciones para las que la sustitución de un aminoácido neutro por un aminoácido cargado negativamente puede mejorar la unión a FcγRIIIa, y para el que la sustitución de un aminoácido cargado positivamente con un aminoácido neutro o cargado negativamente puede potenciar la unión a FcγRIIIa. Estos resultados se presentan en la Tabla 30.

Tabla 30

Reemplazo de un residuo + con un residuo -	Reemplazo de un residuo neutro con un residuo -
H268	S239
K326	Y296
K334	A327
	I332

La ley de Coulomb y la escala de Debye-Hückel; estructura de la plantilla 1IIS; + hidrato de carbono

Se llevaron a cabo cálculos de cribado computacional para optimizar el Fc sin glicosilar; es decir, para optimizar la estructura de Fc, la estabilidad, la solubilidad, y la afinidad de Fc/FcγR en ausencia del hidrato de carbono N297. Los cálculos de diseño se orientaron al diseño de sustituciones favorables en el contexto de la estructura no glicosilada de la plantilla Fc en el residuo 297, los residuos proximales a él, los residuos en la interfaz Fc/FcγR, y los residuos en la interfaz Fc/hidrato de carbono. Se agruparon posiciones variables en diferentes conjuntos de posiciones variables interactuantes y se diseñaron en conjuntos separados de cálculos, y se utilizaron diversas estructuras de plantilla. Para muchos de los conjuntos de posiciones variables, se llevaron a cabo cálculos utilizando los métodos de cribado computacionales PDA® y SPA™. Los resultados de estos cálculos y la información pertinente se presentan en las Tablas 31-53 a continuación.

Tabla 31

Posición	Aminoácidos considerados	WT	Estado fundamental	Secuencias alrededor del estado fundamental
265 A	Límite XM	D	Y	Y: 531 F: 226 W: 105 H: 92 K: 21 D: 16 E: 6 T: 3
297 A	Límite XM	N	D	A: 235 S: 229 D: 166 E: 114 N: 92 Y: 57 F: 55 Q: 25 H: 10 T: 7 K: 6 L: 3 R: 1
299 A	Límite XM	T	L	L: 482 Y: 186 F: 131 T: 55 S: 51 K: 31 H: 22 A: 18 E: 14 Q: 10
297 B	Límite XM	N	I	I: 299 K: 147 V: 85 R: 82 W: 71 N: 65 D: 35 E: 35 Q: 34 S: 32 L: 31 H: 30 T: 28 A: 26

Tecnología PDA®; estructura de la plantilla 1IIS; -hidrato de carbono; 122 C, 129 C, 132 C, 155 C flotados

Tabla 32

Posición	Aminoácidos considerados	WT	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
265 A	Todo 20	D	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
297 A	Todo 20	N	A	T	A	E	K	K	A	A	N	N
299 A	Todo 20	T	S	K	S	K	F	F	F	F	F	S
297 B	Todo 20	N	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K

Tecnología SPA™; estructura de la plantilla 1IIS; -hidrato de carbono; 122 C, 129 C, 132 C, 155 C flotados

Tabla 33

Posición	Aminoácidos considerados	WT	Estado fundamental	Secuencias alrededor del estado fundamental
239 A	Superficie	S	E	E: 928 Q: 65 D: 7
265 A	Límite XM	D	W	W: 709 Y: 248 F: 43
296 A	Superficie	Y	H	H: 449 Y: 146 E: 137 D: 89 K: 64 N: 32 T: 30 R: 25 Q: S 23: 5
297 A	Superficie	N	E	E: 471 H: 189 D: 102 T: 97 K: 96 R: 22 Q: 15 S: 8
298 A	Límite XM	S	R	R: 353 T: 275 K: 269 A: 56 S: 38 E: 5 Q: 2 H: 2
299 A	Límite XM	T	F	Y: 398 F: 366 L: 217 H: 15 K: 4

Tecnología PDA®; estructura de la plantilla D129G 1IIS; -hidrato de carbono; 120 C, 122 C, 128 C, 132 C, 155 C flotados

Tabla 34

Posición	Aminoácidos considerados	WT	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
239 A	Todo 20	S	E	Q	Q	E	Q	Q	Q	Q	Q	Q
265 A	Todo 20	D	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
296 A	Todo 20	Y	D	Q	N	N	Q	N	N	N	Q	N
297 A	Todo 20	N	A	A	N	A	D	D	E	N	N	E
298 A	Todo 20	S	K	K	K	S	K	K	K	K	S	K
299 A	Todo 20	T	S	Y	F	S	Y	F	K	F	S	K

Tecnología SPA™; estructura de la plantilla D129G 1IIS; -hidrato de carbono; 120 C, 122 C, 128 C, 132 C, 155 C flotados

Tabla 35

Posición	Aminoácidos considerados	WT	Estado fundamental	Secuencias alrededor del estado fundamental
239 B	Superficie	S	E	E: 417 T: 122 D: 117 Q: 94 R: 84 S: 63 K: 47 H: 29 N: 19 A: 8
265 B	Límite XM	D	W	W: 865 Y: 79 F: 55 K: 1
296 B	Superficie	Y	Y	Y: 549 H: 97 D: 80 S: 75 N: 48 E: 45 K: 32 R: 30 Q: 28 A: 16
297 B	Superficie	N	R	R: 265 H: 224 E: 157 K: 154 Q: 75 D: 47 T: 34 N: 24 S: 13 A: 7
298 B	Límite XM	S	V	V: 966 D: 10 T: 8 A: 8 N: 4 S: 4
299 B	Límite XM	T	Y	Y: 667 F: 330 H: 3

Tecnología PDA®; estructura de la plantilla D129G 1E4K; -hidrato de carbono; 117 C, 119 C, 125 C, 129 C, 152 C flotados

Tabla 36

Posición	Aminoácidos considerados	WT	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
239 B	Todo 20	S	S	R	E	K	S	S	E	E	E	K
265 B	Todo 20	D	A	D	K	Y	A	A	F	F	K	Y
296 B	Todo 20	Y	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
297 B	Todo 20	N	T	S	T	T	E	E	E	S	E	E
298 B	Todo 20	S	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
299 B	Todo 20	T	L	F	E	E	Y	F	Y	F	Y	Y

Tecnología SPA™; estructura de la plantilla D129G 1E4K; -hidrato de carbono; 117 C, 119 C, 125 C, 129 C, 152 C flotados

Tabla 37

Posición	Aminoácidos considerados	WT	Estado fundamental	Secuencias alrededor del estado fundamental
239 A	Superficie	S	E	E: 868 Q: 92 D: 38 K: 1 N: 1
265 A	Límite XM	D	W	W: 575 Y: 343 F: 66 H: 15 K: 1
296 A	Superficie	Y	H	H: 489 Y: 103 R: 98 K: 97 Q: 64 D: 63 T: 41 N: 38 E: 7
297 A	Asp	N	D	D: 1000
298 A	Límite XM	S	R	R: 340 K: 262 T: 255 A: 59 S: 57 E: 11 Q: 10 H: 6
299 A	Límite XM	T	F	Y: 375 F: 323 L: 260 H: 24 K: 18

Tecnología PDA®; estructura de la plantilla D129G 1IIS; -hidrato de carbono; 120 C, 122 C, 128 C, 132 C, 155 C flotados

Tabla 38

Posición	Aminoácidos considerados	WT	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
239 A	Todo 20	S	E	Q	E	E	E	E	E	E	Q	E
265 A	Todo 20	D	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
296 A	Todo 20	Y	E	N	Q	E	N	Q	Q	Q	Q	N
297 A	Asp	N	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D
298 A	Todo 20	S	K	S	K	S	K	K	K	S	K	K
299 A	Todo 20	T	S	K	Y	S	F	F	F	F	F	K

Tecnología SPA™; estructura de la plantilla D129G 1IIS; -hidrato de carbono; 120 C, 122 C, 128 C, 132 C, 155 C flotados

Tabla 39

Posición	Aminoácidos considerados	WT	Estado fundamental	Secuencias alrededor del estado fundamental
239 B	Superficie	S	E	E: 318 Q: 123 T: 109 D: 108 R: 93 S: 89 K: 69 N: 40 H: 38 A: 13
265 B	Límite XM	D	W	W: 745 Y: 158 F: 85 K: 9 E: 1 R: 1 H: 1
296 B	Superficie	Y	Y	Y: 390 H: 127 S: 83 R: 81 K: 78 N: 65 D: 55 E: 49 Q: 44 A: 26 T: 2
297 B	Asp	N	D	D: 1000
298 B	Límite XM	S	V	V: 890 T: 35 A: 29 D: 19 S: 16 N: 10 E: 1
299 B	Límite XM	T	Y	Y: 627 F: 363 H: 10

Tecnología PDA®; estructura de la plantilla D129G 1E4K; -hidrato de carbono; 117 C, 119 C, 125 C, 129 C, 152 C flotados

Tabla 40

Posición	Aminoácidos considerados	WT	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
239 B	Todo 20	S	K	E	E	Q	E	K	Q	E	K	Q
265 B	Todo 20	D	F	K	K	A	K	Y	W	K	L	F
296 B	Todo 20	Y	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
297 B	Asp	N	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D
298 B	Todo 20	S	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
299 B	Todo 20	T	Y	Y	Y	Y	Y	Y	F	F	Y	Y

Tecnología SPA™; estructura de la plantilla D129G 1E4K; -hidrato de carbono; 117 C, 119 C, 125 C, 129 C, 152 C flotados

Tabla 41

Posición	Aminoácidos considerados	WT	Estado fundamental	Secuencias alrededor del estado fundamental
239 A	Límite XM	S	E	E: 312 L: 148 D: 102 Q: 98 K: 64 I: 61 S: 57 A: 44 T: 39 N: 29 R: 23 V: 18 W: 5
265 A	Límite XM	D	W	W: 363 Y: 352 F: 139 H: 77 K: 39 R: 14 D: 11 E: 4 Q: 1
297 A	Asp	N	D	D: 1000
299 A	Límite XM	T	Y	Y: 309 F: 224 L: 212 H: 96 K: 92 E: 28 Q: R 20: 16 T: 2 S: 1

Tecnología PDA®; estructura de la plantilla D129G 1IIS; -hidrato de carbono; 120 C, 122 C, 132 C, 155 C flotados

Tabla 42

Posición	Aminoácidos considerados	WT	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
239 A	Todo 20	S	E	L	L	L	E	E	E	Q	L	E
265 A	Todo 20	D	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
297 B	Asp	N	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D
299 A	Todo 20	T	S	K	K	F	F	F	K	F	K	F

Tecnología SPA™; estructura de la plantilla D129G 1IIS; -hidrato de carbono; 120 C, 122 C, 132 C, 155 C flotados

Tabla 43

Posición	Aminoácidos considerados	WT	Estado fundamental	Secuencias alrededor del estado fundamental
239 B	Límite XM	S	L	L: 194 T: 122 S: 120 E: 111 D: 79 K: 71 A: 62 Q: 57 R: 43 H: 43 N: 37 I: 24 W: 24 V: 13
265 B	Límite XM	D	W	Y: 248 W: 233 F: 198 K: 84 D: 57 E: 55 H: 42 R: 28 Q: 20 A: 10 T: 10 N: 8 S: 7
297 B	Asp	N	D	D: 1000
299 B	Límite XM	T	Y	Y: 493 F: 380 H: 76 T: 31 E: 10 D: 4 A: 3 S: 3

Tecnología PDA®; estructura de la plantilla D129G 1E4K; -hidrato de carbono; 117 C, 119 C, 129 C, 152 C flotados

Tabla 44

Posición	Aminoácidos considerados	WT	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
239 B	Todo 20	S	R	E	P	L	L	F	P	P	L	L
265 B	Todo 20	D	D	K	S	F	S	Y	A	M	A	D
297 B	Asp	N	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D
299 B	Todo 20	T	Y	Y	Y	Y	E	Y	Y	Y	Y	Y

Tecnología SPA™; estructura de la plantilla D129G 1E4K; -hidrato de carbono; 117 C, 119 C, 129 C, 152 C flotados

Tabla 45

Posición	Aminoácidos considerados	WT	Estado fundamental	Secuencias alrededor del estado fundamental
239 A	Límite XM	S	E	E: 251 L: 125 D: 120 Q: 112 S: 73 K: 65 I: 61 A: 58 T: 45 N: 35 R: 28 V: 23 W: 4
265 A	Límite XM	D	Y	Y: 216 H: 153 K: 135 D: 109 W: 104 F: 86 R: 54 T: 38 E: 29 Q: 22 A: 21 N: 17 S: 13 L: 3
297 A	Asp	N	D	D: 1000

Tecnología PDA®; estructura de la plantilla D129G 1IIS; -hidrato de carbono; 299 A, 120 C, 122 C, 132 C, 155 C flotados

Tabla 46

Posición	Aminoácidos considerados	WT	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
239 A	Todo 20	S	S	L	E	L	Q	Q	E	Q	Q	E
265 A	Todo 20	D	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
297 A	Asp	N	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D

Tecnología SPA™; estructura de la plantilla D129G 1IIS; -hidrato de carbono; 299 A, 120 C, 122 C, 132 C, 155 C flotados

Tabla 47

Posición	Aminoácidos considerados	WT	Estado fundamental	Secuencias alrededor del estado fundamental
239 B	Límite XM	S	L	L: 158 S: 137 T: 125 E: 115 D: 86 K: 75 A: 62 Q: 56 H: 43 R: 39 N: 35 W: 30 I: 24 V: 15
265 B	Límite XM	D	Y	Y: 188 W: 159 F: 156 D: 122 K: 77 E: 71 H: 61 Q: 44 R: 39 S 24:: A 22 N: 19 T: 18
297 B	Asp	N	D	D: 1000

Tecnología PDA®; estructura de la plantilla D129G 1E4K; -hidrato de carbono; 299 B, 117 C, 119 C, 129 C, 152 C flotados

Tabla 48

Posición	Aminoácidos considerados	WT	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
239 B	Todo 20	S	S	E	P	P	E	S	P	L	F	L
265 B	Todo 20	D	A	K	A	M	K	F	Y	D	F	F
297 B	Asp	N	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D

Tecnología SPA™; estructura de la plantilla D129G 1E4K; -hidrato de carbono; 299 B, 117 C, 119 C, 129 C, 152 C flotados

Tabla 49

Posición	Aminoácidos considerados	WT	Estado fundamental	Secuencias alrededor del estado fundamental
297 A	Asp	N	D	D: 1000
299 A	Límite XM	T	Y	T: 123 Y: 64 H: 64 K: 64 Q: 64 F: 64 R: 63 D: 63 E: 63 S: 63 L: 63 N: 62 I: 57 A: 54 V: 52 W: 17

Tecnología PDA®; estructura de la plantilla D129G 1IIS; -hidrato de carbono; 239 A, 265 A, 120 C, 122 C, 132 C, 155 C flotados

Tabla 50

Posición	Aminoácidos considerados	WT	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
297 A	Asp	N	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D
299 A	Todo 20	T	K	K	K	K	F	F	K	K	K	K

Tecnología SPA™; estructura de la plantilla D129G 1IIS; -hidrato de carbono; 239 A, 265 A, 120 C, 122 C, 132 C, 155 C flotados

Tabla 51

Posición	Aminoácidos considerados	WT	Estado fundamental	Secuencias alrededor del estado fundamental
297 B	Asp	N	D	D: 1000
299 B	Límite XM	T	Y	T: 123 F: 64 Y: 64 H: 64 S: 63 N: 61 Q: 61 D: 61 E: 60 K: 58 V: 57 A: 57 R: 54 I: 52 L: 51 W: 50

Tecnología PDA®; estructura de la plantilla D129G 1E4K; -hidrato de carbono; 239 B, 265 B, 117 C, 119 C, 129 C, 152 C flotados

Tabla 52

Posición	Aminoácidos considerados	WT	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
297 B	Asp	N	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D
299 B	Todo 20	T	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y

Tecnología SPA™; estructura de la plantilla D129G 1E4K; -hidrato de carbono; 239 B, 265 B, 117 C, 119 C, 129 C, 152 C flotados

Se llevaron a cabo cálculos de cribado computacionales para optimizar el Fc no glicosilado mediante el diseño de sustituciones favorables en los residuos que están expuestos al disolvente en ausencia de glicosilación tales que son estables, mantienen la estructura Fc, y no tienen tendencia a agregarse. El hidrato de carbono N297 cubre hasta el parche hidrófobo expuesto que normalmente sería la interfaz para una interacción proteína-proteína con otro dominio Ig, manteniendo la estabilidad y la integridad estructural de Fc y manteniendo los dominios Cγ2 de la agregación a través del eje central. Los residuos clave para el diseño son F241, F243, V262 y V264, que se encuentran detrás del hidrato de carbono en Cγ2, además de residuos tales como L328, I332 y I336, que son residuos no polares expuestos hacia adentro hacia el dominio de Cγ2 opuesto, que fueron considerados en los cálculos presentados anteriormente. La importancia de estos residuos Cγ2 es apoyada por la observación de que los residuos correspondientes en el dominio Cγ3 por la alineación de secuencias o bien median en la interacción no polar entre los dos dominios Cγ3 o están enterrados en el núcleo Cγ3. Los resultados de estos cálculos de diseño se presentan en la Tabla 53.

Tabla 53

Posición	Aminoácidos considerados	WT	Estado fundamental	Secuencias alrededor del estado fundamental
241 A	Superficie	F	E	E: 190 R: 172 K: 138 H: 117 T: 93 91 P: D: S 85: 49 N: 49 A: 16
243 A	Superficie	F	R	R: 190 H: 164 Q: 152 E: 149 K: 92 T: 71 D: 64 N: 58 S: 42 A: 18
262 A	Superficie	V	D	D: 416 E: 164 N: 138 Q: 87 T: 83 R: 44 S: 32 K: 24 A: 11 H: 1
264 A	Superficie	V	H	R: 368 H: 196 K: 147 E: 108 Q: 68 T: 34 N: 33 D: 25 S: 15 A: 6

Tecnología PDA®; estructura de la plantilla 1IIS; -hidrato de carbono

En un conjunto final de los cálculos, se aplicó un método de cribado computacional SPA™ para evaluar la sustitución de todas las posiciones variables elegidas con los 20 aminoácidos. Se determinó la conformación del rotámero de menor energía para todos los 20 aminoácidos, y esta energía se definió como la energía de sustitución para ese aminoácido en esa posición variable. Por tanto, estos cálculos proporcionan una energía de sustitución para cada uno de los 20 aminoácidos en cada posición variable. Los cálculos utilizan diversas estructuras de plantilla incluyendo diferentes complejos Fc/FcγRIIIb (1IIS, 1IIX, 1E4K), un complejo Fc/FcγRIIb modelado, y Fc (1DN2) no complejado, y por lo tanto son útiles para una variedad de objetivos de diseño dirigidos tanto a Fc glicosilado como no glicosilado, incluyendo la optimización de la afinidad de Fc/FcγR, la afinidad de C1q, la estabilidad de Fc, la solubilidad de Fc, la conformación del hidrato de carbono, y la conformación de bisagra. Además, debido a que estos cálculos proporcionan energías para sustituciones favorables y desfavorables, estos guían las sustituciones que pueden permitir la unión diferencial a FcγRs activante frente inhibidor. Se utilizaron diversas estructuras de plantilla, y los cálculos exploraron sustituciones en ambas cadenas. Los resultados de estos cálculos y los parámetros pertinentes y la información se presentan en las tablas 54-60 a continuación. La columna 1 indica las posiciones variables en la cadena A y B de la estructura de la plantilla. La columna 2 indica la identidad de aminoácidos naturales en cada posición variable. Las 20 columnas restantes proporcionan la energía para cada uno de los 20 aminoácidos naturales (que se muestran en la fila superior). Todas las sustituciones se normalizaron con respecto a la sustitución de energía más baja, que se establece en 0 de energía. Por ejemplo, en la Tabla 54, para L235 en la cadena A, la serina es la sustitución de energía más baja, y L235A es 0,9 kcal/mol menos estable que L235S. Las energías extremadamente altas se fijaron a 20 kcal/mol para energías entre 20-50 kcal/mol, y 50 kcal/molde para energías mayores que 50 kcal/mol. Pueden ser consideradas sustituciones favorables como la sustitución de energía más baja para cada posición, y las sustituciones que tienen pequeñas diferencias de energía a partir de la sustitución de energía más baja, por ejemplo, sustituciones dentro de 1-2, 1-3, 1-5, 1-10 o kcal/mol.

Tabla 54

Pos	WT	A	C	D	E	F	G	H	I	K	L	M	N	P	Q	R	S	T	V	W	Y
235 A	L	0,9	2,8	2,8	1,5	3,2	3,2	3,4	4,9	1,6	2,1	3,2	0,9	0,3	1,3	0,7	0	1,7	4,3	6,5	3,2
236 A	G	0	1,9	5,1	6,7	10	2,3	4,3	17,2	5,7	20	4,6	3,2	12,6	5,6	6,1	0,6	6,2	12,0	6,7	20
237 A	G	20	20	20	50	50	0	50	50	20	50	20	20	50	50	50	20	20	50	50	50

239 A	S	0,2	4,3	2,6	0	12,8	4,5	6,9	11,3	1,7	0,1	2,1	1,7	7,9	1,2	2,6	0,3	5,7	11,0	20	20
265 A	D	9,0	8,1	6,3	7,8	5,1	0	7,3	50	8,2	9,9	7,7	6,0	50	9,0	8,5	7,8	20	50	20	5,8
267 A	S	2,1	3,3	7,3	1,4	50	7,3	20	20	0,9	2,2	5,0	4,8	0	2,2	3,1	2,9	20	20	50	50
269 A	E	0,5	2,1	1,3	0,6	1,6	3,9	2,0	1,2	1,1	1,3	2,7	0	50	0,6	1,1	0,3	0,8	1,0	5,6	1,2
270 A	D	0,3	2,8	2,3	2,0	4,0	4,0	3,4	2,4	1,2	0	2,3	2,1	20	2,0	2,3	1,4	1,8	4,2	5,4	6,0
296 A	Y	2,7	2,0	1,4	0	50	0	50	4,6	2,1	2,4	3,3	1,2	50	0,2	1,5	1,3	4,6	4,4	16,3	18,2
298 A	S	0,7	2,4	6,7	3,4	20	3,9	20	6,7	0	4,1	1,4	4,1	50	1,8	1,1	0,2	2,2	6,3	17,8	20
299 A	T	0,6	2,8	11,5	10,1	20	6,1	20	10,7	7,1	20	4,3	6,8	50	6,3	12,0	0	3,0	7,1	14,8	20
234 B	L	2,1	3,2	4,1	4,2	1,6	5,3	0,1	0,7	0,6	1,0	2,0	1,7	50	2,8	0,3	2,3	1,7	2,6	13,0	0
235 B	L	0,6	2,3	2,5	0,7	5,4	4,8	1,4	3,6	0,1	0	2,0	1,7	16,6	0,5	1,2	0,7	0,7	5,3	6,8	5,5
236 B	G	3,1	1,3	4,4	8,2	5,2	0	1,9	20	3,1	20	4,1	2,7	50	3,7	16,0	1,2	20	20	20	11,3
237 B	G	20	50	50	50	50	0	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
239 B	S	0,9	2,4	3,4	1,8	5,4	5,6	2,7	3,0	0,9	0	2,0	1,6	50	1,8	1,8	1,4	1,4	5,1	20	5,3
265 B	D	4,5	5,1	4,6	4,6	4,9	0	3,8	9,0	2,0	2,5	4,1	2,1	50	4,5	5,1	4,4	5,9	9,2	11,4	5,8
327 B	A	1,8	3,4	4,7	3,9	20	7,0	20	20	0,8	0	1,9	1,5	20	3,0	2,6	3,2	20	20	20	20
328 B	L	3,7	3,6	4,0	3,7	50	8,4	6,8	50	3,8	0	2,1	4,1	50	3,6	8,1	4,9	3,0	12,5	50	50
329 B	P	3,4	8,6	20	20	50	8,0	16,8	50	20	20	16,9	20	0	20	20	1,3	17,1	16,5	50	50
330 B	A	0,5	2,0	2,6	0,5	2,4	3,8	1,4	4,2	0	2,0	2,2	0,8	20	0,1	0,6	0,9	0,3	5,1	8,0	2,7
332 B	I	1,5	2,7	1,2	1,6	11,9	6,8	12,9	1,2	2,9	0	1,4	1,7	50	1,3	4,9	1,8	1,7	3,0	20	20

Tecnología SPA™; estructura de la plantilla 1IIS; + átomos de hidrato de carbono, las posiciones no flotaban

Tabla 55

Pos	WT	A	C	D	E	F	G	H	I	K	L	M	N	P	Q	R	S	T	V	L	Y
235 A	L	0,9	2,8	2,6	1,7	3,3	3,3	3,4	5,0	1,6	2,1	3,3	1,0	0,3	1,4	1,8	0	1,9	3,6	6,6	3,3
236 A	G	0	1,7	5,2	6,0	11,3	2,3	4,4	17,2	5,8	19,0	4,9	3,3	8,2	5,6	6,0	0,8	5,6	11,8	6,6	20
237 A	G	20	20	20	50	50	0	50	50	20	50	20	20	50	50	50	20	20	50	50	50
238 A	P	8,6	8,0	10,5	13,4	6,4	0	5,0	50	12,4	11,3	9,7	9,3	3,2	12,4	20	8,6	50	50	20	8,4
239 A	S	0,1	4,2	2,5	0	20	4,5	9,0	10,8	1,8	0,2	2,1	1,8	9,1	1,3	2,5	0,3	5,7	10,7	20	19,7
240 A	V	1,3	2,4	2,3	6,3	20	7,2	20	5,1	10,8	6,2	5,7	2,0	1,1	9,5	13,1	2,5	0,5	0	20	20
241 A	F	0,1	1,6	1,2	0,3	0,2	4,1	1,2	10	1,3	0,1	2,1	0,4	14,7	0,5	1,1	0,1	0	8,3	3,6	0,4
242 A	L	3,0	3,4	5,5	8,3	14,4	8,5	11,1	3,3	13,9	2,2	2,7	5,5	0,9	7,9	17,1	3,8	2,3	0	20	17,5
243 A	F	1,6	2,2	2,7	0,2	1,4	5,6	2,5	0	2,2	2,0	3,0	2,3	10,2	0,5	1,6	1,3	0,9	1,2	5,3	1,6
244 A	P	1,2	1,8	3,8	0,8	10,2	3,8	4,6	20	0,2	2,9	2,0	2,8	2,0	0,9	1,7	0	19,3	20	7,6	12,2
245 A	P	3,9	20	20	20	20	9,1	20	20	20	20	20	20	0	20	20	8,0	20	50	20	20
246 A	K	1,3	2,7	2,0	2,0	2,9	5,7	2,9	1,4	1,4	1,5	3,1	0,2	0	1,2	1,5	1,7	1,4	1,2	5,4	3,0

247 A	P	1,2	2,1	0,3	0,7	4,0	3,9	3,7	1,8	1,6	1,7	3,3	0	0,5	0,9	1,5	0,7	1,1	1,3	6,9	3,7
248 A	K	0,9	2,7	1,5	0,8	3,1	4,7	3,4	3,3	2,0	1,9	2,6	1,2	3,6	1,5	2,3	0,7	0	2,5	5,6	2,7
249 A	D	1,2	3,7	1,6	0	20	7,3	19,7	50	1,7	20	2,2	1,4	20	1,5	3,4	2,5	18,3	50	20	20
250 A	T	0	1,8	3,8	5,8	50	6,0	20	4,5	6,3	6,3	0,3	3,2	50	8,7	9,3	1,8	1,3	1,9	20	50
251 A	L	1,1	1,9	1,2	0,5	5,8	5,1	1,9	5,6	0,9	0,7	2,4	1,4	50	0	1,4	0,5	0,8	6,9	8,9	5,8
252 A	M	0,3	1,2	0,6	0	3,0	3,8	3,4	3,9	1,0	0,3	2,2	0,3	17,4	0,1	1,1	0,1	0,2	4,6	4,2	3,3
253 A	I	0,7	1,7	1,1	0,2	1,8	3,5	2,2	2,0	0,3	1,2	0,8	0,8	0,3	0	1,1	0,3	0,5	2,8	2,4	1,9
254 A	S	0,7	1,7	0,4	0,7	2,2	3,6	2,0	0,3	1,2	1,9	2,4	0	20	0,3	1,2	0,3	0,8	0,7	3,8	1,9
255 A	R	1,4	2,8	2,4	2,5	0,2	5,4	1,1	17,0	1,0	2,2	1,5	1,7	50	2,1	0	2,3	50	17,2	4,0	0,5
256 A	T	0,6	1,8	1,2	1,1	2,7	3,4	2,1	1,4	0,7	1,5	2,4	0	0,4	0,1	0,2	0,4	0,9	1,2	5,6	2,7
257 A	P	0	7,8	20	12,9	50	6,2	50	20	12,3	12,8	14,4	20	0,1	13,1	20	2,9	16,0	20	50	50
258 A	E	0	1,6	4,8	2,6	1,0	4,3	2,2	14,8	4,4	6,2	3,2	2,9	10,4	7,4	6,0	1,0	6,2	17,6	20	1,0
259 A	V	3,9	4,3	5,1	8,7	20	10,3	6,8	2,3	9,6	2,8	6,2	4,1	50	9,2	20	5,2	2,1	0	20	20
260 A	T	1,7	2,3	3,3	1,1	20	6,6	8,6	0	0,2	1,8	2,8	1,8	1,1	0,8	0,9	1,7	0,4	1,9	7,1	20
261 A	C	0	20	20	20	20	3,9	20	20	20	20	20	20	50	20	20	3,6	20	20	20	20
262 A	V	1,9	3,2	0	3,3	20	7,2	20	8,3	2,9	2,9	2,2	0,6	50	3,8	5,2	3,4	3,0	1,7	20	20
263 A	V	2,2	2,7	6,0	17,4	20	8,8	20	10	7,1	7,6	16,9	5,2	50	19,8	17,7	2,8	1,4	0	20	20
264 A	V	1,9	3,3	2,8	2,2	0	6,4	2,1	0,7	2,6	0,9	2,7	2,1	2,3	2,6	2,7	2,2	1,1	0,6	3,9	0,1
265 A	D	9,0	8,1	5,9	8,6	5,3	0	7,3	50	7,9	9,7	7,5	5,5	50	10,2	8,6	7,9	20	50	20	5,7
266 A	V	4,9	5,3	7,1	12,1	20	11,2	20	0,4	12,2	20	8,8	7,1	50	12,2	20	6,1	3,8	0	20	20
267 A	S	2,3	3,5	7,2	1,3	50	7,4	20	20	0,7	1,4	3,9	4,7	0	2,3	3,1	3,0	20	20	50	50
268 A	H	1,2	1,9	2,2	1,5	3,7	5,0	4,9	0,4	0,5	3,7	2,7	1,7	0	1,4	1,7	1,1	0,2	0,9	6,1	3,7
269 A	E	0,3	1,9	1,3	0,5	1,3	3,7	1,9	1,1	0,8	1,2	2,5	0	50	0,6	0,8	0,2	0,6	0,7	4,0	1,0
270 A	D	0,2	2,6	2,1	1,9	5,2	3,9	3,1	2,1	1,2	0	2,2	1,9	20	1,9	1,8	1,2	1,7	4,1	5,1	7,0
271 A	P	0	5,3	8,1	9,3	20	3,1	9,1	20	6,0	9,5	5,3	7,3	5,9	5,9	5,9	1,6	4,1	15,2	20	20
272 A	Q	0,8	1,9	0,9	1,2	3,0	3,2	3,7	3,7	1,6	1,8	3,2	0,3	50	1,1	1,6	0	1,0	3,5	4,0	3,4
273 A	V	1,2	2,9	1,8	20	20	7,1	20	6,8	20	20	20	0	2,8	20	20	2,1	1,4	1,7	20	20
274 A	K	0,4	1,8	1,4	0,8	1,9	3,9	2,4	1,4	0,7	1,1	2,9	0,9	20	0	0,1	0	0,4	0,7	3,3	2,3
275 A	F	8,0	9,5	10,3	9,5	0	13,5	5,1	10,1	6,2	6,3	6,0	9,1	6,1	9,1	15,1	9,6	7,2	6,1	13,5	4,3
276 A	N	1,3	2,4	2,4	2,2	0,8	5,1	0,8	1,2	0,6	2,3	2,5	1,8	50	1,6	2,5	1,2	0	0,3	4,2	3,6
277 A	W	5,5	7,4	8,4	6,4	15,4	11,2	3,2	8,2	1,9	3,9	3,6	6,6	3,5	5,5	15,4	6,9	6,1	14,1	0	20
278 A	Y	1,6	2,7	3,9	1,6	1,0	7,3	3,4	17,7	1,4	7,5	2,1	0	50	1,9	2,2	2,6	9,9	20	15,8	1,4
279 A	V	3,1	4,1	4,0	2,2	20	8,1	9,7	8,5	0	1,4	3,1	3,3	20	1,9	4,6	4,3	3,4	4,2	20	20
280 A	D	1,8	2,6	2,7	0,2	11,5	2,9	8,8	20	3,4	3,2	2,8	3,8	50	0	3,7	0,6	6,8	12,7	11,9	11,4
281 A	G	50	50	50	50	50	0	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50

282 A	V	0,9	2,1	1,6	1,1	2,9	4,2	3,5	1,4	1,5	1,8	3,6	0,4	18,9	0,5	1,0	0	0,6	0,9	4,7	3,1
283 A	E	0,7	1,6	0,7	0,5	1,0	4,4	1,4	0,4	1,2	1,8	1,9	0	0,4	0,6	1,5	0,4	0,3	1,2	4,1	0,9
284 A	V	0	2,2	3,1	1,2	20	5,0	20	4,0	0,7	2,6	0,8	2,6	50	0,8	0,7	0,8	0,1	1,5	20	20
285 A	H	0,2	1,4	3,1	1,3	3,0	2,0	2,4	3,6	1,1	2,6	3,0	0,7	2,2	0,2	0,8	0	1,1	4,7	4,9	4,0
286 A	N	0,8	2,5	1,2	1,1	2,4	4,7	2,7	2,1	0	0,7	1,8	0,6	20	1,2	0,7	0,9	1,7	2,1	5,2	2,7
287 A	A	0,6	2,6	5,8	3,3	10,4	5,4	9,1	11,3	0	4,4	1,3	3,6	50	2,6	2,3	1,0	1,9	12,5	9,1	10,4
288 A	K	0,8	2,6	2,0	1,3	3,0	3,4	3,8	2,3	1,4	1,7	2,5	0,3	50	0,5	1,3	0	0,4	2,0	4,5	3,6
289 A	T	0,3	1,9	4,7	1,1	3,1	3,6	2,9	10,5	0,4	2,7	1,6	2,1	8,2	1,2	2,0	0	0,4	12,0	3,9	3,2
290 A	K	1,7	2,2	0,5	0,6	3,0	1,3	3,0	3,7	1,7	2,1	3,2	0	50	0,7	2,0	0,3	1,3	3,3	5,6	3,3
291 A	P	1,6	3,1	1,8	0,5	1,9	5,5	1,8	0,1	0,5	1,5	1,2	1,2	0,7	0	2,9	2,2	0,9	1,3	2,6	0,9
292 A	R	1,1	2,2	3,1	0,8	5,9	4,4	8,0	5,0	0	1,6	2,1	1,1	8,4	0,2	0,4	1,0	1,3	4,7	8,3	5,7
293 A	E	2,2	6,5	9,0	17,9	16,3	0	13,2	50	12,8	10,3	10,3	7,2	5,5	15,1	14,5	3,5	20	50	14,5	17,1
294 A	E	1,5	2,1	2,1	0,7	8,1	2,8	3,3	2,0	2,6	1,8	2,8	1,0	50	1,3	1,3	0,5	0	3,4	11,2	10,2
295 A	Q	50	50	50	50	50	0	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
296 A	Y	2,8	2,3	1,1	0,4	50	0	50	4,6	2,2	2,3	3,1	0,9	50	0,2	1,8	1,3	4,7	4,8	18,2	20
297 A	N	0	6,5	8,4	5,3	20	3,4	20	13,8	2,7	20	4,8	9,3	50	4,4	4,4	1,5	1,6	15,5	20	20
298 A	S	0,8	2,4	5,7	2,2	20	3,7	20	6,2	0,9	9,2	1,8	3,3	50	1,7	2,1	0	2,2	7,3	15,6	20
299 A	T	1,9	3,4	6,0	3,1	1,0	7,1	2,9	3,1	0	2,7	2,6	3,6	50	2,2	2,5	1,1	2,2	5,4	3,6	1,4
300 A	Y	2,8	2,9	2,7	4,5	20	4,0	7,5	13,1	1,2	0	2,2	2,3	50	3,3	4,0	2,6	1,1	1,1	11,0	2,4
301 A	R	3,0	3,5	3,8	2,8	0,8	3,4	1,8	0	1,3	0,7	2,6	2,5	50	2,6	2,3	2,9	1,8	0,9	9,8	1,8
302 A	V	2,7	4,6	6,7	3,9	2,8	8,9	1,2	6,9	2,7	2,0	2,2	4,8	50	4,7	3,2	4,3	7,7	3,8	0	8,4
303 A	V	0	2,2	3,3	1,0	6,7	4,5	5,3	1,4	2,5	3,1	2,0	3,1	1,0	2,1	2,9	0,4	0,4	2,9	10,9	6,2
304 A	S	0	12,1	10,8	20	20	6,2	20	20	17,2	20	11,9	16,6	50	20	16,6	2,2	14,2	17,9	20	20
305 A	V	1,1	2,3	3,3	1,2	0,3	5,4	1,2	0	0,9	1,1	2,8	1,1	3,9	1,1	1,4	1,2	0,9	0	0,8	0,8
306 A	L	4,3	6,2	7,1	5,9	2,8	10,4	3,4	13,7	3,0	0	3,5	6,0	50	5,9	9,9	6,2	5,3	11,4	9,6	10,3
307 A	T	1,4	3,2	3,8	2,2	6,5	5,5	4,2	0,5	0,3	4,2	3,0	2,2	0	1,9	1,3	1,4	0,9	1,2	6,2	6,5
308 A	V	1,8	5,5	6,5	8,0	50	7,9	20	4,5	20	5,5	19,4	7,6	50	7,7	15,5	0	0,7	5,9	50	50
309 A	L	1,1	2,7	0,7	0,7	1,3	4,6	2,7	0,7	1,7	1,0	2,8	0	1,6	0,7	1,3	1,0	0,6	0,5	5,0	2,1
310 A	H	2,0	2,6	0,9	4,1	50	5,6	0,2	6,8	4,0	7,1	4,0	0	0,2	4,9	10	2,0	2,5	6,4	50	50
311 A	Q	0,6	2,5	1,6	1,6	2,5	4,3	1,6	1,4	0,6	0,9	2,9	0,9	1,7	0,8	0,9	0	0,3	2,2	4,6	2,0
312 A	N	5,4	5,1	5,9	1,3	20	0	20	10	3,4	4,8	3,3	7,1	50	2,7	3,9	4,1	3,2	11,9	20	20
313 A	W	4,6	6,4	5,5	5,6	1,1	10,8	5,0	11,0	5,8	5,2	7,6	5,4	50	4,8	12,9	6,0	3,8	6,6	0	2,6
314 A	L	2,1	2,9	4,3	2,2	5,7	6,1	7,9	5,4	0,7	0	1,7	2,3	50	1,6	1,6	3,0	4,7	6,3	8,0	6,0
315 A	D	0,3	1,4	1,5	0,1	3,3	4,2	1,9	1,8	0,8	0,5	1,8	0,6	50	0	0,7	0	0,9	2,4	6,2	3,7
316 A	G	50	50	50	50	50	0	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50

317 A	K	0	14,0	18,4	17,9	50	5,0	50	20	8,5	12,5	12,7	20	15,9	17,2	13,5	2,8	9,2	20	50	50
318 A	E	2,0	3,0	2,7	1,7	2,7	6,7	2,6	0	1,1	1,6	1,3	1,7	20	1,4	2,6	2,2	1,3	0	6,1	9,5
319 A	Y	2,9	4,4	3,9	3,4	0	8,8	1,8	20	0,5	5,2	0,7	3,2	50	3,1	5,6	3,4	3,6	20	20	0,2
320 A	K	2,3	3,1	3,0	2,7	20	7,8	20	9,4	0	0,6	2,7	1,3	50	2,4	1,9	3,3	3,3	7,2	20	20
321 A	C	0	3,2	20	18,8	20	6,9	20	20	20	20	10,4	20	50	19,6	20	1,5	8,7	18,3	20	20
322 A	K	2,0	2,5	3,5	2,8	2,7	6,4	2,1	0,2	0,1	1,2	2,7	2,7	50	2,1	0	2,3	1,6	0,9	14,5	2,8
323 A	V	1,5	2,8	7,3	11,9	20	8,1	20	6,0	9,6	20	4,9	8,5	50	13,6	20	2,8	1,6	0	20	20
324 A	S	2,0	2,1	0,6	0	1,9	4,9	3,9	1,5	2,8	0,7	1,9	0,9	50	0,8	2,9	2,7	1,9	2,1	3,8	2,5
325 A	N	2,8	3,9	8,4	3,0	20	8,3	20	0	7,7	20	6,2	1,6	13,4	0,5	20	3,1	0,1	1,3	20	20
326 A	K	1,0	2,7	3,0	1,6	3,7	4,1	3,1	3,2	1,7	2,4	3,7	1,2	0	0,6	1,4	1,0	1,9	2,6	5,6	3,6
327 A	A	0,9	2,8	5,8	3,1	20	6,3	16,7	14,7	2,8	20	2,5	5,3	20	1,3	4,1	0	5,2	13,7	20	20
328 A	L	6,0	6,3	7,0	4,1	50	8,6	20	50	5,7	0	7,1	6,0	50	3,7	8,2	6,6	50	50	20	50
329 A	P	1,0	2,5	0,9	0,6	4,0	3,4	3,3	1,7	1,9	2,5	3,6	0	0,3	0,7	1,5	0,1	1,1	1,1	6,2	3,6
330 A	A	0,9	2,0	1,3	0,7	3,4	3,8	3,0	2,0	1,4	2,0	3,4	0	20	0,6	1,2	0,2	0,6	1,9	7,0	3,4
331 A	P	50	50	50	50	50	0	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
332 A	I	1,9	3,7	4,6	1,7	5,0	7,0	1,9	3,8	1,8	0	2,5	3,9	20	0,8	2,4	2,3	2,6	4,4	20	5,9
333 A	E	0	3,1	3,2	0,8	4,1	4,4	4,2	16,9	3,6	2,8	2,8	2,5	1,6	1,3	3,2	1,3	1,4	7,7	4,0	4,8
334 A	K	1,7	2,9	2,5	0	1,0	6,1	3,3	1,0	1,5	0,5	3,5	1,5	4,4	0,1	2,7	2,2	0,9	1,3	4,9	1,8
335 A	T	0,5	3,2	4,5	2,7	4,2	4,9	4,1	20	2,1	3,1	3,0	1,2	0	2,3	2,8	1,4	1,4	7,3	5,1	4,5
336 A	I	1,2	1,6	5,0	1,5	20	6,1	16,8	0,7	3,4	7,8	2,5	3,2	20	2,8	1,4	0,7	0,6	0	20	20
337 A	S	4,8	4,8	7,5	11,5	10,1	0	5,5	50	9,9	7,0	7,9	5,0	50	11,4	12,7	4,5	2,3	50	19,3	10,6
338 A	K	1,0	2,7	2,3	2,2	4,6	5,9	2,4	50	0	2,1	1,9	1,0	50	1,5	0,9	0,7	10,3	50	5,4	4,9
339 A	A	1,0	2,5	0,8	1,1	4,4	3,7	3,7	2,1	1,8	2,6	3,6	0	0,8	0,6	1,6	0,6	0,9	2,4	6,8	3,8
340 A	K	1,3	2,4	2,3	2,0	1,7	4,1	2,3	1,9	0	2,3	1,8	1,0	1,9	0,9	1,3	0,5	0,8	1,7	4,9	2,4
232 B	P	1,3	3,2	2,2	2,2	4,1	2,9	3,6	1,8	2,1	2,8	3,9	1,1	0	1,1	1,6	0,7	1,4	3,0	6,2	4,1
233 B	E	0,5	2,2	1,7	0,5	2,6	3,7	2,9	4,4	1,4	1,1	3,2	0,6	2,7	0,4	1,6	0	1,2	6,9	5,5	2,6
234 B	L	2,9	4,0	4,8	4,9	2,0	6,1	0,8	1,5	0	1,9	2,7	2,6	20	3,6	1,2	3,1	2,5	3,4	13,4	0,5
235 B	L	0,6	2,3	2,4	0,9	5,7	4,9	1,4	3,7	0	0	1,9	1,9	17,3	0,6	1,4	0,8	0,7	5,2	7,8	5,3
236 B	G	3,6	2,5	5,1	11,8	6,8	0	2,8	20	5,0	20	4,5	3,5	50	5,5	19,9	2,6	20	20	20	14,1
237 B	G	20	50	50	50	50	0	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
238 B	P	3,5	4,7	8,5	4,2	20	9,8	20	0	5,6	9,6	4,6	8,1	1,3	5,8	20	4,9	4,4	1,3	20	20
239 B	S	1,0	2,5	3,4	2,0	7,2	5,7	3,1	3,1	0,6	0	2,0	1,9	50	1,7	1,1	1,5	1,5	5,2	20	5,2
240 B	V	0,1	2,3	7,0	11,9	20	6,5	20	8,1	12,7	20	12,0	7,6	0	11,6	20	1,2	1,9	0,8	20	20
241 B	F	0	2,0	1,4	0,8	1,0	4,0	2,0	6,5	1,1	0,6	2,3	0,2	50	0,3	1,5	0,1	0,9	5,7	4,1	1,1
242 B	L	2,2	3,3	6,5	6,6	6,9	7,9	4,3	0	8,7	3,9	4,8	5,3	0	9,1	6,8	2,9	1,1	0,5	20	8,7

243 B	F	0,8	2,6	1,9	1,7	0,8	4,9	2,0	3,6	1,2	0,8	2,5	0	50	1,6	2,7	0,1	1,8	3,9	4,3	1,0
244 B	P	1,1	2,1	4,0	1,1	11,9	3,5	5,4	20	1,4	3,2	3,0	2,0	1,8	1,2	1,3	0	19,6	20	9,1	11,0
245 B	P	3,2	20	20	20	20	8,6	20	20	20	20	20	20	0	20	20	6,0	20	50	20	20
246 B	K	0,5	2,6	1,4	1,2	2,1	4,4	1,6	0,6	0,9	1,4	2,5	0,2	0,3	0,2	0,3	0,1	0	2,0	4,9	2,4
247 B	P	0,8	2,5	0,7	1,0	3,6	3,9	2,6	6,2	1,8	2,1	2,9	0,3	0	0,8	1,5	0,3	0,7	9,5	6,6	3,4
248 B	K	0,2	2,2	0,2	0,6	2,2	4,1	2,5	2,4	1,7	1,0	2,2	0	1,3	0,8	1,7	0,5	0,7	2,8	4,7	2,3
249 B	D	2,8	3,3	0	4,6	10,1	8,2	6,5	50	4,6	6,2	4,4	0,5	50	4,7	6,3	3,5	6,1	50	20	7,2
250 B	T	0	2,2	4,9	2,8	20	6,3	20	2,2	4,3	3,2	3,0	9,2	50	3,4	4,9	1,3	2,3	3,1	20	20
251 B	L	0	2,4	1,6	1,2	5,6	3,6	2,2	7,4	12	0,6	2,3	0,5	50	0,6	1,8	0,4	2,5	8,7	8,2	5,9
252 B	M	1,3	2,4	0,8	0	1,8	5,7	2,3	0,6	1,6	0,6	2,5	1,0	50	1,0	1,6	1,5	1,3	0,8	5,1	1,6
253 B	I	1,6	3,0	2,0	1,2	3,7	4,5	3,5	2,9	0,8	2,4	2,4	1,1	1,0	0	1,5	1,2	1,4	3,4	4,4	3,6
254 B	S	1,0	1,5	0,8	0,6	3,8	3,8	3,2	0,5	1,9	2,5	3,1	0,3	6,2	0,5	1,7	0	0,1	1,1	5,5	3,7
255 B	R	0,9	2,0	2,0	1,7	0	5,4	1,4	20	1,0	1,6	1,3	0,8	50	1,4	1,1	1,5	20	20	3,7	0,8
256 B	T	0,6	2,0	1,8	1,1	2,5	3,7	1,9	1,6	1,0	1,4	2,2	0	1,2	0,5	0,1	0,8	1,2	1,2	5,5	2,4
257 B	P	2,5	20	20	20	50	9,0	50	20	20	20	20	20	0	20	20	4,8	20	20	50	50
258 B	E	1,5	2,4	2,7	1,4	2,7	6,4	4,2	0	0,2	5,4	2,4	1,1	50	1,3	2,5	2,2	1,1	1,0	19,1	3,0
259 B	V	2,9	4,2	6,3	5,2	20	9,3	20	0	8,1	8,9	5,5	5,6	50	6,2	20	4,5	2,5	0	20	20
260 B	T	0	1,6	5,3	1,9	20	4,9	20	0,6	1,1	2,8	1,4	3,9	0,2	2,3	2,6	0,4	0,1	2,7	20	20
261 B	C	0	10	20	20	20	2,6	20	20	20	20	20	20	20	20	20	2,0	16,6	20	20	20
262 B	V	2,1	2,4	2,7	2,4	8,1	7,2	3,8	1,8	3,5	8,6	3,4	2,7	50	3,2	4,8	2,9	1,9	0	14,7	9,1
263 B	V	2,2	3,7	4,7	11,2	20	9,1	20	15,0	13,7	2,8	20	5,4	50	13,0	20	3,6	2,1	0	20	20
264 B	V	2,1	3,0	4,6	2,7	8,6	6,8	6,6	0	1,8	1,8	3,7	3,6	10,1	3,0	2,2	2,6	2,2	1,0	12,7	20
265 B	D	4,5	5,2	4,8	4,7	5,0	0	3,8	8,5	1,8	2,6	4,1	1,8	50	4,5	5,3	4,5	6,0	9,2	12,2	5,6
266 B	V	5,3	5,5	7,2	12,7	20	12,0	20	2,1	20	20	20	5,7	50	18,3	20	5,9	4,7	0	50	50
267 B	S	2,8	4,3	6,2	3,8	0	7,4	1,0	50	1,0	0,3	3,2	3,2	0,5	1,5	0,8	3,3	11,6	50	6,3	50
268 B	H	2,6	3,7	5,1	4,1	4,9	6,0	1,8	2,6	0	2,5	3,8	2,6	3,4	2,1	1,8	2,5	3,8	2,7	7,8	5,5
269 B	E	0,4	2,4	1,7	0,8	2,8	3,7	2,6	1,0	1,0	1,6	3,0	0	12,8	0,5	0,7	0,3	0,7	0,6	5,1	2,7
270 B	D	0	1,6	1,1	7,3	4,8	4,3	2,6	20	3,8	14,5	3,8	1,2	5,9	6,3	2,1	0,3	1,9	5,4	16,3	5,6
271 B	P	1,1	3,3	5,6	3,4	4,1	5,5	4,2	20	1,9	3,6	3,9	3,3	7,4	2,7	0	1,5	2,2	5,2	4,8	4,4
272 B	Q	0,9	1,9	1,0	0,6	3,0	3,9	2,9	1,5	1,7	2,2	3,5	0,6	4,9	0	1,4	0,2	0,6	1,4	3,9	3,2
273 B	V	3,5	4,8	6,2	8,3	20	9,2	20	4,6	8,4	3,1	3,5	7,4	50	10,6	20	2,0	0	4,8	20	20
274 B	K	0,1	1,6	0,4	0,9	1,7	3,8	1,8	1,9	0,4	0,5	2,4	0,3	15,6	0,1	0	0	0,2	1,6	2,2	1,9
275 B	F	5,7	7,0	8,4	9,2	0	11,2	3,5	9,2	7,9	5,7	5,1	7,0	4,1	9,7	12,3	6,9	4,5	3,3	10,3	5,0
276 B	N	0	6,2	6,9	6,4	20	4,7	12,1	20	9,3	10	7,4	3,8	50	6,4	9,2	2,8	20	20	20	20
277 B	W	8,3	10	10,6	9,2	2,6	14,2	7,4	12,7	6,7	7,4	6,4	10,8	6,8	9,3	11,9	9,7	8,0	14,4	0	15,9

278 B	Y	0	2,3	17,4	4,0	50	5,1	50	20	2,8	20	2,1	12,6	11,0	4,4	2,0	0,8	2,5	19,8	20	4,2
279 B	V	3,1	3,5	4,2	2,9	20	8,5	13,9	0,4	0	2,9	2,0	3,4	20	1,4	4,0	4,2	2,4	1,2	20	20
280 B	D	0,5	3,0	2,1	1,5	6,7	3,1	4,7	12,6	2,9	1,6	2,9	1,6	20	1,4	3,1	0	2,7	5,5	8,1	7,3
281 B	G	5,6	5,8	5,5	4,8	7,9	0	7,2	6,5	5,3	5,7	7,1	3,4	50	4,0	5,3	3,6	3,2	6,4	10,3	7,6
282 B	V	0,4	1,9	1,1	0,6	2,9	4,1	2,1	1,3	1,0	1,4	2,9	0,2	50	0	0,7	0	0,4	0,7	6,1	2,8
283 B	E	0,6	1,9	4,3	1,7	6,7	4,2	5,2	2,9	0,5	4,4	0,3	2,5	0	1,5	1,6	1,0	1,5	3,9	7,9	6,7
284 B	V	0,4	2,4	2,5	1,1	20	5,9	20	1,1	1,2	6,2	0,8	2,4	50	1,5	3,3	0	1,5	1,8	20	20
285 B	H	1,3	2,4	2,1	1,7	2,4	3,4	1,2	1,8	0,7	2,3	2,7	0	1,6	0,9	0,8	0,5	0,4	2,0	5,8	2,4
286 B	N	1,2	2,7	1,0	1,1	3,0	3,1	2,6	0,8	2,0	1,9	2,9	0	50	0,4	1,6	1,1	0,5	2,9	4,9	3,0
287 B	A	2,5	4,4	6,1	7,5	0	8,2	3,0	10,2	5,1	16,5	4,5	0,3	12,3	8,1	9,1	4,1	3,3	7,1	3,4	0,8
288 B	K	0,4	1,9	1,9	0	2,9	3,5	2,9	2,5	1,8	2,1	2,5	0,9	15,4	0,6	1,1	0,2	0,9	3,8	5,9	2,7
289 B	T	0,1	1,5	3,7	1,4	2,7	3,9	2,6	1,8	0	2,2	1,6	1,5	1,8	1,1	1,7	0	0,4	2,3	3,4	2,5
290 B	K	0,9	1,8	0,8	0,5	2,4	0,8	2,7	3,0	1,3	1,3	2,6	0,2	50	0,7	1,5	0	0,6	2,9	5,0	2,7
291 B	P	1,2	2,1	2,5	0,5	3,9	4,6	3,4	0,7	0	3,4	1,5	1,1	0,6	0,1	1,1	1,1	0,9	1,5	3,2	2,6
292 B	R	0,8	2,6	3,3	1,2	4,9	3,6	6,8	3,1	2,0	2,4	2,2	2,2	16,6	1,5	1,8	0,1	0	3,2	7,6	5,2
293 B	E	0	3,0	4,1	2,8	7,3	3,6	5,8	5,8	2,6	4,5	3,2	2,2	1,3	2,2	2,5	0	1,2	7,8	7,0	6,9
294 B	E	2,5	3,3	3,9	2,3	8,3	6,8	4,4	5,6	3,6	2,3	3,7	4,1	0	3,3	5,0	2,1	2,9	5,0	6,7	11,9
295 B	Q	1,1	2,2	1,9	0,6	3,8	2,8	3,1	8,0	1,4	2,2	3,4	1,0	0,4	0,4	1,1	0	3,9	6,6	6,1	3,5
296 B	Y	1,5	2,7	1,2	1,2	4,1	4,1	3,5	1,1	1,8	2,7	3,5	0	20	0,6	1,9	1,2	1,4	1,3	6,4	4,0
297 B	N	3,9	4,5	10,1	6,0	15,5	7,3	16,7	6,6	0	5,1	4,6	7,3	20	4,4	4,2	3,6	4,1	7,9	18,0	15,0
298 B	S	1,7	2,5	3,5	2,5	2,5	3,7	2,4	3,0	0	1,8	2,3	0,4	50	1,2	1,0	0,9	2,2	3,3	5,5	2,0
299 B	T	0	2,7	7,2	11,1	20	4,8	20	7,5	6,9	20	7,1	4,8	50	9,8	17,9	0,3	1,3	5,8	20	20
300 B	Y	3,8	5,2	8,0	4,3	20	8,6	20	12,2	0	4,3	3,2	6,5	50	4,0	3,8	4,3	3,6	9,1	20	6,4
301 B	R	1,2	1,8	2,3	1,1	20	5,8	11,3	5,2	0,3	5,0	2,0	1,6	14,1	0,6	0,4	1,8	1,1	0	17,9	20
302 B	V	3,5	4,8	5,5	3,7	0,2	9,6	1,1	0,5	2,6	3,5	2,5	4,7	9,6	4,1	0,6	4,3	2,0	0	20	0,2
303 B	V	0,2	0	0,1	1,0	20	5,0	13,3	5,1	1,7	10,4	1,9	2,0	8,6	2,0	4,7	0,6	0,5	1,3	20	20
304 B	S	1,5	2,3	8,2	20	20	7,6	20	7,6	20	20	20	6,3	50	20	20	0	2,7	3,8	20	20
305 B	V	0,1	1,2	3,3	1,1	20	4,6	20	3,2	1,1	11,0	1,5	1,8	50	0,6	2,0	0,6	0	0,7	20	20
306 B	L	4,7	6,8	6,3	4,3	10,4	11,1	7,8	4,2	3,0	0	3,8	5,7	13,4	4,4	14,1	5,5	4,3	6,0	20	12,1
307 B	T	1,5	3,0	2,7	1,7	4,1	5,2	3,0	1,6	1,9	3,1	3,4	1,7	0	1,7	1,9	1,5	1,4	2,0	4,4	4,3
308 B	V	0	0,6	7,6	20	20	6,6	20	20	16,1	15,1	20	12,4	50	20	20	1,2	3,6	4,3	20	20
309 B	L	1,4	3,0	2,2	1,1	3,0	6,0	3,5	20	2,4	1,7	3,6	0,2	0	1,6	2,3	1,8	14,3	20	5,1	3,3
310 B	H	2,4	2,9	2,7	4,9	20	6,8	4,4	4,8	3,1	15,0	3,4	0	2,3	4,6	7,0	1,8	1,6	3,8	20	20
311 B	Q	0	2,2	1,3	0,7	2,1	3,3	2,4	12,6	0,6	0,9	2,3	0,6	3,2	0,4	0,8	0,2	1,6	18,8	4,6	2,0
312 B	N	0	1,0	0,2	0,3	6,0	5,4	2,3	12,0	2,1	2,9	1,6	0,9	50	1,3	5,7	0,1	5,6	3,8	8,0	7,8

313 B	W	5,3	6,6	7,3	5,4	0	11,4	6,2	20	4,0	5,2	4,3	8,0	50	6,5	8,9	6,6	17,2	20	2,1	0,9
314 B	L	1,7	2,2	3,1	0	6,4	5,6	1,5	2,1	0,6	0,2	1,1	1,9	50	0,8	1,0	1,7	0,9	3,1	3,7	11,3
315 B	D	1,4	2,3	2,4	0,7	6,0	5,5	2,3	4,8	2,2	1,0	2,9	1,8	50	1,0	2,2	0,2	0	4,5	8,5	6,8
316 B	G	50	50	50	50	50	0	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
317 B	K	0,9	2,3	4,3	2,8	1,2	4,0	0,6	13,9	0	4,8	1,6	1,3	50	4,2	0,9	0,4	13,8	10,1	20	1,7
318 B	E	0,7	1,2	3,1	1,0	7,0	5,1	8,2	0,4	1,0	5,7	1,7	2,3	3,8	1,0	1,6	0,4	0	1,0	3,8	7,7
319 B	Y	6,5	7,1	8,5	8,8	0	12,5	3,9	3,1	5,2	5,4	8,4	7,2	50	9,0	13,7	7,2	5,8	3,9	20	1,7
320 B	K	3,1	4,3	7,3	4,3	20	8,6	15,0	1,4	0	11,6	3,6	6,6	50	2,9	2,4	4,0	3,3	2,0	20	20
321 B	C	0	6,5	20	20	20	6,6	20	20	20	20	20	20	19,7	20	20	3,1	11,2	20	20	20
322 B	K	2,3	3,2	3,5	1,8	20	7,9	20	1,1	0,6	4,9	3,7	2,2	50	0,9	0,3	3,3	1,6	0	20	20
323 B	V	4,0	4,6	6,9	8,1	20	10,6	20	9,0	17,1	7,9	8,1	10,5	50	8,7	20	5,6	4,6	0	20	20
325 B	N	3,4	5,1	9,0	4,7	20	8,2	20	16,6	16,6	20	20	0	50	6,3	20	4,6	8,8	17,8	20	20
326 B	K	0,3	2,1	2,0	0,9	1,0	3,5	2,0	2,9	0,9	2,9	2,8	0,1	4,4	0	1,1	0,1	3,2	2,1	5,2	0,7
327 B	A	1,9	3,3	4,7	3,5	20	7,0	20	20	0,3	0	1,9	1,9	20	3,0	2,3	3,3	20	20	20	20
328 B	L	3,7	3,6	3,8	4,4	50	8,4	7,0	50	3,8	0	2,6	4,0	50	4,2	8,7	4,8	2,9	12,3	50	50
329 B	P	3,3	8,5	20	20	50	8,0	16,5	50	18,5	20	14,7	20	0	20	20	1,4	17,1	16,4	50	50
330 B	A	0,5	2,0	2,8	0,5	2,4	3,9	1,2	4,0	0	2,0	2,1	0,8	20	0	0,5	0,8	0,2	4,6	8,2	2,6
331 B	P	1,7	3,8	6,4	10,1	20	4,7	11,0	10,1	7,5	20	5,5	5,0	0	7,6	7,4	2,6	20	10,1	17,6	20
332 B	I	1,7	2,9	1,3	1,7	14,8	7,0	13,9	1,7	3,1	0	1,7	1,7	50	1,8	5,3	2,0	1,9	3,4	20	20
333 B	E	1,9	2,5	1,9	0	8,9	5,9	8,2	1,2	3,0	6,4	3,4	2,0	3,1	1,1	2,3	1,8	1,6	1,6	8,9	9,3
334 B	K	2,9	3,9	3,7	2,6	20	8,3	12,1	1,5	2,6	5,3	3,7	4,3	50	1,9	0	3,4	1,8	1,4	9,9	20
335 B	T	0	2,1	7,2	7,0	4,2	0,4	3,3	17,3	6,5	7,7	5,2	5,5	3,5	7,0	5,7	0,2	5,5	11,5	5,2	3,1
336 B	I	0,5	1,6	2,1	0,7	20	5,0	6,1	0	1,3	5,3	2,1	1,8	20	0,6	3,1	1,1	0,8	0,7	19,4	20
337 B	S	1,1	2,1	4,0	2,0	3,1	3,2	2,0	50	0	1,6	0,9	1,9	15,8	1,1	2,2	1,4	50	50	5,5	3,9
338 B	K	0,6	2,3	3,0	3,0	9,4	5,3	10,6	2,2	1,1	0	3,2	1,5	16,2	2,7	2,7	1,1	2,8	3,5	8,1	11,0
339 B	A	1,1	2,4	1,2	0,8	4,3	3,6	3,7	2,6	1,8	2,6	3,5	0	2,3	0,5	1,3	0,2	0,8	2,0	6,7	3,8
340 B	K	0,9	2,0	1,4	0,8	3,0	3,4	2,9	2,1	0,8	2,5	2,3	0,2	1,0	0,1	1,2	0	0,5	2,0	5,5	3,2

Tecnología SPA™; estructura de la plantilla 1IIS; -hidrato de carbono, las posiciones no flotaban

Tabla 56

Pos	WT	A	C	D	E	F	G	H	I	K	L	M	N	P	Q	R	S	T	V	L	Y
239 A	S	0,2	4,6	2,7	0	20	4,6	14,5	11,0	1,9	0,3	2,0	1,9	8,1	1,4	2,6	0,4	5,7	11,6	20	20
240 A	V	1,5	2,4	2,4	6,9	20	7,4	20	5,1	9,9	5,9	5,5	2,4	1,1	12,3	13,1	2,6	0,5	0	20	20
263 A	V	2,3	2,8	6,3	16,5	20	8,8	20	9,6	7,3	7,3	15,3	4,8	50	16,4	17,4	2,8	1,4	0	20	20
264 A	V	1,8	3,1	2,6	1,8	0	6,3	1,9	0,6	2,4	0,8	2,7	2,1	1,6	2,3	2,7	2,3	1,1	0,5	3,5	0

266 A	V	4,9	5,2	6,9	12,3	20	11,1	20	0,8	11,9	20	8,5	6,6	50	12,5	20	6,1	3,7	0	20	20
296 A	Y	3,4	2,7	1,1	0	50	0,7	50	5,0	3,6	3,5	4,2	0,9	50	0,9	2,9	2,2	5,3	5,5	16,1	18,4
299 A	T	0,7	3,2	9,9	10,4	20	6,2	20	10,7	6,7	20	4,1	12,9	50	5,9	11,8	0	2,5	8,2	13,3	20
325 A	N	2,5	3,5	7,7	2,5	20	8,0	20	0	6,1	20	7,8	1,2	12,8	0,8	20	2,7	0	1,0	20	20
328 A	L	6,1	6,3	7,1	4,2	50	8,8	20	50	4,6	0	7,2	6,1	50	4,0	8,3	6,7	50	50	20	50
330 A	A	0,9	1,8	1,2	0	2,5	4,0	2,9	1,7	1,2	1,6	2,8	0	20	0,4	1,0	0,2	0,5	1,7	6,2	2,9
332 A	I	1,9	3,8	4,6	1,3	5,1	7,1	1,8	3,4	0,2	0	2,6	3,8	20	0,6	2,4	2,3	2,5	4,2	20	5,6
239 B	S	1,0	2,4	3,5	2,0	6,7	5,6	2,9	3,1	0,3	0	1,9	2,1	50	1,5	1,8	1,4	1,4	5,2	20	4,2
240 B	V	0,3	2,4	6,9	11,7	20	6,6	20	8,3	12,3	20	14,2	7,4	0	13,4	20	1,3	1,9	0,9	20	20
263 B	V	2,4	3,9	4,5	12,5	20	9,3	20	15,8	17,1	2,1	20	5,3	50	13,8	20	3,9	2,2	0	20	20
264 B	V	2,2	3,2	4,8	2,7	7,4	6,9	6,0	0	1,9	1,9	3,8	3,7	9,9	3,1	2,2	2,7	2,4	0,9	14,7	18,2
266 B	V	5,4	5,5	7,5	13,2	20	12,1	20	2,6	20	20	20	5,4	50	16,1	20	6,0	4,7	0	50	50
296 B	Y	1,5	2,7	1,3	1,2	4,0	4,1	3,6	1,1	1,9	2,6	3,5	0	20	0,7	1,8	1,1	1,4	1,3	6,5	4,2
299 B	T	0	2,2	7,5	10,2	20	4,8	20	7,7	5,8	20	10,3	5,1	50	10,2	18,4	0,3	1,1	5,4	20	20
325 B	N	3,4	5,1	8,6	5,0	20	8,2	20	16,7	20	20	20	0	19,7	6,3	20	4,6	8,6	18,2	20	20
328 B	L	3,6	3,5	3,8	3,9	50	8,3	7,0	50	2,9	0	1,9	3,8	50	3,4	8,4	4,7	2,9	12,5	50	50
330 B	A	0,7	2,1	2,9	0,7	2,7	4,0	1,4	4,8	0	2,2	2,3	0,8	20	0,2	0,8	1,1	0,2	4,7	7,8	3,2
332 B	I	1,8	2,9	1,2	1,8	13,5	7,0	9,9	1,7	3,2	0	1,7	1,9	50	1,2	5,4	2,0	2,0	3,3	20	20

Tecnología SPA™; estructura de la plantilla D129G 1IIS; + hidrato de carbonos

Tabla 57

Pos	WT	A	C	D	E	F	G	H	I	K	L	M	N	P	Q	R	S	T	V	L	Y
239 A	S	1,2	3,5	1,7	0	20	5,8	11,0	6,6	2,9	3,9	3,9	2,7	8,5	1,3	2,7	0,6	3,5	5,4	20	20
240 A	V	1,2	2,4	6,0	14,0	20	7,1	20	6,7	9,4	10,1	7,5	4,4	1,8	14,8	20	2,0	0,4	0	20	20
263 A	V	0	0,4	1,0	8,7	20	6,9	4,4	11,7	4,9	16,0	19,2	0,8	50	11,7	20	1,4	0,1	1,0	20	20
264 A	V	2,9	3,7	6,3	2,8	11,6	7,6	13,2	0	3,2	3,4	4,1	4,2	7,1	2,9	3,4	3,1	1,9	0,8	12,8	16,3
266 A	V	4,8	5,9	6,8	9,5	50	10,3	20	3,5	12,7	12,2	12,7	4,1	50	11,9	11,9	5,2	2,9	0	50	50
296 A	Y	0,8	2,0	1,5	0,1	0,2	3,4	1,5	6,6	1,7	0,6	1,8	1,2	2,6	0	1,6	0,2	2,5	5,6	3,8	0
299 A	T	1,9	3,7	7,5	0	20	7,9	14,2	2,9	0,8	3,4	4,4	2,3	50	1,9	3,0	3,5	4,1	3,3	20	20
325 A	N	1,0	1,4	3,1	2,8	20	7,4	20	8,5	7,7	10,4	6,1	2,8	15,4	5,4	20	0	0,1	3,8	20	20
328 A	L	2,5	5,3	4,0	1,9	50	7,5	20	20	1,6	0,2	0	2,9	50	0,4	4,8	3,2	2,9	7,0	50	50
330 A	A	0,9	2,1	1,8	1,2	2,4	2,7	3,1	3,1	1,4	2,1	3,5	0,5	20	0,8	1,0	0	0,5	2,9	5,2	2,9
332 A	I	2,9	3,7	3,9	0,9	6,1	7,8	2,5	0	2,7	0,8	2,8	3,5	50	0,7	3,7	2,9	2,5	1,0	8,1	6,9
239 B	S	1,9	3,1	3,0	1,9	1,5	6,2	2,3	14,1	1,8	1,4	2,9	1,8	0	1,9	3,2	1,9	2,3	7,7	6,6	15,8
240 B	V	0,5	1,7	5,0	13,3	20	6,6	20	1,2	12,4	12,1	8,8	4,6	6,3	20	20	1,0	0,2	0	20	20

263 B	V	2,9	3,2	6,4	18,2	10,1	9,2	6,9	12,8	6,0	20	10,3	5,7	50	17,5	20	3,2	2,2	0	20	20
264 B	V	2,9	3,6	4,4	3,0	8,8	7,1	6,2	0	2,3	1,9	4,5	3,4	1,7	3,2	3,5	3,5	2,0	0,9	12,0	16,4
266 B	V	4,4	4,6	2,6	6,6	20	10,7	20	0	4,9	1,7	8,5	5,6	50	6,0	12,4	5,3	4,6	1,5	20	50
296 B	Y	0	7,1	6,7	7,2	20	0,1	18,6	50	7,0	2,7	6,6	6,8	50	7,2	9,3	2,3	50	50	20	14,1
299 B	T	0	3,2	10,4	6,0	20	5,5	20	15,9	3,2	5,9	4,4	6,4	50	5,7	9,4	1,2	1,4	13,7	20	20
325 B	N	1,4	2,5	5,0	0	20	7,0	20	20	1,0	2,2	1,0	0,3	1,9	1,1	20	2,6	5,1	20	20	20
328 B	L	0,4	1,3	5,6	0	50	4,5	50	50	1,9	2,4	2,4	8,3	50	0,8	16,4	1,0	1,2	50	50	50
330 B	A	0,6	1,4	2,5	0,9	3,1	2,5	1,2	20	0	2,4	2,1	0,3	20	0,4	0,6	0	4,0	20	13,5	3,4
332 B	I	4,3	5,3	5,7	0	11,4	9,3	4,3	2,5	5,8	2,0	4,0	6,5	17,9	3,7	5,9	4,6	4,2	3,7	20	11,6

Tecnología SPA™; estructura de la plantilla D129G 1IIX; + hidrato de carbonos

Tabla 58

Pos	WT	A	C	D	E	F	G	H	I	K	L	M	N	P	Q	R	S	T	V	W	Y
239 A	S	1,2	2,3	2,2	1,8	7,9	5,5	7,6	0,5	0,2	1,8	2,6	1,4	0,9	1,3	1,9	1,5	0,8	0	8,6	9,6
240 A	V	0,7	2,9	6,8	4,3	20	6,5	20	0	10,7	20	3,1	9,1	2,1	7,7	20	1,4	1,1	2,4	20	20
263 A	V	1,7	2,9	4,6	18,8	20	8,4	5,8	15,1	2,3	14,5	2,1	3,2	50	20	15,0	3,6	1,2	0	20	20
264 A	V	2,7	3,3	3,6	1,5	13,9	6,7	5,9	0	2,3	4,9	3,7	3,2	1,9	2,5	3,0	3,0	2,5	0,7	19,9	19,0
266 A	V	3,5	3,5	5,7	12,4	20	10	20	5,7	6,3	7,8	7,4	5,2	50	16,6	20	4,2	1,7	0	20	50
296 A	Y	2,6	50	50	50	50	0	50	50	18,5	18,0	50	50	50	50	50	50	50	50	50	13,6
299 A	T	0,2	0,7	6,6	1,2	20	5,6	9,6	1,6	0,8	1,5	1,8	4,8	50	1,0	9,2	0	0	1,6	20	20
325 A	N	3,1	3,6	7,3	2,4	20	7,7	20	20	20	10	13,1	3,6	50	0	20	4,0	9,7	20	20	20
328 A	L	0,6	0	1,5	5,4	50	1,6	50	50	3,1	4,2	9,6	1,4	50	6,9	9,6	0,6	0,1	50	50	50
330 A	A	1,9	2,5	4,1	2,8	4,5	4,1	3,0	3,2	1,0	2,7	3,5	2,1	20	2,4	2,6	1,3	0	3,9	7,6	5,3
332 A	I	2,3	3,5	2,2	0,8	20	6,8	9,6	0	3,4	0,2	2,6	2,8	14,5	3,3	4,6	2,6	1,3	0,9	10,5	20
239 B	S	1,4	3,6	2,5	1,4	16,8	5,8	6,2	5,0	2,5	1,4	2,0	3,8	0,3	0,5	2,4	0	1,6	5,3	20	19,5
240 B	V	0	2,6	12,8	18,6	20	5,7	20	12,7	10,4	20	8,5	15,1	3,1	20	20	1,0	0,2	2,4	20	20
263 B	V	1,1	2,4	3,6	20	20	7,8	17,7	11,8	4,5	20	6,3	3,3	50	20	20	3,2	1,2	0	20	20
264 B	V	3,3	4,0	5,0	2,9	14,2	7,5	4,8	0	2,6	3,6	4,6	3,5	1,7	3,1	4,1	3,9	2,9	1,3	6,9	20
266 B	V	2,9	3,3	4,9	11,3	50	9,5	20	20	20	7,9	15,0	4,5	50	4,9	20	1,9	0	3,6	50	50
296 B	Y	2,8	50	50	50	50	0	50	50	17,7	18,7	50	50	50	50	50	50	50	50	50	11,3
299 B	T	0	3,8	12,6	9,2	20	5,9	20	7,3	4,8	3,2	4,3	8,0	50	12,3	8,8	0,2	2,1	4,4	20	20
325 B	N	0,3	2,0	5,5	2,2	50	6,1	20	0	10,5	15,5	14,6	1,3	10	2,4	20	2,3	2,0	1,0	20	50
328 B	L	5,4	5,7	7,3	4,4	50	9,8	20	50	2,5	0	5,1	5,9	50	2,8	7,4	6,1	6,4	50	50	50
330 B	A	0,6	1,4	3,2	1,3	3,9	3,2	2,7	4,0	1,3	3,7	3,1	0,7	20	0,6	1,3	0	0,4	4,2	8,2	3,6
332 B	I	1,9	3,1	2,7	1,7	5,2	6,9	3,1	0,4	1,3	0	1,9	2,6	7,7	1,3	2,2	2,3	1,6	2,0	10,4	5,6

Tecnología SPA™; estructura de la plantilla D129G 1E4K; + hidrato de carbonos

Tabla 59

Pos	WT	A	C	D	E	F	G	H	I	K	L	M	N	P	Q	R	S	T	V	W	Y
239 A	S	1,4	2,6	3,1	1,0	20	5,7	4,8	3,4	2,0	1,2	2,6	1,6	4,8	0	2,1	1,3	2,1	3,3	13,8	19,6
240 A	V	2,9	3,5	3,7	4,6	20	8,2	10,8	0	9,1	3,2	5,4	3,1	4,8	5,5	17,5	4,0	1,8	1,2	20	20
263 A	V	3,6	4,9	6,2	8,7	20	9,9	20	3,7	4,2	0,5	6,7	6,1	50	9,5	20	5,1	3,6	0	20	20
264 A	V	1,8	2,8	3,3	2,0	2,9	6,2	3,1	0	2,4	0,8	3,0	2,4	6,1	1,4	2,8	2,4	1,9	0,8	10,2	2,2
266 A	V	4,4	5,2	4,9	7,1	20	10,6	20	1,0	12,1	4,8	9,1	4,6	50	7,9	12,6	5,8	3,5	0	20	20
296 A	Y	1,2	2,9	0,7	1,4	3,1	3,9	2,7	2,4	2,3	1,9	2,2	0	1,6	1,4	3,0	0,9	1,0	3,5	6,0	2,6
299 A	T	0	2,6	6,0	11,5	20	5,3	20	20	6,0	20	4,4	3,0	50	14,1	13,2	0,9	3,8	15,1	15,0	20
325 A	N	5,2	7,0	6,6	6,9	50	11,3	20	1,3	14,3	13,5	13,9	0	5,0	6,0	20	6,0	4,6	3,2	20	50
328 A	L	4,8	5,5	7,0	3,2	20	10,5	20	50	5,1	0	8,5	5,5	50	3,5	8,2	5,5	13,4	50	20	50
330 A	A	0,9	1,8	1,1	0,9	3,5	4,0	3,0	2,3	1,2	1,6	2,8	0	14,5	0,9	1,1	0,1	0,4	2,0	6,4	3,2
332 A	I	5,3	6,4	6,7	4,8	8,2	9,9	5,2	3,1	0	3,6	5,2	6,8	20	3,5	4,6	5,5	4,8	4,0	11,2	7,1
239 B	S	0,7	2,3	2,6	2,0	5,3	5,1	3,3	1,7	0	0	2,0	0,8	15,5	0,9	0,8	0,7	0,7	3,3	8,2	6,0
240 B	V	2,3	3,0	4,1	7,3	20	8,1	20	5,1	20	11,8	10,9	3,8	2,0	17,0	20	3,6	1,3	0	20	20
263 B	V	3,2	4,3	7,3	8,3	20	9,6	20	13,3	8,5	0,6	20	6,0	50	8,5	20	4,6	4,0	0	20	20
264 B	V	2,1	3,2	3,7	2,7	17,8	6,6	11,5	0	2,0	0,8	3,5	3,0	7,8	2,0	1,5	2,5	1,3	1,0	13,9	20
266 B	V	5,0	5,0	5,2	16,3	20	11,2	20	2,3	20	14,3	17,3	2,5	50	11,6	20	5,4	3,9	0	20	20
296 B	Y	0,9	2,3	1,0	0,5	2,7	3,7	2,5	1,2	1,3	2,1	3,0	0	7,0	0,4	1,1	0,3	0,8	1,8	6,0	2,4
299 B	T	1,1	2,2	7,6	5,4	20	6,4	12,8	1,8	3,9	17,5	6,9	3,9	20	4,6	10,3	0,8	0	1,9	20	20
325 B	N	10,1	11,5	13,1	11,2	20	15,7	20	8,6	14,3	17,1	20	0	16,1	10,6	20	11,1	10,9	10,5	20	20
328 B	L	2,9	4,1	4,8	3,5	50	8,5	1,7	9,6	1,5	0	1,5	3,5	50	3,3	2,0	3,3	1,9	5,2	50	50
330 B	A	0,1	2,0	1,4	1,8	1,6	4,0	3,0	2,0	0,5	0,5	2,6	0	20	0,7	2,0	0,3	0,6	2,1	4,4	2,4
332 B	I	3,4	4,4	3,5	3,1	6,1	8,2	4,1	0	3,3	1,3	3,3	4,0	15,7	0,8	2,1	3,9	2,7	1,1	20	6,1

tecnología SPA™; Fc/FcγRIIb estructura de la plantilla modelo; -hidrato de carbono

Tabla 60

Pos	WT	A	C	D	E	F	G	H	I	K	L	M	N	P	Q	R	S	T	V	L	Y
237 A	G	1,0	3,0	5,9	1,8	5,0	4,7	3,1	1,4	1,4	4,2	3,7	2,5	0,5	1,3	1,5	0	1,2	1,9	7,5	5,6
238 A	P	3,3	5,2	9,7	4,6	20	9,2	20	0,4	19,6	5,0	8,2	7,3	0	6,1	20	1,3	3,7	2,1	20	20
239 A	S	0,6	1,8	3,3	1,3	1,8	4,7	0,5	2,1	0	0,8	2,6	0,2	8,4	0,9	0,5	0,3	1,3	2,5	4,7	1,8
240 A	V	1,3	2,3	2,7	8,2	20	7,0	20	6,1	8,7	0	9,2	2,2	0,3	7,4	20	2,0	0	0,4	20	20
241 A	F	0	2,1	2,4	0,5	1,0	4,0	2,6	7,5	1,7	0,9	2,8	0,7	10	0,7	1,4	0	0,9	6,9	3,9	0,9
242 A	L	3,7	4,7	6,6	6,7	20	9,2	20	13,0	13,8	0	7,0	5,7	3,6	9,2	20	4,8	4,7	3,4	20	20

243 A	F	0,8	2,0	1,0	0,2	0,3	4,9	1,5	4,0	1,5	0,8	2,2	0,3	50	0	0,5	0,5	0,5	4,0	4,3	0,6
244 A	P	2,8	3,7	5,5	3,2	6,4	2,9	3,6	0	0,1	4,0	3,7	3,8	0,3	1,1	0,9	1,4	1,5	0,9	7,7	6,9
245 A	P	2,5	20	20	20	20	7,7	20	50	20	20	20	20	0	20	20	3,4	19,2	50	20	20
246 A	K	2,1	3,5	2,8	2,5	4,0	6,5	4,5	3,4	2,7	1,9	4,1	0	1,2	2,7	2,3	2,2	2,5	2,9	6,8	3,7
247 A	P	2,4	5,0	6,6	7,8	50	7,5	20	10	9,6	50	6,5	9,5	0	7,0	8,4	0,1	0,6	4,6	20	50
248 A	K	2,0	4,0	4,8	4,2	20	6,9	9,6	3,3	0	2,7	3,0	4,1	2,4	3,1	3,0	2,1	0,8	2,0	15,2	20
249 A	D	3,3	4,2	3,3	0,9	4,8	9,3	4,0	50	3,1	0	3,2	3,1	50	1,9	4,1	4,4	8,1	50	6,3	5,3
250 A	T	0,1	1,5	3,0	8,0	20	6,7	20	2,5	5,4	9,5	5,7	2,2	50	7,3	10,7	1,6	0,8	0	20	20
251 A	L	3,1	4,6	6,3	6,1	2,3	9,5	1,5	7,2	3,1	1,3	5,4	4,7	50	5,2	4,4	4,8	2,1	2,4	50	0
252 A	M	3,0	3,5	5,3	2,8	20	9,4	20	4,4	0,6	5,0	0	4,7	50	2,9	14,2	0,9	6,7	6,0	20	20
253 A	I	0,9	1,8	3,9	3,3	4,0	5,5	6,2	1,3	0	0,9	1,8	2,3	50	2,6	2,7	1,2	1,2	2,0	5,8	4,7
254 A	S	0	2,4	5,5	3,4	8,1	3,9	8,5	4,2	3,3	1,7	5,0	2,1	50	4,4	4,6	0,2	5,1	6,0	9,0	8,9
255 A	R	2,2	3,8	5,4	3,9	7,1	7,3	1,6	15,8	0	0,5	1,5	3,2	50	2,0	0,6	2,0	1,4	14,5	5,4	20
256 A	T	1,1	2,3	1,7	1,5	3,2	3,9	2,5	3,1	1,1	2,0	2,7	0	2,3	0,4	0,3	0,7	1,6	2,4	6,0	3,0
257 A	P	2,1	9,1	20	16,1	50	8,5	50	20	20	20	20	20	0	18,6	20	4,1	20	20	50	50
258 A	E	0	1,6	2,3	0,6	0,9	4,2	2,1	9,4	2,4	3,5	1,9	1,9	14,7	2,2	2,7	0,9	4,1	10,4	20	1,0
259 A	V	4,0	4,3	7,0	11,4	20	10,4	20	3,2	14,0	14,9	10,6	7,7	50	12,2	20	5,1	1,8	0	20	20
260 A	T	2,6	2,8	3,2	0	20	7,3	5,6	1,7	3,1	5,5	3,5	2,7	4,5	1,1	3,0	2,5	2,0	2,0	14,0	20
261 A	C	0	18,6	20	20	20	3,8	20	20	20	20	20	20	50	20	20	4,2	20	20	20	20
262 A	V	1,8	1,5	1,3	11,1	20	7,1	20	5,8	14,6	20	20	3,6	50	20	16,5	2,1	1,9	0	20	20
263 A	V	4,5	5,1	6,5	14,1	20	10,8	20	8,0	6,1	3,2	10,9	5,7	50	14,4	18,7	6,0	3,6	0	20	20
264 A	V	2,6	3,2	3,7	2,0	14,0	7,0	9,0	0	2,6	2,5	3,8	2,3	10,4	1,9	2,4	2,6	1,6	0,5	15,9	18,2
265 A	D	1,4	2,8	2,7	1,6	1,8	2,5	2,2	18,5	0	0,1	2,5	1,1	50	0,5	0,8	1,6	11,8	19,0	4,9	2,1
266 A	V	4,8	5,1	5,0	14,2	20	11,5	20	0,2	20	9,8	20	5,4	50	19,9	20	6,3	4,2	0	50	20
267 A	S	2,6	4,9	5,7	3,3	1,6	7,2	2,9	0,5	1,0	2,0	3,7	3,7	0	2,2	1,5	1,9	1,3	2,6	5,6	2,3
268 A	H	1,5	1,9	2,6	2,6	4,4	4,8	2,7	1,7	0	2,8	1,9	0,6	0,5	0,9	1,0	0,7	1,8	1,6	7,3	4,6
269 A	E	0,3	2,0	0,8	0,6	2,8	3,6	2,7	1,5	1,6	1,4	2,9	0	6,8	0,5	1,5	0,1	0,3	1,3	5,3	2,7
270 A	N	0	1,4	1,9	3,8	0,7	3,9	2,2	6,8	2,4	3,5	2,7	1,6	13,3	3,2	3,0	0,9	1,2	5,1	2,2	1,0
271 A	P	0,9	2,2	5,7	6,5	3,0	5,5	2,9	12,8	5,4	15,7	5,6	4,2	0	8,0	4,2	1,3	2,9	7,5	4,3	2,6
272 A	E	0,7	1,8	0,3	0,4	3,0	3,6	2,6	1,7	1,4	2,0	2,9	0,3	11,8	0,2	1,6	0	0,9	1,2	4,4	2,8
273 A	V	3,1	4,0	2,1	15,5	20	8,9	20	0,5	10,6	7,1	12,4	1,2	50	20	20	1,4	0	0,7	20	20
274 A	K	0,6	2,1	1,5	0,9	2,2	4,3	2,6	1,6	1,3	1,2	2,9	0,9	50	0	0,6	0,6	1,1	1,4	2,8	2,2
275 A	F	7,1	8,6	10,1	8,0	0	12,2	4,2	7,7	4,7	5,5	6,8	8,3	7,0	7,1	11,9	8,1	7,3	7,4	10,3	1,8
276 A	N	0,5	1,8	1,3	0	20	5,4	20	12,6	2,6	3,2	3,0	0,2	18,7	1,3	1,8	1,1	6,3	10,8	20	20
277 A	W	9,3	11,1	12,3	10,7	4,1	15,0	8,6	10,2	7,3	7,8	7,9	11,4	7,6	9,5	14,6	10,2	9,6	11,3	0	20

278 A	Y	0,1	1,9	6,1	0	2,7	5,5	4,5	16,4	1,3	16,3	1,5	3,3	50	0,3	2,2	0,5	0	10	8,6	1,0
279 A	V	3,2	4,4	5,1	3,1	20	8,2	19,7	0,3	0	1,9	3,1	3,8	20	0,5	3,6	3,8	2,3	1,6	20	20
280 A	D	3,6	3,5	0	2,7	12,5	4,0	9,9	17,6	3,8	2,8	3,9	0,5	50	3,1	3,5	3,1	8,9	13,1	13,7	13,0
281 A	G	50	50	50	50	50	0	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	19,2	50	50	50
282 A	V	0,5	1,8	1,8	0,8	2,2	4,0	2,2	0,7	0,9	1,3	3,0	0,4	50	0,4	0,5	0,1	0,5	0	5,4	2,5
283 A	E	0,9	1,2	4,9	0	7,9	4,4	4,2	2,2	1,3	4,7	1,3	3,1	0,5	0,5	1,3	0,6	1,6	3,0	8,3	7,2
284 A	V	2,1	2,6	4,4	2,6	15,0	6,7	4,4	2,0	1,8	6,3	2,6	2,7	15,1	2,4	1,6	2,6	1,3	0	11,1	16,1
285 A	H	1,0	2,3	1,9	1,3	2,8	2,8	2,6	2,0	1,6	2,2	2,8	0	1,8	0,9	0,9	0,3	0,5	2,3	5,1	2,3
286 A	N	0,9	1,7	0,7	0,1	3,3	3,4	3,2	0	0,9	2,1	2,3	0,2	6,6	0,4	0,9	0,7	0,7	0,8	5,4	3,4
287 A	A	2,4	4,3	5,1	8,4	0	8,4	3,1	11,2	6,6	17,4	4,4	1,3	12,9	8,3	8,6	4,1	4,5	9,9	1,4	2,0
288 A	K	0,7	1,9	2,0	0,9	2,7	3,9	2,6	1,0	1,3	1,9	2,2	0,4	5,0	0,5	0,6	0	0,5	1,8	6,0	2,6
289 A	T	1,0	1,7	2,2	0,5	6,6	4,7	2,3	0,5	0,3	0,5	1,6	1,2	0,8	0,6	0,7	0	0,2	0,9	6,2	7,0
290 A	K	1,1	2,6	2,6	1,6	3,8	5,6	5,4	3,1	0,8	0,4	2,2	1,5	50	1,0	1,3	0,6	0	2,9	6,3	4,5
291 A	P	1,0	2,4	1,8	1,7	4,5	3,6	3,4	2,6	1,6	2,6	3,5	0	0,9	0,9	1,3	0	1,0	2,4	7,6	4,1
292 A	R	1,5	3,2	3,2	1,9	1,7	5,2	3,0	1,8	1,0	0	1,6	1,9	0,9	1,3	1,6	1,5	1,6	2,5	4,3	1,9
293 A	E	0,6	2,1	1,5	0,4	8,0	4,3	5,5	3,2	1,4	0,8	2,2	1,2	16,3	0	2,2	0,1	0,8	3,3	10,6	8,3
294 A	E	2,3	2,5	0,5	0,5	5,0	5,8	3,5	4,1	1,5	2,0	2,7	0	1,6	0,9	1,3	1,9	1,6	2,4	9,0	5,4
295 A	Q	3,1	3,2	3,8	2,8	17,6	7,8	12,8	9,7	1,3	0	2,3	3,3	50	1,6	3,6	3,8	7,9	10,1	20	20
296 A	Y	3,3	3,5	3,6	2,3	4,7	0	3,5	50	2,6	3,6	4,7	1,7	50	2,1	2,5	1,8	14,0	50	7,7	4,7
297 A	N	1,4	2,3	3,2	1,4	4,4	4,3	3,0	0,6	0,7	2,2	2,4	1,1	50	0,9	0	0,8	1,1	1,5	7,3	4,3
298 A	S	6,5	7,1	6,9	6,9	11,0	0	8,6	50	6,6	7,2	8,5	5,2	50	6,2	6,3	4,4	12,0	50	12,5	10,6
299 A	T	0,3	2,2	3,0	20	0,5	4,4	0,5	5,1	1,5	16,2	3,3	0,1	50	20	3,4	0,7	0	0,4	50	1,7
300 A	Y	4,1	4,8	5,1	5,2	0	9,8	2,2	11,9	3,3	2,6	3,7	4,4	50	5,4	7,9	5,7	7,2	12,7	5,8	0,4
301 A	R	1,6	2,4	1,1	0,6	20	6,5	20	8,6	0	3,5	1,7	0,5	50	0,3	0,9	2,5	3,1	9,8	20	20
302 A	V	3,2	4,0	5,0	4,0	20	9,0	5,6	0,3	1,6	2,3	2,7	3,6	10,8	2,9	3,9	3,6	2,1	0	20	20
303 A	V	0,9	1,0	2,0	0	20	5,9	20	3,0	4,4	12,4	4,6	2,7	1,6	4,8	4,9	1,3	0,7	1,0	20	20
304 A	S	1,1	2,3	4,1	9,2	20	7,8	20	7,6	6,9	20	9,3	2,8	20	11,2	9,4	0	2,5	4,1	20	20
305 A	V	1,6	2,1	1,8	4,1	20	6,3	20	1,0	3,9	2,9	3,0	0,6	12,6	4,5	3,8	1,8	1,0	0	20	20
306 A	L	5,1	6,8	6,7	7,0	1,7	11,5	4,9	3,8	3,9	0	6,3	6,0	15,0	7,3	15,4	5,9	4,2	5,6	20	2,5
307 A	T	1,5	3,0	2,6	1,6	1,1	5,5	3,0	0,2	1,7	1,0	3,0	1,8	0	1,6	2,4	1,6	1,0	0,8	9,5	1,4
308 A	V	4,0	4,5	12,8	7,2	20	10,2	20	0	17,1	5,0	20	10,2	50	13,4	20	4,4	4,4	1,7	20	20
309 A	L	1,3	2,8	1,8	1,7	3,2	5,5	3,3	0,8	1,5	1,0	3,2	0	0,3	1,3	0,4	1,6	1,3	0,8	5,8	3,4
310 A	H	1,6	2,2	2,1	4,0	18,6	6,3	4,2	3,5	3,2	6,7	3,4	1,1	0	3,7	7,5	0,7	0,5	3,3	14,8	18,9
311 A	Q	0,2	1,6	1,4	0,7	1,9	3,9	1,6	0,4	0,7	0,7	1,9	0	0,7	0,9	1,2	0,5	0	1,2	2,6	1,8
312 A	D	0	1,6	0,8	0,9	20	5,3	11,3	8,9	2,4	2,3	2,5	1,1	50	3,0	3,0	0,6	5,5	9,6	16,0	20

313 A	W	4,0	5,5	7,0	5,1	0	10	5,1	11,0	2,7	4,2	2,7	6,6	50	4,8	6,3	5,7	4,5	9,9	1,3	0,9
314 A	L	2,8	4,3	5,8	3,7	20	7,6	7,3	4,2	1,8	0	2,9	4,0	50	3,2	2,5	3,9	3,6	5,7	17,5	20
315 A	N	0	5,1	3,1	3,4	11,1	2,6	11,3	16,1	3,4	3,4	4,8	1,9	50	3,3	4,6	1,7	8,9	50	13,0	12,0
316 A	G	11,4	10	11,1	8,9	16,6	0	12,7	50	8,5	8,8	9,4	9,5	50	8,8	9,2	9,2	50	50	11,9	16,6
317 A	K	3,1	4,8	8,1	5,6	6,5	8,4	2,5	7,3	0	5,5	3,5	5,0	50	3,6	1,5	3,1	5,2	6,8	20	7,4
318 A	E	1,5	2,5	2,8	1,7	20	5,8	9,6	2,0	1,9	5,9	3,4	2,2	17,5	1,6	2,7	1,1	0	3,4	20	20
319 A	Y	7,0	7,9	9,4	9,9	0	12,8	4,6	3,2	6,0	6,6	7,1	8,2	20	8,9	12,7	7,7	5,8	3,8	8,7	0,9
320 A	K	1,8	2,9	6,7	1,8	20	7,1	20	1,1	0	8,1	2,2	4,2	8,4	1,7	1,4	1,5	0,6	1,0	20	20
321 A	C	0	3,9	20	20	20	6,1	20	20	20	20	20	20	20	20	20	2,2	8,6	18,8	20	20
322 A	K	2,4	3,3	6,1	3,0	20	8,0	20	1,1	0,4	16,9	2,5	4,1	50	2,8	3,0	3,1	1,6	0	20	20
323 A	V	3,5	4,3	8,0	9,0	20	9,9	20	4,7	10,2	20	5,7	8,7	50	9,3	20	4,9	2,5	0	20	20
324 A	S	0,4	2,0	0,9	0	0,2	5,0	2,5	1,3	1,3	0	2,4	0,4	50	1,0	2,6	0,7	1,3	1,3	8,7	0,3
325 A	N	4,9	5,9	6,3	6,0	20	10,4	20	1,7	14,0	11,3	20	0	13,3	6,3	20	5,1	3,7	3,4	20	20
326 A	K	1,6	3,6	2,4	2,4	3,8	4,9	3,0	10,6	1,4	2,9	4,2	1,1	0	1,7	2,1	1,5	4,5	9,4	5,1	3,3
327 A	A	2,7	3,8	5,5	2,8	11,6	7,1	9,5	3,2	1,2	3,7	4,3	3,8	20	3,2	2,8	1,8	0	3,3	18,3	12,6
328 A	L	2,5	3,7	4,6	1,7	50	7,4	20	5,7	1,8	0	10,4	4,3	50	1,7	6,0	2,9	8,3	5,9	50	50
329 A	P	0,8	2,2	1,2	1,2	4,0	3,3	3,3	2,9	1,6	2,5	3,5	0,1	0,3	0,6	1,4	0	1,1	2,2	6,6	3,7
330 A	A	0,3	1,6	2,0	1,3	3,4	3,2	2,3	2,4	1,3	2,5	3,0	0,3	20	0,5	1,1	0	0,1	2,2	6,0	3,4
331 A	P	1,5	3,5	8,0	10,4	6,6	6,3	5,0	9,3	8,1	12,6	6,4	6,1	0	8,0	7,9	1,4	6,4	4,6	6,5	6,8
332 A	I	2,4	3,5	2,6	2,2	7,9	7,2	4,0	1,3	2,3	0,7	2,9	2,8	50	0	3,7	2,8	1,8	1,3	12,6	9,4
333 A	E	2,0	2,7	2,6	0	8,0	6,3	7,6	3,1	3,5	5,9	3,0	2,9	3,6	1,1	2,9	1,7	1,2	4,8	8,0	8,4
334 A	K	2,1	3,4	3,5	2,0	7,1	7,1	3,5	2,0	2,2	3,0	3,0	2,5	2,8	1,5	0	2,8	1,6	1,5	4,1	7,9
335 A	T	0,5	1,0	2,1	0,3	4,6	4,6	4,1	0,6	0,2	4,0	2,1	1,2	2,1	1,0	0,2	0,8	0	0,9	5,1	4,8
336 A	I	0,4	1,4	2,2	0,9	13,9	4,8	4,7	0	1,3	4,3	1,6	1,3	20	0,1	2,6	1,1	0,4	0,3	12,3	13,9
337 A	S	0,3	0,8	4,0	13,5	20	3,1	20	50	9,9	9,3	5,6	5,0	12,7	6,7	7,3	0	10,5	50	20	20
338 A	K	4,7	8,3	7,1	7,6	20	9,8	20	5,5	0	2,3	5,9	5,5	5,8	6,4	4,6	5,8	6,8	6,9	20	20
339 A	A	1,4	2,7	3,1	2,2	2,3	5,5	3,3	0	0,5	0,2	2,7	1,5	1,0	0,8	0,4	1,3	1,2	0,4	6,6	2,4
340 A	K	1,2	3,0	2,0	1,5	1,9	3,9	2,5	2,6	0,2	2,2	2,1	1,0	1,0	0	1,1	0,6	1,2	3,1	7,8	2,2
237 B	G	0,6	2,2	1,7	0,5	5,0	4,2	2,5	0,3	0,3	4,1	1,7	0,5	0,3	0	0,3	0,4	0,3	1,0	7,3	5,4
238 B	P	3,0	5,3	8,9	5,4	20	9,1	20	1,1	14,4	3,6	11,6	7,3	0	7,8	20	1,9	4,7	2,7	20	20
239 B	S	0,7	2,0	2,9	1,1	2,2	4,8	0,5	2,9	0	0,8	2,5	0,2	9,3	0,8	0,3	0,4	1,7	2,7	4,8	2,1
240 B	V	2,0	3,0	3,4	5,3	20	7,7	20	6,4	11,3	0	10,2	2,7	1,3	9,7	20	2,8	0,6	0,7	20	20
241 B	F	0,3	2,0	2,7	0,2	1,5	4,3	3,2	5,7	1,3	1,2	2,4	1,5	8,5	1,2	1,9	0	1,3	5,3	4,3	1,3
242 B	L	4,0	5,1	7,0	6,5	20	9,5	20	12,9	13,6	0	8,7	5,9	3,9	10,6	19,9	5,0	5,6	4,2	20	20
243 B	F	0,7	1,8	1,2	0	0,2	4,9	1,5	4,8	1,4	0,8	2,3	0,4	50	0	0,5	0,3	0,6	4,5	4,3	0,7

244 B	P	2,1	3,1	5,4	2,8	7,0	3,5	3,7	0,7	0	3,6	3,3	3,5	0,3	1,0	1,2	1,2	1,4	0,5	7,3	7,2
245 B	P	2,1	20	20	20	20	7,3	20	50	20	20	20	20	0	20	20	3,0	19,4	20	20	20
246 B	K	1,4	2,8	1,8	2,0	3,4	5,8	3,9	2,3	1,8	1,2	3,2	0	0,3	2,1	1,5	1,5	1,7	1,9	6,0	3,1
247 B	P	2,4	5,0	8,4	7,4	20	7,5	18,5	8,7	9,4	20	7,9	12,4	0	6,3	9,1	0,9	0,8	3,0	20	20
248 B	K	2,0	4,1	4,6	3,7	20	6,8	9,1	3,7	0	2,2	2,9	3,8	2,1	2,7	2,5	2,3	1,2	2,1	20	20
249 B	D	3,2	4,2	3,1	1,2	3,2	9,1	4,0	50	2,9	0	3,3	3,8	50	1,6	4,1	4,4	8,4	50	6,6	4,6
250 B	T	0,1	1,4	3,1	7,4	20	6,7	20	2,9	5,9	8,9	6,1	2,2	50	6,7	6,1	1,3	0,6	0	20	20
251 B	L	4,0	5,6	6,9	7,9	3,5	10,4	1,9	4,9	5,0	2,1	3,3	5,3	50	9,3	5,4	5,9	3,3	4,5	50	0
252 B	M	3,0	3,6	5,6	2,9	20	9,2	20	6,0	1,0	4,9	0	4,2	50	2,4	14,0	1,5	6,9	7,7	20	20
253 B	I	1,5	2,3	4,6	3,5	4,6	6,1	6,8	1,7	0	1,6	2,2	3,0	50	3,3	2,4	1,6	1,5	2,3	6,5	5,3
254 B	S	0	2,8	6,1	3,4	8,5	4,1	9,9	4,5	4,2	1,5	3,9	3,1	50	3,4	5,1	0,3	5,6	6,6	10	8,7
255 B	R	1,8	3,7	5,0	3,7	3,5	6,8	0,8	14,1	0,1	0	1,5	2,6	50	1,6	0	1,7	1,0	13,6	4,8	20
256 B	T	1,0	2,3	1,6	1,4	3,1	3,7	2,3	3,5	1,2	1,9	2,6	0	2,4	0,5	0,2	0,7	1,5	2,8	5,9	2,9
257 B	P	2,0	10,4	20	20	50	8,4	50	20	20	17,3	20	20	0	16,5	20	4,2	20	20	50	50
258 B	E	0	1,6	2,7	0,8	0,8	3,9	2,0	12,0	2,4	4,0	1,8	2,1	16,2	2,9	3,0	0,7	4,5	11,7	20	1,6
259 B	V	4,1	4,5	7,0	9,1	20	10,5	20	1,5	12,2	14,4	15,5	7,5	50	8,8	20	5,3	2,0	0	20	20
260 B	T	2,4	2,7	3,0	0	20	7,2	7,2	1,6	3,0	5,3	3,5	2,7	4,1	0,3	1,3	2,5	2,0	1,6	15,9	20
261 B	C	0	18,0	20	20	20	4,0	20	20	20	20	20	20	50	20	20	3,5	20	20	20	20
262 B	V	1,6	1,5	0,8	20	20	7,0	20	8,4	16,8	20	20	3,5	50	14,9	19,5	1,9	1,6	0	20	20
263 B	V	4,5	5,2	5,5	18,4	20	10,9	20	10,9	4,6	3,5	8,9	4,7	50	15,3	19,2	5,7	3,1	0	20	20
264 B	V	2,6	3,0	3,7	1,6	12,8	7,1	12,2	0	2,3	3,1	4,0	2,5	5,0	1,5	3,1	2,4	1,6	0,4	20	20
265 B	D	1,4	2,7	2,4	1,3	2,0	2,3	2,3	50	1,0	0	2,4	0,9	50	0,3	0,7	1,6	11,4	18,0	5,0	2,2
266 B	V	4,9	5,4	7,0	15,9	20	11,6	20	2,7	20	20	19,7	6,2	50	17,2	20	5,8	4,1	0	50	50
267 B	S	2,4	4,6	4,3	4,3	1,3	7,1	2,8	1,3	0,9	1,7	3,6	2,7	0	1,4	1,9	2,3	1,8	3,2	5,2	2,5
268 B	H	2,1	2,9	3,8	2,4	6,9	5,5	2,0	1,7	0	4,9	2,7	1,8	3,2	0,9	1,1	1,4	1,2	2,8	8,4	6,4
269 B	E	0,8	2,5	0,9	1,2	3,3	4,0	2,9	1,2	2,0	2,2	3,2	0	5,3	0,8	1,6	0,8	1,0	1,8	5,6	3,1
270 B	N	0	1,3	0,9	3,9	2,9	3,8	4,8	5,7	3,5	1,2	3,8	2,9	15,5	4,0	3,5	1,0	1,4	7,0	6,6	3,1
271 B	P	0,8	2,5	6,0	7,8	3,1	5,6	4,2	16,4	5,7	16,9	6,0	4,0	0	7,6	5,3	1,3	2,9	6,2	5,0	3,6
272 B	E	0,7	1,7	0,1	0	3,0	3,7	2,8	1,0	1,9	1,8	3,1	0,6	17,4	0,1	1,0	0,3	1,0	0,6	3,7	3,0
273 B	V	4,8	5,5	5,1	16,6	20	10,8	20	3,1	9,6	7,2	9,8	4,2	50	20	20	1,5	0	2,5	20	20
274 B	K	0,8	2,4	1,6	1,0	2,3	4,5	2,7	1,5	1,5	1,4	3,1	0,6	50	0	0,5	0,9	1,3	1,1	2,8	2,4
275 B	F	6,9	8,5	9,9	8,0	0	12,1	3,7	8,2	4,8	5,5	6,8	8,0	7,1	7,2	13,0	8,2	7,1	7,4	10,7	2,0
276 B	N	0,4	1,6	1,2	0	20	5,3	20	9,1	2,7	3,1	2,7	0,1	19,6	1,1	1,7	0,5	5,9	8,8	20	20
277 B	W	8,9	10,9	11,6	10,6	4,8	14,6	7,8	10,1	6,3	7,6	7,5	10,9	6,8	9,3	14,0	10	9,5	11,0	0	20
278 B	Y	0,8	2,1	5,6	0	1,4	6,3	3,9	18,3	1,3	12,7	1,7	3,0	18,1	0,3	2,4	1,2	0,3	10,3	7,5	0,3

279 B	V	3,8	4,9	5,9	3,8	20	8,8	16,0	1,0	0	2,8	3,6	4,5	20	1,0	4,1	4,5	2,9	2,0	20	20
280 B	D	3,5	3,4	0	1,8	12,4	3,9	9,8	17,0	3,6	2,3	4,0	0,2	50	3,1	3,6	3,0	8,8	12,1	13,9	12,7
281 B	G	50	50	50	50	50	0	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
282 B	V	0,4	1,8	1,7	0,8	2,2	3,9	2,1	0,8	0,9	1,3	2,9	0,2	50	0,3	0,3	0	0,3	0	5,6	2,4
283 B	E	0,9	1,2	4,9	0	7,8	4,7	4,3	1,7	1,5	4,7	2,0	3,2	0,4	0,7	0,8	0,6	1,5	2,7	8,3	7,5
284 B	V	2,3	2,7	5,0	2,6	16,4	7,0	5,5	3,1	2,0	7,0	2,9	3,2	50	2,6	2,2	2,7	1,4	0	13,3	20
285 B	H	0,6	2,0	1,8	1,0	2,4	2,5	2,3	2,0	1,4	1,9	2,9	0	1,6	0,5	0,7	0	0,2	2,2	4,8	1,9
286 B	N	1,0	1,8	0,9	0,2	3,4	3,5	3,1	0	1,4	2,2	2,4	0,2	8,3	0,4	1,0	0,7	0,8	1,0	5,4	3,4
287 B	A	2,5	4,3	5,5	8,5	0	8,4	3,2	13,3	6,7	17,7	4,6	1,1	14,1	8,2	9,1	3,5	3,2	10,7	1,1	1,4
288 B	K	0,6	1,7	1,6	0,8	2,5	3,7	2,5	1,0	1,4	1,7	2,0	0,3	5,7	0,6	0,4	0	0,5	1,7	5,8	2,3
289 B	T	0,9	1,5	2,1	0,5	5,4	4,6	2,3	0	0,2	0,2	1,3	1,1	0,7	0,5	0,2	0,2	0,2	0,4	6,7	5,4
290 B	K	0,7	2,4	2,5	1,2	3,2	5,2	5,2	2,4	0,2	0,1	1,8	1,3	50	0,6	1,2	0,7	0	2,4	5,7	4,3
291 B	P	1,0	2,5	2,0	1,7	4,5	3,6	3,4	2,5	1,6	2,6	3,4	0,2	0,8	0,7	1,2	0	0,8	2,6	7,6	3,9
292 B	R	1,8	3,5	3,5	2,2	1,6	5,5	2,8	2,2	1,1	0	1,8	2,4	1,3	1,6	1,5	1,8	2,0	2,6	4,5	2,0
293 B	E	0,7	2,2	1,6	0,6	8,6	4,5	4,7	2,8	1,5	0,9	2,4	1,1	15,9	0	2,3	0,2	0,9	2,8	9,3	8,6
294 B	E	2,1	2,2	0,5	0,4	5,2	5,7	3,3	2,8	1,3	3,0	2,4	0	1,3	0,9	1,3	1,5	1,3	2,2	8,4	6,2
295 B	Q	3,3	3,1	4,0	3,1	18,8	7,6	13,1	8,3	1,2	0	2,4	3,4	50	1,8	3,8	3,6	7,2	8,7	20	18,4
296 B	Y	4,2	4,4	4,5	3,6	5,6	0	4,4	50	3,4	4,4	5,5	2,5	50	2,9	3,3	2,6	11,3	50	8,5	5,4
297 B	N	1,3	2,1	3,1	1,4	4,0	4,2	2,7	0,3	1,3	2,1	2,3	0,9	50	1,0	0	0,8	0,8	1,3	7,0	4,1
298 B	S	5,5	6,0	6,3	5,7	9,7	0	7,5	50	5,7	6,3	7,8	4,5	50	5,5	5,4	3,3	9,6	50	11,9	9,6
299 B	T	1,1	3,1	3,5	15,2	0,9	5,9	0	6,3	1,4	10,9	2,3	0,9	50	15,0	1,8	1,8	1,1	2,3	20	1,6
300 B	Y	3,1	3,7	4,0	3,8	2,9	8,8	2,3	10,5	2,0	1,5	2,8	3,2	50	4,3	5,9	4,6	3,1	10,9	5,7	0
301 B	R	1,5	2,3	1,4	0,3	20	6,4	20	6,8	0,1	3,8	1,7	0,7	50	0	0,6	2,4	2,7	7,1	20	20
302 B	V	3,4	4,0	5,8	3,9	20	9,3	7,0	0,2	1,8	3,4	2,9	4,8	20	2,8	5,0	3,7	2,1	0	20	20
303 B	V	0,2	0,2	1,2	1,2	20	5,3	20	5,8	3,9	11,4	4,9	2,3	0,9	5,3	6,4	0,4	0	0,2	20	20
304 B	S	1,0	1,9	4,1	10,8	20	7,8	20	8,3	7,4	20	12,1	2,6	16,4	14,1	12,0	0	1,7	3,6	20	20
305 B	V	1,5	1,8	1,7	3,9	20	6,2	20	0,7	3,2	4,2	2,9	0,7	14,7	4,2	3,3	1,7	0,9	0	20	20
306 B	L	5,2	7,1	6,7	7,3	1,5	11,6	4,9	3,7	5,1	0	6,0	6,0	12,2	6,9	14,6	6,2	4,5	5,5	20	1,9
307 B	T	1,6	3,0	2,5	1,9	1,1	5,5	3,0	0,2	1,6	1,2	3,0	2,1	0	1,7	2,3	1,7	1,1	0,8	9,7	1,5
308 B	V	5,1	5,8	12,7	7,4	20	11,3	20	0	19,1	6,1	20	11,7	50	10,8	20	5,6	4,5	2,5	20	20
309 B	L	1,3	2,8	1,9	1,7	3,2	5,4	3,3	0,9	1,5	1,0	3,2	0	0,2	1,2	0,4	1,6	1,3	0,8	5,8	3,3
310 B	H	1,7	2,4	2,5	3,8	13,1	6,4	5,5	3,6	3,6	7,5	3,7	1,2	0	4,1	10,5	1,2	0,6	4,6	11,6	13,6
311 B	Q	0	1,6	1,1	0,5	0,9	3,7	1,6	0,4	0,6	0,6	1,8	0	1,7	0,8	1,0	0,4	0	1,4	2,3	1,0
312 B	D	0	1,7	0,8	4,6	20	5,3	20	11,0	3,1	2,9	2,7	1,5	50	6,8	4,0	0,5	7,1	9,7	20	20
313 B	W	4,4	5,9	7,2	5,7	0	10,3	5,3	9,3	3,0	4,3	2,9	7,7	50	5,1	7,1	6,0	4,8	7,2	1,6	1,4

314 B	L	2,8	4,4	5,7	3,7	20	7,6	8,3	4,5	1,6	0	3,0	4,0	50	3,4	4,0	3,9	3,6	5,9	17,5	20
315 B	N	0	7,4	3,9	5,2	12,9	2,1	12,0	14,7	4,5	3,3	5,6	2,5	50	5,8	5,9	2,0	11,4	18,0	13,7	11,8
316 B	G	8,9	7,7	9,2	6,9	13,3	0	10,8	50	6,7	6,8	7,0	7,5	50	6,8	7,7	6,9	50	50	10	13,8
317 B	K	2,6	4,3	7,6	5,9	6,7	7,4	2,3	7,5	0	4,8	3,4	4,4	50	3,2	1,3	2,2	6,6	6,4	20	7,6
318 B	E	1,7	2,6	2,9	1,6	20	6,0	9,6	1,8	2,2	6,1	3,7	2,4	13,4	1,7	3,0	1,1	0	3,4	19,3	20
319 B	Y	6,9	7,8	9,3	10,1	0	12,7	4,7	3,1	6,2	7,1	6,9	8,0	50	9,5	13,1	7,4	5,5	3,6	10,4	0,8
320 B	K	1,7	2,9	6,7	1,9	20	7,0	20	0,6	0	8,9	2,0	3,9	12,6	1,8	1,2	1,6	0,7	1,1	20	20
321 B	C	0	4,5	20	20	20	6,2	20	20	20	20	20	20	20	20	20	2,3	9,1	19,2	20	20
322 B	K	2,8	3,8	6,2	3,3	20	8,4	20	1,8	0,8	16,3	3,0	4,6	50	2,7	2,7	3,5	2,0	0	20	20
323 B	V	3,5	4,4	8,8	7,6	20	9,8	20	5,4	9,2	20	6,0	9,2	50	9,8	19,4	4,8	2,7	0	20	20
324 B	S	0,5	2,5	1,4	0,6	0,4	5,2	2,7	3,5	0	0,2	2,4	1,3	11,1	1,0	2,7	0,9	1,2	3,4	2,5	1,2
325 B	N	4,1	5,5	6,9	5,7	20	9,6	20	1,0	10,5	11,2	17,0	0,4	11,5	5,5	16,5	3,1	0	2,1	20	50
326 B	K	0,9	2,8	1,8	1,8	2,6	4,4	2,5	4,2	1,3	2,9	3,5	0,1	0	1,2	1,3	0,7	2,4	3,4	6,4	2,4
327 B	A	3,1	4,4	6,1	3,2	10,3	7,4	4,0	7,0	2,8	2,5	4,5	3,9	20	3,5	3,7	1,4	0	2,8	10,3	12,2
328 B	L	4,7	5,4	6,6	3,3	20	9,8	20	50	4,1	0	15,1	6,0	50	3,7	6,2	5,5	18,4	50	20	50
329 B	P	0,6	2,1	0,9	1,0	3,8	3,2	2,8	2,2	1,3	2,4	3,2	0	0,4	0,3	0,9	0	0,6	1,6	6,4	3,7
330 B	A	0,4	1,8	1,5	1,2	3,4	3,3	2,7	2,1	1,3	1,9	3,0	0	20	0,6	1,3	0,1	0,3	1,8	6,0	3,7
331 B	P	1,6	3,6	7,8	10,6	7,3	6,5	4,6	8,9	7,7	13,6	6,3	5,7	0	8,3	7,7	1,7	5,3	5,2	6,5	8,0
332 B	I	2,0	3,0	2,6	0,9	5,8	6,9	2,6	0	2,1	0,1	2,5	2,6	50	0	2,4	2,3	1,3	0,9	15,3	6,6
333 B	E	2,2	2,8	2,7	0	8,1	6,4	7,8	3,4	3,6	6,1	3,3	2,6	3,6	1,2	3,0	2,4	1,4	4,9	8,4	8,8
334 B	K	2,2	3,4	4,2	2,1	10,4	7,2	4,1	1,7	1,8	3,1	2,9	2,6	2,8	1,5	0	2,7	1,6	1,4	5,5	10,8
335 B	T	0,5	1,1	1,9	0,8	4,8	4,6	4,4	0,5	0,3	3,7	2,2	0,8	1,7	1,7	0,6	0,6	0	0,8	5,2	5,1
336 B	I	0,7	1,5	2,5	1,0	18,4	5,0	5,4	0,1	1,9	4,6	1,9	1,5	20	0	3,0	1,5	0,5	0,4	14,2	19,6
337 B	S	0,4	1,1	4,9	10,6	20	3,4	20	50	7,9	11,0	5,1	3,6	12,8	6,2	7,0	0	4,6	50	20	20
338 B	K	4,5	8,2	7,4	8,0	20	9,6	20	5,3	0	2,0	5,7	6,0	5,8	6,8	4,9	5,4	6,4	6,7	20	20
339 B	A	1,5	2,8	3,0	2,1	2,4	5,5	3,3	0	0,4	0,2	2,8	1,4	1,5	0,9	0,7	1,5	1,1	0,5	6,6	2,6
340 B	K	1,0	2,7	1,7	1,3	1,7	3,7	2,1	2,4	0	2,1	1,9	0,6	1,0	0	1,0	0,2	1,0	2,3	7,0	1,8

Tecnología SPA™; estructura de la plantilla 1DN2; + hidrato de carbono

Los resultados de los cálculos de diseño presentados anteriormente en las Tablas 1-60 se utilizaron para construir una serie de bibliotecas de la variante de Fc para la producción y detección experimental. Fueron diseñadas bibliotecas experimentales en rondas sucesivas de cribado computacional y experimental. El diseño de las bibliotecas Fc posteriores se benefició de la retroalimentación de las bibliotecas anteriores, y por lo tanto comprendió, típicamente, combinaciones de variantes de Fc que mostraron propiedades favorables en el rastreo anterior. Todo el conjunto de variantes de Fc que se construyeron y se probaron experimentalmente se muestra en la Tabla 61. En esta tabla, la fila 1 indica las posiciones variables, y las filas que siguen indican los aminoácidos en esas posiciones variables para WT y las variantes de Fc. Por ejemplo, la variante 18 tiene las siguientes cuatro mutaciones: F241E, F243Y, V262T y V264R. Los residuos de la posición variable que componen este conjunto de variantes de Fc se ilustran estructuralmente en la figura 4, y se presentan en el contexto de la secuencia de Fc de IgG1 humana en la figura 5.

Tabla 61

Variante	Sustitución(Sustituciones)	Variante	Sustitución(Sustituciones)
1	V264A	50	Y296Q
2	V264L	51	S298T
3	V264I	52	S298N
4	F241W	53	T299I
5	F241L	54	A327S
6	F243W	55	A327N
7	F243L	56	S267Q/A327S
8	F241L/F243L/V262I/V264I	57	S267L/A327S
9	F241W/F243W	58	A327L
10	F241W/F243W/V262A/V264A	59	P329F
11	F241L/V262I	60	A330L
12	F243L/V264I	61	A330Y
13	F243L/V262I/V264W	62	I332D
14	F241Y/F243Y/V262T/V264T	63	N297S
15	F241E/F243R/V262E/V264R	64	N297D
16	F241E/F243Q/V262T/V264E	65	N297S/I332E
17	F241R/F243Q/V262T/V264R	66	N297D/I332E
18	F241E/F243Y/V262T/V264R	67	N297E/I332E
19	L328M	68	D265Y/N297D/I332E
20	L328E	69	D265Y/N297D/T299L/I332E
21	L328F	70	D265F/N297E/I332F
22	I332E	71	L328I/I332E
23	L328M/I332E	72	L328Q/I332E
24	P244H	73	I332N
25	P245A	74	I332Q
26	P247V	75	V264T
27	W313F	76	V264F
28	P244H/P245A/P247V	77	V240I
29	P247G	78	V263I
30	V264I/I332E	79	V266I
31	F241E/F243R/V262E/V264R/I332E	80	T299A
32	F241E/F243QN262T/V264E/I332E	81	T299S
33	F241R/F243Q/V262T/V264R/I332E	82	T299V

34	F241E/F243Y/V262T/V264R/I332E	83	N325Q
35	S298A	84	N325L
36	S298A/I332E	85	N325I
37	S298A/E333A/K334A	86	S239D
41	S239E/I332E	87	S239N
42	S239Q/I332E	88	S239F
43	S239E	89	S239D/I332D
44	D265G	90	S239D/I332E
45	D265N	91	S239D/I332N
46	S239E/D265G	92	S239D/I332Q
47	S239E/D265N	93	S239E/I332D
48	S239E/D265Q	94	S239E/I332N
49	Y296E	95	S239E/I332Q
96	S239N/I332D	141	V264Y
97	S239N/I332E	142	V266A
98	S239N/I332N	143	V266T
99	S239N/I332Q	144	V266M
100	S239Q/I332D	145	E269H
101	S239Q/I332N	146	E269Y
102	S239Q/I332Q	147	E269F
103	K326E	148	E269R
104	Y296D	149	Y296S
105	Y296N	150	Y296T
106	N297D/I332E/F241Y/F243Y/V262T/V264T	151	Y296L
107	I332E/A330Y	152	Y296I
108	I332E/V264I/A330Y	153	S298H
109	I332E/A330L	154	T299H
110	I332E/V264I/A330L	155	A330V
111	L234D	156	A330I
112	L234E	157	A330F
113	L234N	158	A330R
114	L234Q	159	A330H
115	L234T	160	N325D
116	L234H	161	N325E
117	L234Y	162	N325A

118	L234I	163	N325T
119	L234V	164	N325V
120	L234F	165	N325H
121	L235D	166	L328D/I332E
122	L235S	167	L328E/I332E
123	L235N	168	L328N/I332E
124	L235Q	169	L328Q/I332E
125	L235T	170	L328V/I332E
126	L235H	171	L328T/I332E
127	L235Y	172	L328H/I332E
128	L235I	173	L328I/I332E
129	L235V	174	L328A
130	L235F	175	I332T
131	S239T	176	I332H
132	S239H	177	I332Y
133	S239Y	178	I332A
134	V240A	179	V264I/I332E/S239E
135	V240T	180	V264I/I332E/S239Q
136	V240M	181	V264I/I332E/S239E/A330Y
137	V263A	182	V264I/I332E/S239E/A330Y/S298A
138	V263T	183	N297D/I332E/S239D
139	V263M	184	N297D/I332E/S239E
140	V264M	185	N297D/I332E/S239D/D265V
186	N297D/I332E/S239D/D265I	231	E269N
187	N297D/I332E/S239D/D265L	232	D270Q
188	N297D/I332E/S239D/D265F	233	D270T
189	N297D/I332E/S239D/D265Y	234	D270H
190	N297D/I332E/S239D/D265H	235	E272S
191	N297D/I332E/S239D/D265T	236	E272K
192	N297D/I332E/V264E	237	E272I
193	N297D/I332E/Y296D	238	E272Y
194	N297D/I332E/Y296E	239	V273I
195	N297D/I332E/Y296N	240	K274T
196	N297D/I332E/Y296Q	241	K274E
197	N297D/I332E/Y296H	242	K274R

198	N297D/I332E/Y296T	243	K274L
199	N297D/I332E/T299V	244	K274Y
200	N297D/I332E/T299I	245	F275W
201	N297D/I332E/T299L	246	N276S
202	N297D/I332E/T299F	247	N276E
203	N297D/I332E/T299H	248	N276R
204	N297D/I332E/T299E	249	N276L
205	N297D/I332E/A330Y	250	N276Y
206	N297D/I332E/S298A/A330Y	251	Y278T
207	S239D/I332E/A330Y	252	Y278E
208	S239N/I332E/A330Y	253	Y278K
209	S239D/I332E/A330L	254	Y278W
210	S239N/I332E/A330L	255	E283R
211	I332E/V264I/S298A	256	V302I
212	I332E/S239D/S298A	257	E318R
213	I332E/S239N/S298A	258	K320T
214	S239D/I332E/V264I	259	K320D
215	S239D/I332E/V264I/S298A	260	K320I
216	S239D/I332E/V264I/A330L	261	K322T
217	L328N	262	K322H
218	L328H	263	V323I
219	S239D/I332E/A330I	264	S324T
220	N297D/I332E/S239D/A330L	265	S324D
221	P230A	266	S324R
222	E233D	267	S324I
223	P230A/E233D	268	S324V
224	P230A/E233D/I332E	269	S324L
225	S267T	270	S324Y
226	S267H	271	K326L
227	S267D	272	K326I
228	S267N	273	K326T
229	E269T	274	A327D
230	E269L	275	A327T
276	A330S	290	T335Y
277	A330W	291	L234I/L235D

278	A330M	292	V240I/V266I
279	P331V	293	S239D/A330Y/I332E/L234I
280	P331H	294	S239D/A330Y/I332E/L235D
281	E333T	295	S239D/A330Y/I332EA/240I
282	E333H	296	S239D/A330Y/I332E/V264T
283	E333I	297	S239D/A330Y/I332E/V266I
284	E333Y	298	S239D/A330Y/I332E/K326E
285	K334I	299	S239D/A330Y/I332E/K326T
286	K334T	300	S239D/N297D/I332E/A330Y
287	K334F	301	S239D/N297D/I332E/A330Y /F241S/F243H/V262T/V264T
288	T335D	302	S239D/N297D/I332E/L235D
289	T335R	303	S239D/N297D/I332E/K326E

Ejemplo 2: Producción experimental y rastreo de bibliotecas de Fc

La mayor parte de la experimentación sobre las variantes de Fc se llevó a cabo en el contexto del anticuerpo anti-cáncer alemtuzumab (Campath®, una marca registrada de Ilex Pharmaceuticals LP). El alemtuzumab se une a un epítopo lineal corto dentro de su antígeno diana CD52 (Hale et al, 1990, Tissue Antigens 35: 118-127; Hale, 1995, Immunotechnology 1: 175-187). El alemtuzumab ha sido elegido como la plantilla de ingeniería primaria debido a que su eficacia se debe en parte a su capacidad para reclutar células efectoras (Dyer et al, 1989, Blood 73: 1431-1439; Friend et al, 1991, Transplant Proc 23: 2253-2254; Hale et al, 1998, Blood 92: 4581-4590; Glennie et al, 2000, Immunol Today 21: 403-410), y porque la producción y el uso de su antígeno en ensayos de unión son relativamente sencillos. Con el fin de evaluar las variantes de Fc optimizadas de la presente invención en el contexto de otros anticuerpos, se evaluaron las variantes de Fc seleccionadas en el anticuerpo anti-CD20 rituximab (Rituxan®, una marca registrada de IDEC Pharmaceuticals Corporation), el anticuerpo anti-Her2 trastuzumab (Herceptin®), una marca registrada de Genentech), y el anticuerpo anti-EGFR cetuximab (Erbitux®, una marca registrada de Imclone). El uso de alemtuzumab, rituximab, y trastuzumab para fines de selección no está destinado a limitar la presente invención a ningún anticuerpo particular.

Los genes de anticuerpo de IgG1 de longitud completa de cadena ligera (V_L-C_L) y pesada (V_H-Cγ1-Cγ2-Cγ3) para alemtuzumab, rituximab, y trastuzumab se construyeron con sitios de restricción terminales conveniente para facilitar la subclonación. Los genes se unieron en el vector de expresión de mamífero pcDNA3.1Zeo (Invitrogen). El clon V_H-Cγ1-Cγ2-Cγ3 en pcDNA3.1Zeo se utilizó como plantilla para la mutagénesis de la región Fc. Las mutaciones se introdujeron en este clon usando técnicas de mutagénesis basadas en PCR. Se secuenciaron variantes de Fc para confirmar la fidelidad de la secuencia. Los plásmidos que contenían el gen de cadena pesada (V_H-Cγ1-Cγ2-Cγ3) (naturales o variantes) fueron co-transfectados con el plásmido que contenía el gen de cadena ligera (V_L-C_L) en células 293T. Los medios se cosecharon 5 días después de la transfección. La expresión de inmunoglobulina se controló mediante el cribado del sobrenadante de cultivo de transfectomas por Western usando IgG humana anti-cabra conjugada con peroxidasa (Jackson ImmunoResearch, nº. de catálogo 109-035-088). La figura 6 muestra la expresión de alemtuzumab natural y las variantes de 1 a 10 en células 293T. Los anticuerpos se purificaron a partir del sobrenadante usando cromatografía de afinidad de proteína A (Pierce, nº de catálogo 20334). La figura 7 muestra los resultados de la purificación de proteínas para WT alemtuzumab. Las variantes del anticuerpo Fc mostraron resultados de expresión y purificación similares a WT. Algunas variantes de Fc se desglicosilaron con el fin de determinar su solución y propiedades funcionales en ausencia de hidratos de carbono. Para obtener anticuerpos desglicosiladas, se incubaron anticuerpos alemtuzumab purificados con péptido-N-glicosidasa (PNGasa F) a 37ºC durante 24 h. La figura 8 presenta un gel de SDS PAGE confirmando la desglicosilación por varias variantes de Fc y alemtuzumab WT.

Con el fin de confirmar la fidelidad funcional del alemtuzumab producido en estas condiciones, el péptido antigénico CD52, fusionado a GST, se expresó en BL21 de E. coli (DE3) bajo la inducción de IPTG. Ambas muestras no inducidas e inducidas se corrieron en un gel de SDS PAGE, y se transfirieron a una membrana de PVDF. Para el análisis Western, ya sea alemtuzumab de Sotec (concentración final 2,5 ng/ul) o medios de las células 293T transfectadas (concentración final de alemtuzumab sobre 0,1-0,2 ng/ul) se utilizaron como anticuerpo primario, y el IgG humano anti-cabra conjugado con peroxidasa se utilizó como anticuerpo secundario. La figura 9 presenta estos

resultados. La capacidad de unirse al antígeno diana confirma la fidelidad estructural y funcional de la alemtuzumab expresada. Las variantes de Fc que tienen la misma región variable como WT alemtuzumab se anticipan para mantener una afinidad de unión comparable para el antígeno.

Con el fin de cribar para la unión de Fc/FcγR, las regiones extracelulares de V158 FcγRIIIa humano, F158 FcγRIIIa humano, FcγRIIb humano, FcγRIIa humano, y FcγRIII de ratón, se expresaron y se purificaron. La figura 10 presenta un gel de SDS PAGE que muestra los resultados de la expresión y purificación de V158 FcγRIIIa humano. La región extracelular de este receptor se obtuvo mediante PCR a partir de un clon obtenido de la colección genética de mamíferos (MGC:22630). El receptor se fusiona con glutatión S-transferasa (GST) para permitir el cribado. Se transfectó FcγRIIIa marcado en células 293T, y los medios que contenían FcγRIIIa secretados se recogieron 3 días más tarde y se purificaron. Para el análisis Western, la membrana se sondó con el anticuerpo anti-GST.

La afinidad de unión a FcγRIIIa y FcγRIIb se midió para todas las variantes de Fc diseñadas usando un ensayo AlphaScreen™ (ensayo homogéneo de proximidad luminiscente amplificado (alpha), PerkinElmer, Wellesley, Mass.), un ensayo de proximidad luminiscente no radiactivo basado en perlas. La excitación láser de una perla de donante excita oxígeno, que si está lo suficientemente cerca a la perla del aceptor genera una cascada de eventos quimioluminiscentes, conduciendo en última instancia a la emisión de fluorescencia a 520-620 nm. El ensayo AlphaScreen™ se aplicó como un ensayo de competición para la detección de variantes de Fc. El anticuerpo alemtuzumab WT fue biotinilado por métodos estándar para la unión a perlas donantes de estreptavidina, y el FcγR marcado con GST se unió a perlas aceptoras de quelato de glutatión. En ausencia de variantes de Fc de competición, el anticuerpo WT y FcγR interactúan y producen una señal de 520 a 620 nm. La adición de la variante de Fc sin marcar compite con la interacción WT Fc/FcγR, reduciendo la fluorescencia cuantitativa para permitir la determinación de las afinidades de unión relativas. Todas las variantes de Fc se seleccionaron para la unión de V158 FcγRIIIa usando el ensayo AlphaScreen™. Las variantes de Fc se rastrearon en el contexto de cualquiera de alemtuzumab o trastuzumab, y las variantes de Fc seleccionadas se rastrearon también en el contexto de rituximab y cetuximab. Las variantes de Fc seleccionadas se seleccionaron posteriormente según la unión a FcγRIIb, así como otros FcγRs y ligandos de Fc.

La figura 11 muestra los datos de AlphaScreen™ para la unión a V158 FcγRIIIa humano por las variantes de Fc seleccionadas. Los datos de unión se normalizaron respecto a los valores máximo y mínimo de señal de luminiscencia para cada curva en particular, proporcionados por las líneas de base a concentraciones de anticuerpo bajas y altas, respectivamente. Los datos se ajustaron a un modelo de competición de un sitio usando regresión no lineal, y estos ajustes se representan por las curvas en la figura. Estos ajustes proporcionan la concentración inhibidora del 50% (IC50) (es decir, la concentración requerida para una inhibición del 50%) para cada anticuerpo, ilustrado por las líneas de puntos en la figura 11, permitiendo así que las afinidades de unión relativas de las variantes de Fc se determinen cuantitativamente. En este caso, el WT alemtuzumab tiene una CI50 de ($4{,}63 \times 10^{-9}$) x (2) = 9,2 nM, mientras que S239D tiene una CI50 de ($3{,}98 \times 10^{-10}$) x (2) = 0,8 nM. Por lo tanto, S239D alemtuzumab se une 9,2 nM/0,8 nM = 11,64 veces más fuertemente que WT alemtuzumab a V158 FcγRIIIa humano. Se realizaron cálculos similares para la unión de todas las variantes de Fc humana a V158 FcγRIIIa. También se seleccionaron las variantes de Fc seleccionadas para la unión a FcγRIIb humano, y los ejemplos de estos datos de unión de AlphaScreen™ se muestran en la figura 12. La Tabla 62 presenta la mejora en veces o la reducción en veces en relación con el anticuerpo parenteral para la unión de las variantes de Fc para V158 FcγRIIIa humano (columna 3) y FcγRIIb humano (columna 4), como se determina por el ensayo AlphaScreen™. Para estos datos, un número de veces por encima de 1 indican una mejora en la afinidad de unión, y un número de veces por debajo de 1 indica una reducción en la afinidad relativa de unión a WT Fc. Los datos para 1-206 y 217-218 se obtuvieron en el contexto de alemtuzumab, a excepción de los que se indican con un asterisco (*), que se ensayaron en el contexto de trastuzumab. Se obtuvieron todos los datos de 207-216 y 219-303 en el contexto de trastuzumab.

Tabla 62

Variante	Sustitución(Sustituciones)	Veces de FcγRIIIa	Veces de FcγRIIb	Veces de FcγIIIa: Veces de FcγIIb
1	V264A	0,53		
2	V264L	0,56		
3	V264I	1,43		
4	F241W	0,29		
5	F241L	0,26		
6	F243W	0,51		
7	F243L	0,51		

8	F241L/F243L/V262I/V264I	0,09		
9	F241W/F243W	0,07		
10	F241W/F243W/V262A/V264A	0,04		
11	F241L/V262I	0,06		
12	F243L/V264I	1,23		
13	F243L/V262I/V264W	0,02		
14	F241Y/F243Y/V262T/V264T	0,05		
15	F241E/F243R/V262E/V264R	0,05		
16	F241E/F243Q/V262T/V264E	0,07		
17	F241R/F243Q/V262T/V264R	0,02		
18	F241E/F243Y/V262T/V264R	0,05		
19	L328M	0,21		
20	L328E	0,12		
21	L328F	0,24		
22	I332E	6,72	3,93	1,71
23	L328M/I332E	2,60		
24	P244H	0,83		
25	P245A	0,25		
26	P247V	0,53		
27	W313F	0,88		
28	P244H/P245A/P247V	0,93		
29	P247G	0,54		
30	V264I/I332E	12,49	1,57*	7,96
31	F241E/F243R/V262E/V264R/I332E	0,19		
32	F241E/F243Q/V262T/V264E/I332E			
33	F241R/F243Q/V262T/V264R/I332E			
34	F241E/F243Y/V262T/V264R/I332E	0,10		
35	S298A	2,21		
36	S298A/I332E	21,73		
37	S298A/E333A/K334A	2,56		
41	S239E/I332E	5,80	3,49	1,66
42	S239Q/I332E	6,60	4,68	1,41
43	S239E	10,16		
44	D265G	<0,02		
45	D265N	<0,02		

46	S239E/D265G	<0,02		
47	S239E/D265N	0,02		
48	S239E/D265Q	0,05		
49	Y296E	0,73	1,11	0,66
50	Y296Q	0,52	0,43	1,21
51	S298T	0,94	<0,02	
52	S298N	0,41	<0,02	
53	T299I	<0,02		
54	A327S	0,23	0,39	0,59
55	A327N	0,19	1,15	0,17
56	S267Q/A327S	0,03		
57	S267L/A327S	<0,02		
58	A327L	0,05		
59	P329F	<0,02		
60	A330L	0,73	0,38	1,92
61	A330Y	1,64	0,75	2,19
62	I332D	17,80	3,34	5,33
63	N297S	<0,02		
64	N297D	<0,02		
65	N297S/I332E	<0,02		
66	N297D/I332E	0,08	<0,02	
67	N297E/I332E	<0,02		
68	D265Y/N297D/I332E	<0,02		
69	D265Y/N297D/T299L/I332E	<0,02		
70	D265F/N297E/I332E	<0,02		
71	L328I/I332E	7,03		
72	L328Q/I332E	1,54		
73	I332N	0,39		
74	I332Q	0,37		
75	V264T	2,73		
76	V264F	0,16		
77	V240I	3,25		
78	V263I	0,10		
79	V266I	1,86		
80	T299A	0,03		

81	T299S	0,15		
82	T299V	<0,02		
83	N325Q	<0,02		
84	N325L	<0,02		
85	N325I	<0,02		
86	S239D	11,64	4,47*	2,60
87	S239N	<0,02		
88	S239F	0,22	<0,02	
89	S239D/I332D	14,10		
90	S239D/I332E	56,10	19,71*	2,85
91	S239D/I332N	7,19		
92	S239D/I332Q	9,28		
93	S239E/I332D	9,33		
94	S239E/I332N	11,93		
95	S239E/I332Q	3,80		
96	S239N/I332D	3,08		
97	S239N/I332E	14,21		
98	S239N/I332N	0,43		
99	S239N/I332Q	0,56		
100	S239Q/I332D	5,05		
101	S239Q/I332N	0,39		
102	S239Q/I332Q	0,59		
103	K326E	3,85		
104	Y296D	0,62		
105	Y296N	0,29		
106	F241Y/F243Y/V262T/V264T/ N297D/I332E	0,15		
107	A330Y/I332E	12,02	4,40	2,73
108	V264I/A330Y/I332E	12,00	3,54	3,39
109	A330L/I332E	10,34	2,03	5,09
110	V264I/A330L/I332E	11,15	1,79	6,23
111	L234D	0,21		
112	L234E	1,34	2,21	0,61
113	L234N	0,56	1,39	0,40
114	L234Q	0,37		
115	L234T	0,35		

116	L234H	0,33		
117	L234Y	1,42	1,08	1,31
118	L234I	1,55	1,14	1,36
119	L234V	0,38		
120	L234F	0,30		
121	L235D	1,66	3,63	0,46
122	L235S	1,25		
123	L235N	0,40		
124	L235Q	0,51		
125	L235T	0,52		
126	L235H	0,41		
127	L235Y	1,19	10,15	0,12
128	L235I	1,10	0,94	1,17
129	L235V	0,48		
130	L235F	0,73	3,53	0,21
131	S239T	1,34		
132	S239H	0,20		
133	S239Y	0,21		
134	V240A	0,70	0,14	5,00
135	V240T			
136	V240M	2,06	1,38	1,49
137	V263A			
138	V263T	0,43		
139	V263M	0,05		
140	V264M	0,26		
141	V264Y	1,02	0,27	3,78
142	V266A	<0,02		
143	V266T	0,45		
144	V266M	0,62		
145	E269H	<0,02		
146	E269Y	0,12		
147	E269F	0,16		
148	E269R	0,05		
149	Y296S	0,12		
150	Y296T	<0,02		

151	Y296L	0,22		
152	Y296I	0,09		
153	A298H	0,27		
154	T299H	<0,02		
155	A330V	0,43		
156	A330I	1,71	0,02	85,5
157	A330F	0,60		
158	A330R	<0,02		
159	A330H	0,52		
160	N325D	0,41		
161	N325E	<0,02		
162	N325A	0,11		
163	N325T	1,10		
164	N325V	0,48		
165	N325H	0,73		
166	L328D/I332E	1,34		
167	L328E/I332E	0,20		
168	L328N/I332E	<0,02		
169	L328Q/I332E	0,70		
170	L328V/I332E	2,06		
171	L328T/I332E	1,10		
172	L328H/I332E	<0,02		
173	L328I/I332E	3,49		
174	L328A	0,20		
175	I332T	0,72		
176	I332H	0,46		
177	I332Y	0,76		
178	I332A	0,89		
179	S239E/V264I/I332E	15,46		
180	S239Q/V264I/I332E	2,14		
181	S239E/V264I/A330Y/I332E	8,53		
182	S239E/V264I/S298AIA330Y/I332E			
183	S239D/N297D/I332E	0,28		
184	S239E/N297D/I332E	0,06		
185	S239D/D265V/N297D/I332E	0,03		

186	S239D/D265I/N297D/I332E	0,01		
187	S239D/D265L/N297D/I332E	<0,02		
188	S239D/D265F/N297D/I332E	<0,02		
189	S239D/D265Y/N297D/I332E	0,02		
190	S239D/D265H/N297D/I332E	0,04		
191	S239D/D265T/N297D/I332E	<0,02		
192	V264E/N297D/I332E	0,05		
193	Y296D/N297D/I332E			
194	Y296E/N297D/I332E	<0,02		
195	Y296N/N297D/I332E	0,04		
196	Y296Q/N297D/I332E	<0,02		
197	Y296H/N297D/I332E	<0,02		
198	Y296T/N297D/I332E	<0,02		
199	N297D/T299V/I332E	<0,02		
200	N297D/T299I/I332E	<0,02		
201	N297D/T299L/I332E	<0,02		
202	N297D/T299F/I332E	<0,02		
203	N297D/T299H/I332E	<0,02		
204	N297D/T299E/I332E	<0,02		
205	N297D/A330Y/I332E	0,43		
206	N297D/S298A/A330Y/I332E	0,16		
207	S239D/A330Y/I332E	129,58		
208	S239N/A330Y/I332E	14,22		
209	S239D/A330L/I332E	138,63	7,50	18,48
210	S239N/A330L/I332E	12,95		
211	V264I/S298A/I332E	16,50		
212	S239D/S298A/I332E	295,16	6,16	47,92
213	S239N/S298A/I332E	32,14	5,15	6,24
214	S239D/V264I/I332E	36,58	14,39	2,54
215	S239D/V264I/S298A/I332E			
216	S239D/V264I/A330L/I332E			
217	L328N	0,59		
218	L328H	<0,02		
219	S239D/I332E/A330I	59,1		
220	N297D/I332E/S239D/A330L			

221	P230A	1,09		
222	E233D	0,85		
223	P230A/E233D	0,92		
224	P230A/E233D/I332E	1,87		
225	S267T			
226	S267H			
227	S267D			
228	S267N			
229	E269T	<0,02		
230	E269L	<0,02		
231	E269N	<0,02		
232	D270Q	<0,02		
233	D270T	<0,02		
234	D270H	<0,02		
235	E272S			
236	E272K			
237	E272I			
238	E272Y	8,70		
239	V273I	0,79		
240	K274T	1,41		
241	K274E	6,11		
242	K274R	1,41		
243	K274L	1,09		
244	K274Y	1,06		
245	F275W	1,11		
246	N276S	0,41		
247	N276E	0,87		
248	N276R	0,66		
249	N276L	1,07		
250	N276Y	0,56		
251	Y278T	1,87		
252	Y278E	0,90		
253	Y278K			
254	Y278W	0,41		
255	E283R	0,67		

256	V302I	1,01		
257	E318R	1,06		
258	K320T			
259	K320D			
260	K320I			
261	K322T			
262	K322H			
263	V323I	0,83		
264	S324T			
265	S324D	1,07		
266	S324R	0,71		
267	S324I	1,15		
268	S324V	1,17		
269	S324L	<0,02		
270	S324Y	0,98		
271	K326L			
272	K326I	1,43		
273	K326T	1,88		
274	A327D	<0,02		
275	A327T	<0,02		
276	A330S			
277	A330W			
278	A330M			
279	P331V			
280	P331H			
281	E333T	0,78		
282	E333H	0,75		
283	E333I			
284	E333Y			
285	K334I			
286	K334T			
287	K334F			
288	T335D	2,79		
289	T335R	2,58		
290	T335Y	1,56		

291	L234I/L235D	0,07		
292	V240I/V266I	1,72		
293	S239D/A330Y/I332E/L234I	22,39		
294	S239D/A330Y/I332E/L235D	7,04		
295	S239D/A330Y/I332E/V240I	27,97		
296	S239D/A330Y/I332E/V264T	17,72		
297	S239D/A330Y/I332E/V266I			
298	S239D/A330Y/I332E/K326E	64,14		
299	S239D/A330Y/I332E/K326T	59,03		
300	S239D/N297D/I332E/A330Y	<0,02		
301	S239D/N297D/I332E/A330Y/ F241S/F243H/V262T/V264T	<0,02		
302	S239D/N297D/I332E/L235D			
303	S239D/N297D/I332E/K326E			

Ejemplo 3: Unión selectivamente potenciada a FcγRs

Un número de prometedoras variantes de Fc con propiedades optimizadas se obtuvieron del rastreo de FcγRIIIa y FcγRIIb. La Tabla 62 proporciona variantes de Fc que se unen más fuertemente a FcγRIIA, y por lo tanto son candidatos para la mejora de la función efectora de anticuerpos y fusiones de Fc. Estos incluyen un número de variantes que comprenden sustituciones en 239, 264, 272, 274, 330, y 332. Las figuras 13a y 13b muestra los datos de unión de AlphaScreen™ para algunos de estos variantes de Fc. La mayoría de estas variantes de Fc proporciona sustancialmente mayores mejoras de unión a FcγRIIIA respecto a S298A/E333A/K334A.

Se rastrearon variantes de Fc seleccionadas en el contexto de múltiples anticuerpos con el fin de investigar la amplitud de su aplicabilidad. Los datos de AlphaScreen™ para la unión de variantes de Fc seleccionadas a V158 FcγRIIIa humano en el contexto de trastuzumab, rituximab, y cetuximab se muestran en las Figuras 14a, 14b, 15a, y 15b. Junto con los datos de alemtuzumab en la figura 13, los resultados indican mejoras de la unión coherente independientemente del contexto del anticuerpo y, por lo tanto, que las variantes de Fc de la presente invención son ampliamente aplicables a anticuerpos y fusiones de Fc.

Se han obtenido variantes de Fc que muestran de forma diferencial una mayor unión a FcγRIIb respecto a FcγRIIIa. Como se ha discutido, la función efectora óptima puede resultar de variantes de Fc en el que la afinidad para la activación de FcγRs es mayor que la afinidad para el FcγRIIb inhibidor. Los datos de AlphaScreen™ comparando directamente la unión a FcγRIIIa y FcγRIIb para dos variantes de Fc con este perfil de especificidad se muestran en las figuras 16a y 16b. Este concepto se puede definir cuantitativamente como el número de veces de mejora o –la reducción de la activación de FγR (Tabla 62, columna 3), dividido por el número de veces de mejora o -reducción del inhibidor FcγR (Tabla 62, columna 4), denominado en este documento como la relación de veces de FcγRIIIa:veces de FcγRIIb. Este valor se proporciona en la Columna 5 en la Tabla 62. La Tabla 62 muestra que las variantes de Fc proporcionan este perfil de especificidad, con una relación de veces de FcγRIIA:veces de FcγRIIb tan alta como 86:1.

Algunas de las variantes de Fc más prometedoras de la presente descripción para mejorar la función efectora tienen tanto aumentos sustanciales en afinidad para FcγRγIIIa como favorables relaciones de veces de FcγRIIA:veces de FcγRIIb. Estos incluyen, por ejemplo, S239D/I332E (veces de FcγRIIIa = 56, veces de FcγRIIIa: veces de FcγRIIb = 3), S239D/A330Y/I332E (veces de FcγRIIIa = 130), S239D/A330L/I332E (veces de FcγRIIIa = 139, veces de FcγRIIIa:veces de FcγRIIb = 18), y S239D/S298A/I332E (veces de FcγRIIIa = 295, veces de FcγRIIIa:veces de FcγRIIb = 48). La figura 17 muestra los datos de unión de AlphaScreen™ para estas y otras variantes de Fc al V158 FcγRIIIa humano.

Debido a que hay un número de FcγRs que contribuyen a la función efectora, puede valer la pena cribar adicionalmente las variantes de Fc contra otros receptores. La figura 18 muestra los datos de AlphaScreen™ para la unión de variantes de Fc seleccionadas frente a R131 FcγRIIA humano. Como puede verse, las variantes antes mencionadas con mejoras de unión favorables y perfiles de especificidad también muestran una mayor unión a este receptor activador. El uso de FcγRIIIa, FcγRIIb, y FcγRIIc para el cribado no está destinado a limitar la prueba

experimental a estos FcγRs particulares; otros FcγRs se contemplan para la detección, incluyendo, pero no limitados a, la miríada de isoformas y alotipos de FcγRI, FcγRII, y FcγRIII de humanos, ratones, ratas, monos, y similares, como se describe anteriormente.

Tomados en conjunto, los datos de unión a FcγR proporcionados en las figuras 11-18 y la Tabla 62 indican que un número de sustituciones en las posiciones 234, 235, 239, 240, 243, 264, 266, 272, 274, 278, 325, 328, 330, y 332 son candidatos prometedores para la mejora de la función efectora de los anticuerpos y las fusiones de Fc. Debido a que las combinaciones de algunas de estas sustituciones han resultado típicamente en mejoras de unión aditivas o sinérgicas, se prevé que las combinaciones que todavía no han sido exploradas de las variantes de Fc proporcionadas en la Tabla 62 también proporcionarán resultados favorables. Por lo tanto, se contemplan todas las combinaciones de las variantes de Fc en la Tabla 62. Del mismo modo, las combinaciones de cualquiera de las variantes de Fc en la Tabla 62 con otras variantes de Fc descubiertas o por descubrir también pueden proporcionar propiedades favorables, y también se contemplan estas combinaciones. Además, se prevé de estos resultados que otras sustituciones en las posiciones 234, 235, 239, 240, 243, 264, 266, 325, 328, 330, y 332 pueden también proporcionar mejoras favorables de unión y especificidades y, por lo tanto, se contemplan sustituciones en estas posiciones distintas de las presentadas en la Tabla 62.

Ejemplo 4: Unión reducida a FcγRs

Según lo discutido, aunque existe la necesidad de una mayor función efectora, para algunos anticuerpos terapéuticos, puede desearse una función efectora reducida o eliminada. Varias variantes de Fc en la Tabla 62 sustancialmente reducen o eliminan la unión a FcγR y, por lo tanto, pueden encontrar uso en anticuerpos y fusiones de Fc, en los que la función efectora no sea deseable. Los datos de unión de AlphaScreen™ para algunos ejemplos de tales variantes se muestran en las figuras 19a y 19b. Estas variantes de Fc, así como su uso en combinación, pueden encontrar uso para la eliminación de la función efectora cuando se desee, por ejemplo, en los anticuerpos y fusiones de Fc cuyo mecanismo de acción consista en bloquear o antagonizar, pero no matar, las células portadoras del antígeno diana.

Ejemplo 5: Variantes de Fc no glicosiladas

Como se ha discutido, un objetivo de los experimentos actuales era obtener variantes de Fc optimizadas no glicosiladas. Varias variantes de Fc proporcionan un progreso significativo hacia este objetivo. Debido a que es el sitio de glicosilación, la sustitución en N297 da como resultado un Fc no glicosilado. Considerando que todas las demás variantes de Fc que comprenden una sustitución en N297 eliminan completamente la unión de FcγR, N297D/I332E tiene una afinidad de unión significativa para FcγRIIIa, como se muestra en la Tabla 62 y se ilustra en la figura 20. La razón exacta de este resultado es incierta en ausencia de una estructura de alta resolución para esta variante, a pesar de que las predicciones de detección computacionales sugieren que es posiblemente debido a una combinación de nuevas interacciones favorables de Fc/FcγR y propiedades electrostáticas favorables. De hecho, se prevén otras sustituciones electrostáticas para una mayor optimización del Fc no glicosilado. La Tabla 62 muestra que otras variantes de Fc no glicosiladas tales como S239D/N297D/I332E y N297D/A330Y/I332E proporcionan mejoras de unión que traen afinidad para FcγRIIIa entre 0,28 y 0,43 veces respectivamente de alemtuzumab WT glicosilado. Se contemplan combinaciones de estas variantes con otras variantes de Fc que mejoran la unión de FcγR, con el objetivo de obtener variantes de Fc no glicosiladas que se unen a uno o más FcγRs con una afinidad que es aproximadamente la misma, o incluso mejor, que el Fc original glicosilado. Un conjunto adicional de variantes de Fc prometedoras proporcionan mejoras de estabilidad y solubilidad en ausencia de hidratos de carbono. Las variantes de Fc que comprenden sustituciones en las posiciones 241, 243, 262, y 264, posiciones que no median la unión de FγR, pero que realmente determinan la interfaz entre el hidrato de carbono y Fc, eliminan la unión de FγR, presumiblemente debido a que perturban la conformación de los hidratos de carbono. En la forma desglicosilada, sin embargo, las variantes de Fc F241E/F243R/V262E/V264R, F241E/F243Q/V262T/V264E, F241R/F243Q/V262T/V264R, y F241E/F243Y/V262T/V264R muestran una unión más fuerte a FcγRIIIa que en la forma glicosilada, como se muestra por los datos de AlphaScreen™ en la figura 21. Este resultado indica que estas son las posiciones clave para la optimización de la estructura, estabilidad, solubilidad, y la función de Fc no glicosilado. En conjunto, estos resultados sugieren que la ingeniería de proteínas se puede utilizar para restaurar las propiedades funcionales y de solución favorables de anticuerpos y fusiones de Fc en ausencia de hidratos de carbono, y allanar el camino para los anticuerpos no glicosilados y las fusiones de Fc con propiedades de disolución favorable y funcionalidad completa que comprenden sustituciones en estas y otras posiciones de Fc.

Ejemplo 6: Afinidad de las variantes de Fc para formas polimórficas de FcγRIIIa

Como se discutió anteriormente, un parámetro importante de la función efectora mediada por Fc es la afinidad de Fc para ambas formas polimórficas V158 y F158 de FcγRIIIa. Los datos de AlphaScreen™ comparando la unión de variantes seleccionadas frente a los dos alotipos de receptores se muestran en la figura 22a (V158 FcγRIIIa) y la figura 22b (F158 FcγRIIIa). Como puede verse, todas las variantes mejoran la unión de los dos alotipos de FcγRIIIa. Estos datos indican que las variantes de Fc de la presente invención con una función efectora mejorada serán ampliamente aplicables a toda la población de pacientes, y que la mejora de la eficacia clínica será potencialmente mayor para la población de pacientes de respuesta baja que más lo necesitan.

Las afinidades de unión de FcγR de estas variantes de Fc se investigaron adicionalmente usando resonancia de plasmón de superficie (SPR) (Biacore, Uppsala, Suecia). La SPR es un método sensible y extremadamente cuantitativo que permite la medición de las afinidades de unión de las interacciones proteína-proteína, y que se ha utilizado para medir de manera eficaz la unión de Fc/FcγR (Radaev et al, 2001, J Biol Chem 276: 16478-16483). Así, la SPR proporciona un excelente ensayo de unión complementario al ensayo de AlphaScreen™. Fue inmovilizado V158 FcγRIIIa marcado con His a un chip SPR, y los anticuerpos alemtuzumab de WT y la variante Fc se hicieron fluir sobre el chip a un intervalo de concentraciones. Las constantes de unión se obtuvieron a partir del ajuste de los datos utilizando métodos de ajuste de curvas estándar. La Tabla 63 presenta constantes de disociación (Kd) para la unión de las variantes de Fc seleccionadas respecto a V158 FcγRIIIa y F158 FcγRIIIa obtenidas usando SPR, y compara estas con las IC50 obtenidas a partir del ensayo AlphaScreen™. Al dividir la Kd y la IC50 para cada variante por la de WT alemtuzumab, se obtienen el número de mejoras (veces) respecto a WT.

Tabla 63

	SPR V158 FcγRIIIa		SPR F158 FcγRIIIa		AlphaScreen™ V158 FcγRIIIa		AlphaScreen™ F158 FcγRIIIa	
	Kd (nM)	Veces	Kd (nM)	Veces	IC50 (nM)	Veces	IC50 (nM)	Veces
WT	68		730		6,4		17,2	
V264I	64	1,1	550	1,3	4,5	1,4	11,5	1,5
I332E	31	2,2	72	10,1	1,0	6,4	2,5	6,9
V264I/I332E	17	4,0	52	14,0	0,5	12,8	1,1	15,6
S298A	52	1,3	285	2,6	2,9	2,2	12,0	1,4
S298A/E333A/ K334A	39	1,7	156	4,7	2,5	2,6	7,5	2,3

Los datos de SPR corroboran las mejoras respecto a la afinidad de FcγRIIIa observada por el ensayo AlphaScreen™. La Tabla 63 indica además la superioridad de V264I/I332E y I332E respecto a S298A y S298A/E333A/K334A; mientras que S298A/E333A/K334A mejora la unión de Fc respecto a V158 y F158 FcγRIIIa en 1,7 veces y 4,7 veces, respectivamente, I332E muestra mejoras de unión de 2,2 veces y 10,1 veces respectivamente, y V264I/I332E muestra mejoras de unión de 4,0 veces y 14 veces, respectivamente. También, digno de mención es que la afinidad de V264I/I332E para F158 FcγRIIIa (52 nM) es mejor que la de WT para el alotipo V158 (68 nM), lo que sugiere que esta variante Fc, así como aquellas con mejoras aún mayores en la unión, puede proporcionar una eficacia clínica de los anticuerpos para la población de pacientes de respuesta baja para lograr que actualmente sea posible una respuesta alta. La correlación entre las mediciones de unión de SPR y AlphaScreen™ se muestran en las figuras 23a-23d. Las figuras 23a y 23b muestran las correlaciones Kd-IC50 para la unión a V158 FcγRIIIa y F158 FcγRIIIa, respectivamente, y las figuras 23c y 23d muestran las correlaciones de mejora en veces para la unión a V158 FcγRIIIa y F158 FcγRIIIa, respectivamente. Los buenos ajustes de estos datos a líneas rectas (r^2 = 0,9, r^2 = 0,84, r^2 = 0,98, y r^2 = 0,90) apoyan la exactitud de las mediciones de AlphaScreen™, y validan su uso para la determinación de las afinidades de unión de FcγR relativas de las variantes de Fc.

También fueron adquiridos datos de SPR para la unión de las variantes Fc de trastuzumab seleccionadas frente a V158 FcγRIIIa, F158 FcγRIIIa y FcγRIIb humano. Estos datos se muestran en la Tabla 64. Las variantes Fc probadas muestran mejoras de unión sustanciales al receptor activante FcγRIIIa, con una unión de más de 100 veces más fuerte observada para la interacción de S239D/I332E/S298A con F158 FcγRIIIa. Además, para los mejores aglutinantes de FcγRIIIa, se observan relaciones de F158 FcγRIIIa/FcγRIb de 3-4.

Tabla 64

	SPR V158 FcγRIIIa		SPR F158 FcγRIIIa		SPR FcγRIIb	
	kd (nM)	Veces	kd (nM)	Veces	IC50 (nM)	Veces
WT	363,5		503		769	
V264I/I332E	76,9	4,7	252	2,0	756	1,0
V264I/I332E/ A330L	113,0	3,2	88	5,7	353	2,2
S239D/I332E/ A330L	8,2	44,3	8,9	56,5	46	16,7
S239D/I332E/ S298A	8,7	41,8	4,9	102,7	32	24,0
S239D/I332E/ V264I/A330L	12,7	28,6	6,3	79,8	35	22,0

Ejemplo 7: ADCC de variantes de Fc

Con el fin de determinar el efecto sobre la función efectora, se realizaron ensayos de ADCC basados en células en variantes de Fc seleccionadas. Se midió el ADCC usando el ensayo de citotoxicidad basado en EuTDA DELFIA® (Perkin Elmer, MA) con monocitos purificados de sangre periférica humana (PBMC) como células efectoras. Las células diana se cargaron con BATDA a 1 x 10^6 células/ml, se lavaron 4 veces y se sembraron en placa de 96 pocillos a 10.000 células/pocillo. Las células diana fueron entonces opsonizadas usando la variante de Fc o anticuerpos WT a la concentración final indicada. Las PBMC humanas, aisladas a partir de la capa leucocitaria se añadieron en el indicado exceso en veces de células diana y la placa se incubó a 37ºC durante 4 h. Las células co-cultivadas se centrifugaron a 500 x g, los sobrenadantes se transfirieron a una placa separada y se incubaron con solución de Eu, y las unidades relativas de fluorescencia se midieron usando un lector HT α-FP Packard Fusion™ (Packard Biosciences, Ill.). Las muestras se realizaron por triplicado para proporcionar estimaciones de error (n = 3, +/- SD). Las PBMCs fueron alotipadas para el V158 o alotipo F158 FcγRIIIa usando PCR.

Se realizaron ensayos de ADCC en la variante de Fc y alemtuzumab WT utilizando células diana de linfoma DOHH-2. La figura 24a es un gráfico de barras que muestra el ADCC de estas proteínas a 10 ng/ml de anticuerpo. Los resultados muestran que las variantes Fc alemtuzumab I332E, V264I, y I332E/V264I han mejorado sustancialmente el ADCC en comparación con WT alemtuzumab, con las mejoras de ADCC relativas proporcionales a su mejoras de unión a FcγRIIIa, como se indica mediante el ensayo de AlphaScreen™ y SPR. La dependencia de la dosis de ADCC de la concentración de anticuerpo se muestra en la figura 24b. Los datos de unión se normalizaron respecto al mínimo y máximo de la señal de fluorescencia para cada curva en particular, proporcionada por las líneas de base a concentraciones de anticuerpo bajas y altas, respectivamente. Los datos se ajustaron a un modelo dosis-respuesta sigmoidal usando regresión no lineal, representado por la curva en la figura. Los ajustes permiten la determinación de la concentración efectiva al 50% (EC50) (es decir, la concentración requerida para un 50% de eficacia), que proporciona las mejoras relativas frente a ADCC para cada variante de Fc. Las EC50 para estos datos de unión son análogas a las CI50 obtenidas a partir de los datos de competición de AlphaScreen™, y la derivación de estos valores es, por tanto, análoga a la descrita en el Ejemplo 2 y la figura 11. En la figura 24b, los log(EC50), obtenidos a partir de los ajustes a los datos, para WT, V264I/I332E, y S239D/I332E alemtuzumab son 0,99, 0,60, y 0,49, respectivamente y, por lo tanto, sus respectivos EC50 son 9,9, 4,0, y 3,0. Por lo tanto, V264I/I332E y S239E/I332E proporcionan una mejora de 2,5 veces y 3,3 veces, respectivamente, en ADCC respecto a WT alemtuzumab utilizando PBMC que expresan V158/F158 FcγRIIIa heterocigotos. Estos datos se resumen en la Tabla 65 a continuación.

Tabla 65

	log(EC50)	EC50 (ng/ml)	Mejora en veces respecto a WT
WT	0,99	9,9	
V264I/I332E	0,60	4,0	2,5
S239D/I332E	0,49	3,0	3,3

Con el fin de determinar si estas mejoras de ADCC son ampliamente aplicables a los anticuerpos, se evaluaron las variantes de Fc seleccionadas en el contexto de trastuzumab y rituximab. Se realizaron ensayos de ADCC en la variante de Fc y trastuzumab WT utilizando dos líneas celulares diana de carcinoma de mama BT474 y Sk-BR-3. La figura 25a muestra un gráfico de barras que ilustra ADCC en 1 ng/ml de anticuerpo. Los resultados indican que

V264I y V264I/I332E trastuzumab proporcionan un sustancialmente mejor ADCC en comparación con WT trastuzumab, siendo las mejoras de ADCC relativas proporcionales a sus mejoras de unión frente a FcγRIIIa como se indica mediante el ensayo de AlphaScreen™ y SPR. Las figuras 25b y 25c muestran la dependencia de la dosis de ADCC sobre la concentración de anticuerpo para las variantes de Fc seleccionadas. Las EC50 obtenidas de los ajustes de estos datos y las mejoras en número de veces relativas en ADCC se proporcionan en la Tabla 66 a continuación. Mejoras significativas de ADCC se observan para I332E trastuzumab cuando se combina con A330L y A330Y. Además, S239D/A330L/I332E proporciona una mejora de ADCC sustancial, mayor que 300 veces para las PBMC que expresan F158/F158 FcγRIIA homocigotos, en relación con WT trastuzumab y S298A/K333A/K334A, consistente con los datos de unión de FcγR observados por el ensayo de AlphaScreen™ y SPR.

Tabla 66

	log(EC50)	EC50 (ng/ml)	Mejora en veces respecto a WT
Figura 25b			
WT	1,1	11,5	
I332E	0,34	2,2	5,2
A330Y/I332E	-0,04	0,9	12,8
A330L/I332E	0,04	1,1	10,5
Figura 25d			
WT	-0,15	0,71	
S298A/E333A/K334A	-0,72	0,20	3,6
S239D/A330L/I332E	-2,65	0,0022	323

Se realizaron ensayos de ADCC en V264I/I332E, WT, y S298A/E333A/K334A rituximab usando células diana de linfoma WIL2-S. La figura 26a presenta un gráfico de barras que muestra el ADCC de estas proteínas a 1 ng/ml de anticuerpo. Los resultados indican que V264I/I332E rituximab ofrece una mejor sustancial de ADCC con relación a WT rituximab, así como un ADCC superior respecto a S298A/D333A/K334A, en consonancia con las mejoras de unión de FcγRIIIa observadas por el ensayo de AlphaScreen™ y SPR. Las figuras 26b y 26c muestran la dependencia de la dosis de ADCC de la concentración de anticuerpo para las variantes de Fc seleccionadas. Las EC50 obtenidas de los ajustes de estos datos y las mejoras en número de veces relativo en ADCC se proporcionan en la Tabla 67 a continuación. Como puede verse, S239D/I332E/A330L rituximab proporciona una mejora mayor que 900 veces en EC50 respecto a WT para las PBMC que expresan F158/F158 FcγRIIIa homocigotos. Las diferencias en las mejoras de ADCC observadas para alemtuzumab, trastuzumab, y rituximab son probablemente debidas a la utilización de diferentes PBMC, diferentes anticuerpos y diferentes líneas de células diana.

Tabla 67

	log(EC50)	EC50 (ng/ml)	Mejora en veces respecto a WT
Figura 26b			
WT	0,23	1,7	
S298A/E333A/K334A	-0,44	0,37	4,6
V264I/I332E	-0,83	0,15	11,3
Figura 26c			
WT	0,77	5,9	
S239D/I332E/A330L	-2,20	0,0063	937

Hasta el momento, los datos de ADCC se han normalizado de tal manera que las líneas de base inferior y superior de cada polipéptido Fc se establecen en la señal de fluorescencia mínima y máxima para ese polipéptido Fc específico, siendo típicamente la señal de fluorescencia a las concentraciones de anticuerpos más bajas y altas,

respectivamente. Aunque la presentación de los datos en esta materia permite una comparación directa visual de las EC50 relativas de diferentes anticuerpos (por eso la razón para la presentarlos de esta manera), la información importante sobre el nivel absoluto de la función efectora alcanzado por cada polipéptido de Fc se pierde. Las figuras 27a y 27b presentan datos ADCC basados en células para trastuzumab y rituximab, respectivamente, que se han normalizado de acuerdo con la lisis mínima absoluta para el ensayo, proporcionados por la señal de fluorescencia de las células diana en presencia de PBMC solas (sin anticuerpo), y la lisis máxima absoluta para el ensayo, proporcionada por la señal de fluorescencia de las células diana en presencia de Triton X1000. Los gráficos muestran que los anticuerpos no sólo difieren en su EC50, reflejando su potencia relativa, sino también en el nivel máximo de ADCC alcanzable por los anticuerpos a concentraciones saturantes, lo que refleja su eficacia relativa. Hasta ahora, estos dos términos, la potencia y la eficacia, se han usado libremente para referirse a las propiedades clínicas deseadas. En el contexto experimental actual, sin embargo, se indican como cantidades específicas, y por lo tanto se definen en este documento de forma explícita. Por “potencia”, tal como se utiliza en el contexto experimental actual, se entiende la EC50 de un anticuerpo o fusión de Fc. Por “eficacia”, como se usa en el contexto experimental actual, se entiende la función efectora posible máxima de un anticuerpo o fusión de Fc en los niveles de saturación. Además de las mejoras sustanciales frente a la potencia descrita hasta ahora, las figuras 27a y 27b muestran que las variantes de Fc de la presente invención proporcionan mejoras mayores que el 100% en la eficacia respecto al WT trastuzumab y rituximab.

Un parámetro crítico que regula la eficacia clínica de los anticuerpos contra el cáncer es el nivel de expresión del antígeno diana en la superficie de las células tumorales. Por lo tanto, una importante ventaja clínica de las variantes de Fc que aumentan el ADCC puede ser que permite el reconocimiento de tumores que expresan niveles más bajos de antígeno. Para probar esta hipótesis, se ensayaron los anticuerpos trastuzumab WT y variante Fc según su capacidad para mediar ADCC frente a diferentes líneas celulares que expresaban diferentes niveles de antígeno diana HER2/neu. Se realizaron ensayos de ADCC con varias líneas celulares que expresaban niveles de amplificados a bajos del receptor Her2/neu, incluyendo Sk-Br-3 (1×10^6 copias), SKOV3 ($\sim 1 \times 10^5$), OVCAR3 ($\sim 1 \times 10^4$) y MCF-7 ($\sim 3 \times 10^3$ copias), utilizando el kit de citotoxicidad DELFIA EuTDA (PerkinElmer, Boston, Mass.). Las células diana se cargaron con BATDA en lote durante 25 minutos, se lavaron varias veces con medio y se sembraron a 10.000 células por pocillo en placas de 96 pocillos. Las células diana se opsonizaron durante 15 minutos con varios anticuerpos y concentraciones (conc. final que va desde 100 ng/ml a 0,0316 ng/ml en etapas de ½log, incluyendo control sin tratamiento). Las PBMC humanas, aisladas de la capa leucocitaria y alotipadas como F158/F158 FcγRIIIa homocigoto a continuación se añadieron a las células opsonizadas a en un exceso de 25 veces y se co-cultivaron a 37ºC durante 4 hrs. Después de esto, las placas se centrifugaron, se retiraron los sobrenadantes y se trataron con solución Eu3 de +, y se midieron las unidades de fluorescencia relativa (correlacionando con el nivel de lisis celular) usando un lector HT α-FP Packard Fusion™ (PerkinElmer, Boston, Mass.). El experimento se llevó a cabo por triplicado. La figura 28 muestra los datos de ADCC comparativos con WT y la variante de Fc trastuzumab frente a las cuatro diferentes líneas celulares Her2/neu$^+$. Las variantes S239D/I332E y S239D/I332E/A330L proporcionan mejoras de ADCC sustanciales respecto al WT trastuzumab a niveles de expresión altos, moderados, y bajos de antígeno diana. Este resultado sugiere que las variantes de Fc de la presente invención pueden ampliar la ventana terapéutica de los anticuerpos anti-cancerosos.

Las células asesinas naturales (NK) son una subpoblación de células presentes en las PBMC que se cree que desempeñan un papel importante en ADCC. Las variantes de Fc seleccionadas se ensayaron en un ensayo de ADCC basado en células en el que se utilizaron células asesinas naturales (NK) en lugar de PBMC como células efectoras. En este ensayo, la liberación de lactosa deshidrogenasa endógena (LDH), en lugar de EuTDA, se utilizó para monitorizar la lisis celular. La figura 29 muestra que las variantes de Fc muestran una mejora de ADCC sustancial cuando se utilizan las células NK como células efectoras. Además, junto con los ensayos anteriores, los resultados indican que las variantes de Fc de la presente invención muestran mejoras sustanciales de ADCC, independientemente del tipo de célula efectora o el método de detección utilizado.

Ejemplo 8: ADCP de variantes de Fc

Otra función efectora importante mediada por FcγR es ADCP. La fagocitosis de las células cancerosas diana no sólo puede conducir a la destrucción inmediata de las células diana, sino que debido a que la fagocitosis es un mecanismo potencial para la captación y procesamiento de antígenos por las células presentadoras de antígeno, el ADCP mejorado también puede mejorar la capacidad del anticuerpo o de la fusión de Fc para provocar una respuesta inmune adaptativa. Por lo tanto, se investigó la capacidad de las variantes de Fc de la presente invención para mediar ADCP. Se aislaron monocitos de PBMC de V158/F158 FcγRIIIa heterocigotos utilizando un gradiente de Percoll. Después de una semana en cultivo en presencia de 0,1 ng/ml, los macrófagos diferenciados se separaron con EDTA/PBS y se marcaron con el fluoróforo lipófilo, PKH26, de acuerdo con el protocolo del fabricante (Sigma, St Louis, MO). Se marcaron células diana Sk-Br-3 con PKH67 (Sigma, St Louis, MO), se sembraron en una placa de 96 pocillos a 20.000 células por pocillo, y se trataron con concentraciones finales designadas de WT o variante de Fc trastuzumab. Se añadieron entonces macrófagos marcados con PKH26 a las células opsonizadas, se marcaron las células Sk-Br-3 a 20.000 células por pocillo y las células se co-cultivaron durante 18 horas antes de procesar las células para el análisis de la citometría de flujo de marcador doble. El porcentaje de fagocitosis se determinó como el número de células co-marcadas con PKH76 y PKH26 (macrófagos + Sk-Br-3) respecto al número total de Sk-Br-3 en la población (fagocitados + no fagocitados) después de 10.000 recuentos. La figura 30 muestra la comparación de

los datos de WT y la variante de Fc trastuzumab a diversas concentraciones de anticuerpos. Los resultados indican que la variante S239D/I332E/A330L proporciona una mejora significativa en ADCP respecto a WT trastuzumab.

Ejemplo 9. Unión complementaria y activación de las variantes de Fc

La proteína complementaria C1q se une a un sitio en Fc que es próximo al sitio de unión de FcγR, y por lo tanto fue prudente determinar si las variantes de Fc habían mantenido su capacidad para reclutar y activar el complemento. El ensayo AlphaScreen™ se utilizó para medir la unión de las variantes de Fc seleccionadas a la proteína del complemento C1q. El ensayo se llevó a cabo con anticuerpo WT alemtuzumab biotinilado unido a perlas donantes de estreptavidina como se describe en el Ejemplo 2, y utilizando C1q directamente acoplado a perlas aceptoras. Los datos de unión de rituximab de V2641I, I332E, S239E, y V264I/I332E que se muestran en la figura 31a, indican que la unión a C1q no se ve comprometida. También se realizaron ensayos CDC basados en células sobre variantes de Fc seleccionadas para investigar si las variantes de Fc mantenían la capacidad de activar el complemento. Se utilizó Alamar Blue para monitorizar la lisis de la variante de Fc y las células de linfoma WIL2-S de WT rituximab opsonizado por el complemento de suero humano (Quidel, San Diego, Calif.). Los datos de la figura 31b muestran que CDC no se ve comprometido por la variantes de Fc de rituximab S239E, V2641I, y V264I/I332E. A diferencia de, la figura 31c muestra que el CDC de la variante de Fc S239D/I332E/A330L es completamente eliminado, mientras que la variante S239D/I332E media el CDC que es comparable a WT rituximab. Estos resultados indican que la ingeniería de proteínas se puede usar para distinguir entre diferentes funciones efectoras. Dicho control no sólo permitirá la generación de anticuerpos y fusiones de Fc con propiedades adaptadas para un resultado clínico deseado, sino que también proporcionan un conjunto único de reactivos con el que investigar experimentalmente la función efectora biología.

Ejemplo 10. Proteína A y unión de FcRn por las variantes de Fc

Según lo discutido, las proteínas bacterianas A y G y el receptor neonatal de Fc FcRn se une a la región Fc entre los dominios Cγ2 y Cγ3. La proteína A se emplea con frecuencia para la purificación de anticuerpos, y FcRn desempeña un papel clave en la farmacocinética de los anticuerpos y el transporte. Por consiguiente, fue importante investigar la capacidad de las variantes de Fc de la presente invención para unirse a la proteína A y FcRn. El ensayo AlphaScreen™ se utilizó para medir la unión de las variantes de Fc seleccionadas a la proteína A y FcRn humano utilizando el anticuerpo alemtuzumab WT biotinilado unido a perlas donantes de estreptavidina, como se describe en el Ejemplo 2, y utilizando proteína A y FcRn acoplados directamente a las perlas aceptoras. Los datos de unión se muestran en la figura 32 para la proteína A y la figura 33 para FcRn. Los resultados indican que la región bisagra Cγ2-Cγ3 no se ve afectada por las sustituciones de Fc, y que, de forma destacable, la capacidad de las variantes de Fc de unirse a la proteína A y FcRn no se ve comprometida.

Ejemplo 11. Capacidad de las variantes de Fc de unirse a FcγRs de ratón

La optimización de Fc frente a FcγRs no humanos puede ser útil para probar experimentalmente las variantes de Fc en modelos animales. Por ejemplo, cuando se prueba en ratones (por ejemplo, ratones desnudos, ratones SCID, ratones de xenoinjerto, y/o ratones transgénicos), anticuerpos y fusiones de Fc que comprenden las variantes de Fc que están optimizadas para una o más FcγRs de ratón pueden proporcionar información valiosa con respecto a la eficacia clínica, el mecanismo de acción, y similares. Con el fin de evaluar si las variantes de Fc de la presente invención pueden ser útiles en tales experimentos, la afinidad de las variantes de Fc seleccionadas para el FcγRIII de ratón se midió usando el ensayo AlphaScreen™. El ensayo AlphaScreen™ se llevó a cabo usando WT alemtuzumab biotinilado unido a perlas donantes de estreptavidina, como se describe en el Ejemplo 2, y FcγRIII de ratón GST-marcado unido a perlas aceptoras de quelato de glutatión, expresado y purificado como se describe en el Ejemplo 2. Estos datos de unión se muestran en las figuras 34a y 34b en el contexto de alemtuzumab y trastuzumab, respectivamente. Los resultados muestran que algunas variantes de Fc que potencian la unión a FcγRIIIa humano también potencian la unión a FcγRIII de ratón. La mejora de la función efectora de ratón por las variantes de Fc se investigó mediante la realización de los ensayos de ADCC basados en células anteriormente mencionados usando PBMC de ratón en lugar de humanas. La figura 35 muestra que la variante de trastuzumab S239D/I332E/A330L proporciona una mejora de ADCC sustancial respecto a WT en presencia de células inmunes de ratón. Este resultado indica que las variantes de Fc de la presente invención, u otras variantes de Fc que están optimizadas para FcγRs no humanos, pueden encontrar uso en experimentos que utilizan modelos animales.

Ejemplo 12. Validación de variantes de Fc expresadas en células CHO

Considerando que las variantes de Fc de la presente invención se expresaron en células 293T con fines de cribado, la producción a gran escala de anticuerpos se lleva a cabo típicamente mediante la expresión en líneas celulares de ovario de hámster chino (CHO). Con el fin de evaluar las propiedades de las variantes de Fc expresadas en CHO, las variantes de Fc seleccionadas y WT alemtuzumab se expresaron en células CHO y se purificaron como se describe en el Ejemplo 2. La figura 36 muestra los datos de AlphaScreen™ comparando la unión de la variante de Fc y alemtuzumab WT expresada en CHO y 293T frente a V158 FcγRIIIa humano. Los resultados indican que las variantes de Fc de la presente invención muestran mejoras comparables de unión a FcγR ya sea expresada en 293T o CHO.

Ejemplo 13. Mejora de las variantes de Fc en una cepa de Fucose Minus

Las combinaciones de las variantes de Fc de la presente invención con otras modificaciones de Fc se contemplan con el objetivo de generar nuevos anticuerpos o fusiones de Fc con propiedades optimizadas. Puede ser beneficioso combinar las variantes de Fc de la presente invención con otras modificaciones de Fc, incluyendo las modificaciones que alteran la función efectora o la interacción con uno o más ligandos de Fc. Dicha combinación puede proporcionar propiedades aditivas, sinérgicas, o novedosas en anticuerpos o fusiones de Fc. Por ejemplo, existe un número de métodos para modificar diferentes glicoformas de Fc que alteran la función efectora. Las glicoformas modificadas pueden ser generadas por una variedad de métodos conocidos en la técnica, muchas de estas técnicas se basan en el control del nivel de oligosacáridos fucosilados y/o bisectrices que están unidos covalentemente a la región de Fc. Un método para modificar glicoformas de Fc es expresar el polipéptido de Fc en una línea celular que genera glicoformas alteradas, por ejemplo, células Lec-13 CHO. Con el fin de investigar las propiedades de las variantes de Fc combinado con glicoformas modificadas, se expresaron WT y V209 (S239D/I332E/A330L) trastuzumab en células CHO Lec-13 y se purificaron como se describe anteriormente. La figura 37a muestra los datos de unión de AlphaScreen™ comparando la unión a V158 FcγRIIIa humano por WT y trastuzumab V209 expresados en células 293T, CHO, y Lec-13. Los resultados muestran que existe una sinergia sustancial entre las glicoformas modificadas producidas por esta línea celular y las variantes de Fc de la presente invención. El ensayo de ADCC basado en células, que se muestra en la figura 37b, apoya este resultado. En conjunto, estos datos indican que otras modificaciones de Fc, especialmente las glicoformas modificadas, pueden combinarse con las variantes de Fc de la presente invención para generar anticuerpos y fusiones de Fc con funciones efectoras optimizadas.

Ejemplo 14. Aplicación terapéutica de las variantes de Fc

Un número de variantes de Fc descritas en la presente invención tienen un potencial significativo para la mejora de la eficacia terapéutica de anticuerpos contra el cáncer. Con fines ilustrativos, una serie de variantes de Fc de la presente invención se han incorporado en la secuencia del anticuerpo rituximab. La cadena ligera WT rituximab y la cadena pesada, que se describen en la patente de los Estados Unidos. No. 5.736.137, se proporcionan en las figuras 38a y 38b. Las secuencias de anticuerpos anti-CD20 mejoradas se proporcionan en la figura 38c. Las mejores secuencias de anticuerpos anti-CD20 comprenden al menos el aminoácido no WT seleccionado del grupo que consiste de X_1, X_2, X_3, X_4, X_5, X_6, X_7, y X_8. Estas secuencias de anticuerpo anti-CD20 mejoradas también pueden comprender una sustitución de Z_1, y/o Z_2. El uso de rituximab en este documento es únicamente un ejemplo, y no está destinado a limitar la aplicación de las variantes de Fc a este anticuerpo o a cualquier otro anticuerpo particular o de fusión Fc.

Ejemplo 15. Un análisis completo de la estructura /función de la especificidad de Fc/ligando de Fc

Se desprende de los resultados de estos experimentos que la modificación de proteínas es una poderosa herramienta para la explotación de sustituciones de Fc que alteran significativamente su función biológica y especificidad. Dado el profundo valor clínico de los anticuerpos y las fusiones de Fc, la implicación es que los métodos de modificación de proteínas de la presente descripción se pueden utilizar para ajustar las propiedades clínicas de estos importantes agentes bioterapéuticos. Tal capacidad, sin embargo, exige una comprensión más completa de la relación entre la estructura y la función de los ligandos de Fc y Fc. Además, la falta de información disponible sobre los factores determinantes de la especificidad de Fc/ligando de Fc significa que no es posible diseñar activamente variantes de Fc con todas las propiedades deseadas como metas objetivo. Así, es probable que, a pesar del esfuerzo experimental agresivo descrito en la presente descripción, existan variantes de Fc terapéuticamente útiles que no han sido explotadas, y propiedades bioquímicas de las variantes de Fc que permanecen sin descubrir. Igualmente importante para la obtención de nuevas variantes de Fc para la aplicación bioterapéutica es la capacidad de mejorar la capacidad predictiva del método de diseño, permitiendo de esta manera que las variantes sean identificadas de forma más eficiente. Con estos objetivos en mente, se llevó a cabo una caracterización más exhaustiva de la biología de Fc/ligando de Fc. Esta incluyó: 1) una expansión del rastreo principal para incluir todos los ligandos relevantes de Fc, y 2) un aumento en el número de variantes de Fc para explorar un mayor conjunto de sustituciones en todas las posiciones de Fc relevantes. Junto a esto, un enfoque ampliado permitirá una explotación más exhaustiva de las variantes de Fc útiles, proporcionará una mayor comprensión de la especificidad de Fc/ligando de Fc y su biología, y proporcionará un mayor conjunto de datos para permitir una evaluación cuantitativa rigurosa de la capacidad predictiva de los métodos de diseño.

Ampliación del rastreo primario

Con el fin de caracterizar mejor los determinantes estructurales y funcionales de la especificidad de Fc, el rastreo principal se amplió para incluir todos los ligandos de Fc relevantes. Así, todas las variantes de Fc son probadas en paralelo para la unión a FcγRI, FcγRIIA, FcγRIIb, FcγRIIc, FcγRIIIa (isoforma Val158), FcRn, y C1q. Se utilizó el ensayo AlphaScreen™ como se describe anteriormente. Todas las variantes de Fc se rastrearon en el contexto de cualquiera de alemtuzumab o trastuzumab de acuerdo con la Tabla 62. La Tabla 68 muestra un ejemplo del rastreo en paralelo para un conjunto de sustituciones en las posiciones de Fc 234 y 235. En esta tabla, el color gris claro indica que la afinidad de la variante de Fc/ligando de Fc es 0,5 veces o menos la de WT, el gris medio indica que la afinidad de la variante de Fc/ligando de Fc está dentro de 0,5-2,0 la de WT, el gris oscuro indica que la afinidad de la

variante de Fc/ligando de Fc se incrementa por 2 veces o más, y el blanco indica que la interacción de la variante de Fc/ligando de Fc no se midió o que los datos no permitieron ninguna determinación exacta de la afinidad. Por lo tanto, las variantes de Fc se agrupan como las que disminuyen de manera significativa, las que no se alteran sustancialmente, y las que aumentan significativamente la unión a un ligando de Fc dado. La visualización de los datos de esta manera proporciona un mapa de la estructura/función de Fc, lo que permite una interpretación directa de los resultados para cada posición tal que las variantes útiles e interesantes se pueden identificar de manera eficiente, y de tal manera que la facultad predictiva del método de diseño se puede evaluar de una manera práctica.

Tabla 68

Variante	Sustitución(Sustituciones)	FcγRI	FcγRIIa	FcγRIIb	FcγRIIc	FcγRIIIa	FcRn	C1q
111	L234D	0,54	1,28	2,91	2,99	2,88	1,60	1,69
112	L234E	0,51	0,71	1,65	1,85	2,05	0,15	1,05
113	L234N	0,11	0,07	0,90	1,11	0,20	1,64	1,02
114	L234Q	0,22	1,51	2,25	2,18	0,11	3,73	0,48
115	L234T	0,18	0,95	1,19	2,00	0,25	0,99	1,73
116	L234H	0,07	1,75	3,24	1,32	0,09	1,01	1,04
117	L234Y	0,36	0,99	1,06	1,82	0,51	0,78	1,15
118	L234I	0,48	1,12	1,38	0,60	0,76	1,30	1,97
119	L234V	0,86	1,81	3,23	0,93	1,83	1,33	1,39
120	L234F	0,13	0,09	1,20	0,35	0,25	1,02	1,94
121	L235D	0,04	0,90	1,51	0,71	1,88	0,77	1,26
122	L235S	0,12	0,74	1,61	0,64	0,85	0,99	1,04
123	L235N	0,03	0,77	1,56	0,76	0,34	1,10	1,46
124	L235Q	0,06	0,82	2,38	0,82	0,89	0,89	1,24
125	L235T	0,10	0,63	1,39	0,72	1,40	0,93	0,92
126	L235H	0,05	1,27	3,86	1,72	0,14	0,88	1,19
127	L235Y	0,09	0,79	2,43	0,61	1,09	0,58	1,50
128	L235I	0,20	0,24	1,91	0,22	1,16	1,24	0,68
129	L235V	0,22	8,80	3,69	2,59	0,91	2,70	1,04
130	L235F	0,09	18,07	1,78	1,31	0,79	0,92	1,26

Un número de sustituciones en las posiciones 234 y 235 muestran diferentes especificidades para la unión a los diversos ligandos de Fc. Aunque las diferencias en algunos casos son sutiles, los resultados indican que es de hecho posible diseñar la especificidad de Fc para diferentes ligandos de Fc, incluso en la interfaz de FcγR donde un número de receptores altamente homólogos se unen al mismo sitio. Otras variantes de Fc que proporcionan diferencias de afinidad más distintas se presentan en la Tabla 69.

Tabla 69

Variante	Sustitución(Sustituciones)	FcγRI	FcγRIIa	FcγRIIb	FcγRIIc	FcγRIIIa	FcRn	C1q
107	A330Y/I332E	3,14	5,40	2,90	3,84	19,83	2,85	1,15
109	A330L/I332E	6,44	1,58	1,16	1,58	21,23	5,36	1,08
167	L328E/I332E	0,91	8,50	5,54	10,21	3,85	0,31	
171	L328T/I332E	1,42	3,07	10,28	22,69	4,61	0,84	
174	L328A	0,80	4,24	1,08	1,11	0,84	1,06	

Estos datos muestran aún de un modo más convincente que es posible sintonizar la especificidad de Fc para el ligando de Fc, a menudo mediante el uso de diferencias de mutación muy sutiles. Por ejemplo, la variante A330Y/I332E mejora la unión a todos los FcγRs, particularmente a FcγRIIIa, así como FcRn, manteniendo al mismo tiempo la unión a C1q. Sin embargo, la variante A330L/I332E muestra una mayor unión a FcγRI y FcγRIIIa, pero tiene afinidad de WT por los de FcγRII. En contraste, las mutaciones en L328 proporcionan una mejora preferente de los FcγRII respecto a FcγRI y FcγRIIIa. En el caso de la variante L328E/I332E, la afinidad para todos los de FcγRII se incrementa, mientras que L328T/I332E proporciona un perfil claro de mejora especificidad de FcγRIIc > FcγRIIb > FcγRIIa. Por el contrario, L328A mejora significativamente la unión a FcγRIIa, pero proporciona una afinidad de WT para el resto de FcγR, incluyendo FcγRIIb y FcγRIIc. Está claro a partir de estos resultados que diferencias de mutación muy sutiles pueden proporcionar diferencias sustanciales en la especificidad. De acuerdo con ello, las colecciones de variantes de Fc tales como éstas no sólo permitirán la generación de anticuerpos y fusiones de Fc que tienen función efectora a medida para el resultado deseado, sino que también proporcionarán un conjunto único de reactivos con el que investigar y caracterizar la función efectora biología experimentalmente.

Expansión del conjunto de la variante de Fc

Debido a la información incompleta en relación a los determinantes estructurales y funcionales de la interacción de Fc/ligando de Fc, no ha sido posible diseñar activamente Fc para todos los objetivos de optimización deseados. Las distintas diferencias de especificidad observadas en las Tablas 68 y 69 frente a los diversos FcγRs eran debidas más al enfoque de detección agresivo de la presente descripción; estas variantes de Fc no fueron diseñados activamente con sus propiedades particulares como metas diana debido a la falta de información estructural para la unión de Fc a las diferentes FcγRs, así como la falta de comprensión de cómo la estructura y la flexibilidad de la bisagra impacta en la unión de FcγR. De hecho, la decisión de explorar un gran número y variedad de sustituciones en estas posiciones 234 y 235 se basó en el conocimiento de que están cerca del sitio de unión de Fc/FcγR, que las mutaciones en estas posiciones afectan a la unión de FcγR, y que según los cálculos de detección computacionales un gran número y variedad de sustituciones son permisibles en estas posiciones. En general, la falta de información estructural sobre los determinantes de la especificidad de Fc/FcγR, la falta de información estructural de alta resolución para el complejo Fc/C1q, y la incapacidad para tener en cuenta efectos indirectos de sustituciones en la unión de Fc/ligando de Fc, todo junto hace verdadero que todas las variantes de Fc interesantes y potencialmente útiles no serán exploradas utilizando los métodos actuales de ingeniería. Con el fin de explotar las variantes útiles de Fc, así como obtener una imagen más completa de los determinantes estructurales y funcionales de la interacción de Fc/ligando de Fc, el conjunto de variantes de Fc se amplió para explorar un conjunto más amplio de mutaciones. Todas las posiciones de Fc en los sitios de unión para FcγR y C1q, o cerca de estos, elegidas por inspección visual de las estructuras disponibles y usando la información proporcionada por los resultados del rastreo de la variante de Fc anterior, se saturaron, tal que todas las sustituciones se construyeron no habiendo sido probadas previamente. En las posiciones de Fc significativamente distales a los sitios de unión de FcγR y C1q, un subconjunto de sustituciones seleccionadas se diseñaron basándose en las energías predichas en los cálculos de detección de computacionalmente descritos anteriormente, y en base a los datos disponibles de las variantes de Fc existentes. Este nuevo conjunto de variantes de Fc, 576 en total, se presenta en la Tabla 70.

Tabla 70

Posición	WT	Sustitución(Sustituciones)	Variante
221	D	K Y	801-802
222	K	E Y	513-514
223	T	E K	803-804
224	H	E Y	805-806
225	T	E K W	807-809
227	P	E K Y G	705-708
228	P	E K Y G	709-712
230	P	E Y G	609-611
231	A	E K Y P G	612-616
232	P	E K Y G	321-324
233	E	N Q K R S T H A V L I F M Y W G	617-632
234	L	R S A M W P G	417-424
235	L	E K R A M W P G	425-432
236	G	D E N Q K R S T H A V L I F M Y W P	713-730
237	G	D E N Q K R S T H V L I F M Y W P	731-747
238	P	D E N Q K R S T H V L I F M Y W G	748-764
239	S	Q K R V L I M W P G	325-334
241	F	D E Y	335-337
243	F	E	515
246	K	D E H Y	810-813
249	D	Q H Y	814-816
255	R	E Y	817-818
258	E	S H Y	819-821
260	T	D E H Y	822-825
262	V	E F	826-827
264	V	D E N Q K R S H W P G	433-443
265	D	Q K R S T H V L I F M Y W P	444-457
267	S	E Q K R V L I F M Y W P	338-349
268	H	D E Q K R T V L I F M W P G	350-363
269	E	K S V I M W P G	765-772
270	D	R S L I F M Y W P G	516-525
271	P	D E N Q K R S T H A V L I F M Y W G	526-543
272	E	D R T H V L F M W P G	633-643

274	K	D N S H V I F M W P G	644-654
275	F	L	828
276	N	D T H V I F M W P G	655-664
278	Y	D N Q R S H V L I M P G	665-676
280	D	K L W P G	544-548
281	G	D K Y P	829-832
282	V	E K Y P G	833-837
283	E	K H L Y P G	838-843
284	V	E N T L Y	844-848
285	H	D E Q K Y W	773-778
286	N	E Y P G	779-782
288	K	D E Y	783-785
290	K	D N H L W	549-553
291	P	D E Q T H I G	849-855
292	R	D E T Y	786-789
293	E	N R S T H V L I F M Y W P G	554-567
294	E	K R S T H V L I F M Y W P G	568-581
295	Q	D E N R S T H V I F M Y W P G	582-596
296	Y	K R A V M G	597-602
297*	N	Q K R T H V L I F M Y W P G	856-869
298	S	D E Q K R I F M Y W	364-373
299	T	D E N Q K R L F M Y W P G	374-386
300	Y	D E N Q K R S T H A V M W P G	387-401
301	R	D E H Y	870-873
303	V	D E Y	874-876
304	S	D N T H L	877-881
305	V	E T Y	882-884
317	K	E Q	885-886
318	E	Q H L Y	887-890
320	K	N S H V L F Y W P G	677-686
322	K	D S V I F Y W P G	687-695
324	S	H F M W P G	603-608
325	N	K R S F M Y W P G	696-704
326	K	P	458
327	A	E K R H V I F M Y W P	459-469

328	L	D Q K R S T V I Y W P G	470-481
329	P	D E N Q K R S T H V L I M Y W G	482-497
330	A	E N T P G	402-406
331	P	D Q R T L I F M Y W	498-507
332	I	K R S V L F M W P G	407-416
333	E	L F M P	508-511
334	K	P	512
335	T	N S H V L I F M W P G	790-800
336	I	E K Y	891-893
337	S	E N H	894-896

* Las sustituciones en 297 se hicieron en el contexto de S239D/I332E

Listado de secuencias

<110> Xeneor

<120> Variantes de Fc optimizadas y métodos para su generación

<130> RXT/FP6756217

<140> Desconocido, presentada conjuntamente
<141> 06-03-2004

<150> 04760504.3
<151> 26-03-2004

<140> PCT/US2004/009298
<141> 26-03-2004

<150> US 10/672,280
<151> 26-09-2003

<150> US 60/477,839
<151> 12-06-2003

<150> US 60/467,606
<151> 02-05-2003

<160> 308

<170> PatentIn versión 3.2

<210> 1
<211> 451
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 1

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Phe
20 25 30

Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Phe Ile Arg Asp Lys Ala Lys Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Asn Pro
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Val Thr Met Leu Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln
65 70 75 80

Phe Ser Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Ala Arg Glu Gly His Thr Ala Ala Pro Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Ser Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly 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
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 Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val

405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445

Pro Gly Lys
450

<210> 2
<211> 227
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 2

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 3
<211> 213
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 3

Gln Ile Val Leu Ser Gln Ser Pro Ala Ile Leu Ser Ala Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Ile
20 25 30

His Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ser Pro Lys Pro Trp Ile Tyr
35 40 45

Ala Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Val Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu
65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Thr Ser Asn Pro Pro Thr
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
100 105 110

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
115 120 125

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
130 135 140

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
145 150 155 160

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
165 170 175

Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
180 185 190

Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
195 200 205

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 4
<211> 451
<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

```
Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1               5                   10                  15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
            20                  25                  30

Asn Met His Trp Val Lys Gln Thr Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45

Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
    50                  55                  60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80

Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Ser Thr Tyr Tyr Gly Gly Asp Trp Tyr Phe Asn Val Trp Gly
            100                 105                 110

Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
        115                 120                 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly 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
                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 Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
        195                 200                 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Ala Glu Pro Lys Ser Cys
    210                 215                 220
```

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445

Pro Gly Lys
450

<210> 5
<211> 451
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> característica_misc
<222> (243)..(243)
<223> Xaa puede ser uno de los siguientes aminoácidos: serina, ácido aspártico, ácido glutámico, asparagina, glutamina or treonina

<220>
<221> característica_misc
<222> (244)..(244)
<223> Xaa puede ser uno de los siguientes aminoácidos: valina, isoleucina o metionina

<220>

<221> característica_misc
<222> (268)..(268)
<223> Xaa puede ser uno de los siguientes aminoácidos: valina, isoleucina, treonina o tirosina

<220>
<221> característica_misc
<222> (276)..(276)
<223> Xaa puede ser uno de los siguientes aminoácidos: ácido glutámico o tirosina

<220>
<221> característica_misc
<222> (278)..(278)
<223> Xaa puede ser uno de los siguientes aminoácidos: lisina o ácido glutámico

<220>
<221> característica_misc
<222> (301)..(301)
<223> Xaa puede ser uno de los siguientes aminoácidos: asparagina o ácido aspártico

<220>
<221> característica_misc
<222> (302)..(302)
<223> Xaa puede ser uno de los siguientes aminoácidos: serina o alanina

<220>
<221> característica_misc
<222> (330)..(330)
<223> Xaa puede ser uno de los siguientes aminoácidos: lisina, ácido glutámico or treonina

<220>
<221> característica_misc
<222> (334)..(334)
<223> Xaa puede ser uno de los siguientes aminoácidos: alanina, tirosina, leucina o isoleucina

<220>
<221> característica_misc
<222> (336)..(336)
<223> Xaa puede ser uno de los siguientes aminoácidos: isoleucina, ácido aspártico, ácido glutámico, asparagina o glutamina

<400> 5

```
Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1               5                   10                  15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
            20                  25                  30

Asn Met His Trp Val Lys Gln Thr Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45
```

Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Thr Tyr Tyr Gly Gly Asp Trp Tyr Phe Asn Val Trp Gly
100 105 110

Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly 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
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 Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Ala Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
225 230 235 240

Gly Pro Xaa Xaa Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Xaa Asp Val Ser His
260 265 270

Glu Asp Pro Xaa Val Xaa Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Xaa Xaa Thr Tyr
290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Xaa Ala Leu Pro Xaa Pro Xaa
325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445

Pro Gly Lys
450

<210> 6
<211> 5
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 6

Gly Ser Gly Gly Ser
1 5

<210> 7
<211> 5
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 7

Gly Gly Gly Gly Ser
1 5

<210> 8
<211> 4
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 8

Gly Gly Gly Ser
1

<210> 9
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 9

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Ala Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 10
<211> 227

<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 10

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Leu Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 11
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 11

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Ile Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 12
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 12

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Trp Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 13
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 13

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Leu Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val

180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 14
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 14

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Trp Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 15
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 15

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Leu Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 16
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 16

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Leu Leu Leu Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Ile Val Ile Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 17
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 17

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Trp Leu Trp Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro

165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 18
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 18

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Trp Leu Trp Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Ala Val Ala Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 19
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 19

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Leu Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Ile Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 20
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 20

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Leu Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Ile Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 21
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 21

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Leu Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Ile Val Trp Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu

145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 22
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 22

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Tyr Leu Tyr Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Thr Val Thr Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 23
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 23

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Glu Leu Arg Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Glu Val Arg Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 24
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 24

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Glu Leu Gln Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Thr Val Glu Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 25
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 25

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Arg Leu Gln Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Thr Val Arg Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser

130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 26
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 26

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Glu Leu Tyr Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Thr Val Arg Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 27
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 27

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Met Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 28
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 28

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Glu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 29
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 29

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Phe Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val

115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 30
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 30

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 31
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 31

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Met Pro Ala Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 32
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 32

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe His Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 33
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 33

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Ala Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

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

100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 34
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 34

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Val Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 35
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 35

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Phe Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 36
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 36

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe His Ala Lys Val Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 37
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 37

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Gly Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly

85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 38
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 38

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Ile Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 39
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 39

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Glu Leu Arg Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Glu Val Arg Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 40
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 40

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Glu Leu Gln Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Thr Val Glu Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 41
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 41

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Arg Leu Gln Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Thr Val Arg Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr

65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 42
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 42

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Glu Leu Tyr Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Thr Val Arg Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 43
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 43

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ala Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 44
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 44

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ala Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 45
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 45

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val

50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ala Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Ala Ala Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 46
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 46

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Glu Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 47
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 47

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Gln Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 48
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 48

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Glu Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 49
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 49

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Gly Val Ser His

35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 50
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 50

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asn Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 51
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 51

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Glu Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Gly Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 52
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 52

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Glu Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asn Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 53
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 53

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

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

20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Gln Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 54
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 54

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Glu Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 55
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 55

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Gln Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 56
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 56

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Thr Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 57
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 57

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly

1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Asn Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 58
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 58

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Ile Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 59
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 59

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ser Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 60
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 60

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Asn Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 61
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 61

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Gln His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ser Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 62
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 62

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Leu His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ser Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 63
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 63

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Leu Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 64
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 64

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Phe Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 65
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 65

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Leu Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 66
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 66

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Tyr Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 67
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 67

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Asp
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 68
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 68

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ser Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 69
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 69

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asp Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 70
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 70

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ser Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys

225

<210> 71
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 71

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asp Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 72
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 72

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Glu Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 73
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 73

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Tyr Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asp Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 74
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 74

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Tyr Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asp Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser

210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 75
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 75

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Phe Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Glu Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 76
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 76

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Ile Pro Ala Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 77
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 77

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Gln Pro Ala Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 78
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 78

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Asn
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 79
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 79

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Gln
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 80
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 80

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Thr Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 81
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 81

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Phe Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 82
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 82

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Ile Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val

180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 83
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 83

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Ile Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 84
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 84

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Ile Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 85
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 85

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Ala Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 86
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 86

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Ser Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro

165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 87
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 87

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Val Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 88
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 88

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Gln Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 89
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 89

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Leu Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 90
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 90

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Ile Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu

145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 91
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 91

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 92
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 92

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Asn Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 93
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 93

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Phe Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 94
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 94

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Asp
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser

130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 95
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 95

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 96
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 96

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Asn
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 97
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 97

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Gln
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 98
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 98

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Glu Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Asp
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val

115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 99
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 99

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Glu Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Asn
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 100
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 100

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Glu Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Gln
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 101
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 101

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Asn Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Asp
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 102
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 102

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Asn Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu

100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 103
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 103

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Asn Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Asn
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 104
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 104

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Asn Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Gln
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 105
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 105

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Gln Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Asp
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 106
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 106

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Gln Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly

85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Asn
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 107
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 107

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Gln Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Gln
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 108
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 108

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Glu Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 109
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 109

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Asp Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 110
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 110

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Asn Asn Ser Thr Tyr

65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 111
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 111

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Tyr Leu Tyr Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Thr Val Thr Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asp Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 112
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 112

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Tyr Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 113
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 113

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Ile Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Tyr Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 114
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 114

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val

50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Leu Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 115
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 115

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Ile Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Leu Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 116
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 116

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Asp Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 117
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 117

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Glu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 118
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 118

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Asn Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His

35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 119
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 119

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Gln Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 120
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 120

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Thr Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 121
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 121

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu His Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 122
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 122

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met

20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 123
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 123

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ile Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 124
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 124

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Val Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 125
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 125

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 126
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 126

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Asp Gly

1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 127
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 127

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Ser Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 128
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 128

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Asn Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 129
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 129

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Gln Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 130
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 130

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Thr Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 131
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 131

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu His Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 132
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 132

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Tyr Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 133
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 133

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Ile Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 134
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 134

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Val Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 135
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 135

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Phe Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 136
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 136

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Thr Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 137
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 137

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro His Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 138
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 138

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Tyr Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 139
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 139

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Ala Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 140
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 140

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Thr Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 141
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 141

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Met Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 142
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 142

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Ala Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 143
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 143

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Thr Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser

210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 144
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 144

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Met Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 145
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 145

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Met Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 146
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 146

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Tyr Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 147
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 147

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Ala Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 148
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 148

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Thr Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 149
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 149

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Met Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 150
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 150

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

His Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 151
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 151

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Tyr Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val

180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 152
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 152

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Phe Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 153
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 153

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Arg Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 154
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 154

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Ser Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 155
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 155

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Thr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro

165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 156
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 156

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Leu Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 157
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 157

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Ile Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 158
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 158

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn His Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 159
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 159

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser His Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu

145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 160
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 160

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Val Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 161
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 161

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ile Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 162
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 162

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Phe Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 163
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 163

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Arg Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser

130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 164
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 164

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro His Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 165
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 165

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asp Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 166
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 166

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Glu Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 167
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 167

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Ala Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val

115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 168
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 168

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Thr Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 169
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 169

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Val Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 170
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 170

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser His Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 171
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 171

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Asp Pro Ala Pro Glu

100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 172
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 172

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Glu Pro Ala Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 173
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 173

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Asn Pro Ala Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 174
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 174

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Gln Pro Ala Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 175
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 175

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly

85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Val Pro Ala Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 176
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 176

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Thr Pro Ala Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 177
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 177

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala His Pro Ala Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 178
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 178

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Ile Pro Ala Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 179
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 179

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr

65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Ala Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 180
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 180

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Thr
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 181
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 181

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro His
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 182
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 182

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Tyr
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 183
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 183

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val

50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ala
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 184
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 184

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Glu Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Ile Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 185
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 185

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Gln Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Ile Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 186
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 186

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Glu Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Ile Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Tyr Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 187
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 187

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Glu Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Ile Asp Val Ser His

35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ala Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Tyr Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 188
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 188

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asp Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 189
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 189

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Glu Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asp Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 190
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 190

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Val Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asp Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 191
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 191

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met

20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Ile Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asp Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 192
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 192

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Leu Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asp Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 193
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 193

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Phe Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asp Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 194
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 194

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Tyr Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asp Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 195
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 195

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly

1 5 10 15

Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val His Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asp Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 196
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 196

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Thr Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asp Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 197
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 197

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Glu Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asp Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 198
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 198

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Asp Asp Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 199
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 199

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Glu Asp Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 200
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 200

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Asn Asp Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 201
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 201

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Gln Asp Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 202
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 202

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln His Asp Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 203
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 203

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Thr Asp Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 204
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 204

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asp Ser Val Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 205
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 205

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asp Ser Ile Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 206
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 206

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asp Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 207
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 207

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asp Ser Phe Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 208
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 208

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asp Ser His Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 209
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 209

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asp Ser Glu Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 210
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 210

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asp Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Tyr Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 211
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 211

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asp Ala Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Tyr Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 212
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 212

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Tyr Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser

210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 213
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 213

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Asn Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Tyr Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 214
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 214

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Leu Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 215
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 215

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Asn Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Leu Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 216
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 216

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Ile Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ala Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 217
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 217

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ala Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 218
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 218

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Asn Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ala Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 219
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 219

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Ile Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 220
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Ile Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ala Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val

180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 221
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 221

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Ile Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Leu Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 222
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 222

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Asn Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 223
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 223

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala His Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 224
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 224

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ile Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro

165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 225
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 225

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asp Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Leu Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 226
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 226

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Ala Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 227
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 227

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Asp Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 228
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 228

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Ala Ala Pro Asp Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu

145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 229
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 229

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Ala Ala Pro Asp Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 230
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 230

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Thr His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 231
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 231

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val His His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 232
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 232

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Asp His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser

130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 233
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 233

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Asn His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 234
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 234

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Thr Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 235
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 235

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Leu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 236
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 236

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Asn Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val

115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 237
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 237

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Gln Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 238
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 238

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Thr Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 239
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 239

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu His Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 240
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 240

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Ser Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

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

100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 241
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 241

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Lys Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 242
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 242

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Ile Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 243
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 243

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Tyr Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 244
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 244

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Ile Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 245
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 245

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Thr Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 246
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 246

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Glu Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 247
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 247

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Arg Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 248
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 248

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Leu Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 249
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 249

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Tyr Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 250
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 250

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Trp Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 251
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 251

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Ser Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 252
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 252

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Glu Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 253
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 253

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Arg Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 254
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 254

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Leu Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 255
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 255

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Tyr Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 256
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 256

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Thr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 257
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 257

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Glu Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 258
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 258

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Lys Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 259
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 259

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Trp Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 260
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 260

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met

20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Arg Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 261
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 261

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Ile Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 262
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 262

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Arg Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 263
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 263

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Thr Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 264
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 264

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly

1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Asp Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 265
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 265

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Ile Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 266
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 266

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Thr Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 267
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 267

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys His Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 268
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 268

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Ile Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 269
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 269

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Thr Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 270
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 270

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Asp Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 271
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 271

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Arg Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 272
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 272

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ile Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 273
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 273

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Val Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 274
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 274

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Leu Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 275
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 275

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Tyr Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 276
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 276

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Leu Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 277
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 277

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Ile Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 278
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 278

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Thr Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 279
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 279

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 280
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 280

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Thr Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 281
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 281

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 282
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 282

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Trp Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 283
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 283

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Met Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 284
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 284

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Val Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 285
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 285

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala His Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 286
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 286

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Thr Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 287
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 287

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

His Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 288
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 288

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Ile Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 289
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 289

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Tyr Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val

180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 290
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 290

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Ile Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 291
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 291

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Thr Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 292
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 292

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Phe Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 293
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 293

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Asp Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro

165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 294
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 294

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Arg Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 295
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 295

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Tyr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 296
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 296

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ile Asp Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 297
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 297

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Ile Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Ile Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 298
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 298

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ile Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Tyr Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 299
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 299

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Asp Gly
1 5 10 15

Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Tyr Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 300
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 300

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Asp Ile Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Tyr Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 301
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 301

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Thr Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Tyr Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 302
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 302

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Ile Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Tyr Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 303
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 303

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Glu Ala Leu Pro Tyr Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 304
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 304

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Thr Ala Leu Pro Tyr Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 305
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 305

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asp Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Tyr Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 306
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 306

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Asp Val Ser Leu His Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Thr Val Thr Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asp Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Tyr Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 307
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 307

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Asp Gly
1 5 10 15

Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asp Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 308
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> sintético

<400> 308

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asp Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Glu Ala Leu Pro Ala Pro Glu
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

REIVINDICACIONES

1. Una proteína variante que comprende una variante de Fc de un polipéptido de Fc natural, comprendiendo dicha variante de Fc al menos una modificación de aminoácidos en la región Fc de dicho polipéptido Fc natural, en la que dicha al menos una modificación de aminoácidos es S267E.

2. La proteína variante de acuerdo con la reivindicación 1, en la que dicha proteína variante es un anticuerpo que comprende dicha variante de Fc.

3. La proteína variante según la reivindicación 2, en la que dicho anticuerpo es un fragmento de anticuerpo.

4. La proteína variante según la reivindicación 2 o la reivindicación 3, en la que dicho anticuerpo es un anticuerpo monoclonal.

5. La proteína variante de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4, en la que dicho anticuerpo es un anticuerpo humano o un anticuerpo humanizado.

6. La proteína variante de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 5, en la que dicho anticuerpo comprende además una glicoforma modificada genéticamente.

7. La proteína variante según la reivindicación 2, en la que dicho anticuerpo tiene una especificidad para CD19, IgE, CD20, CD22, CD30, CD33, CD40, CD40L, CD52, Her2/neu, EGFR, EpCAM, MUC1, GD3, CEA, CA 152, HLA-DR, TNFalfa, MUC18, antígeno de membrana específico de próstata (PSMA) o VEGF.

8. La proteína variante según la reivindicación 1, en la que dicha proteína variante es una proteína de fusión Fc que comprende dicha variante de Fc.

9. Un nucleótido aislado que codifica la proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8.

10. Una célula huésped que comprende el ácido nucleico aislado de la reivindicación 9.

Figura 1

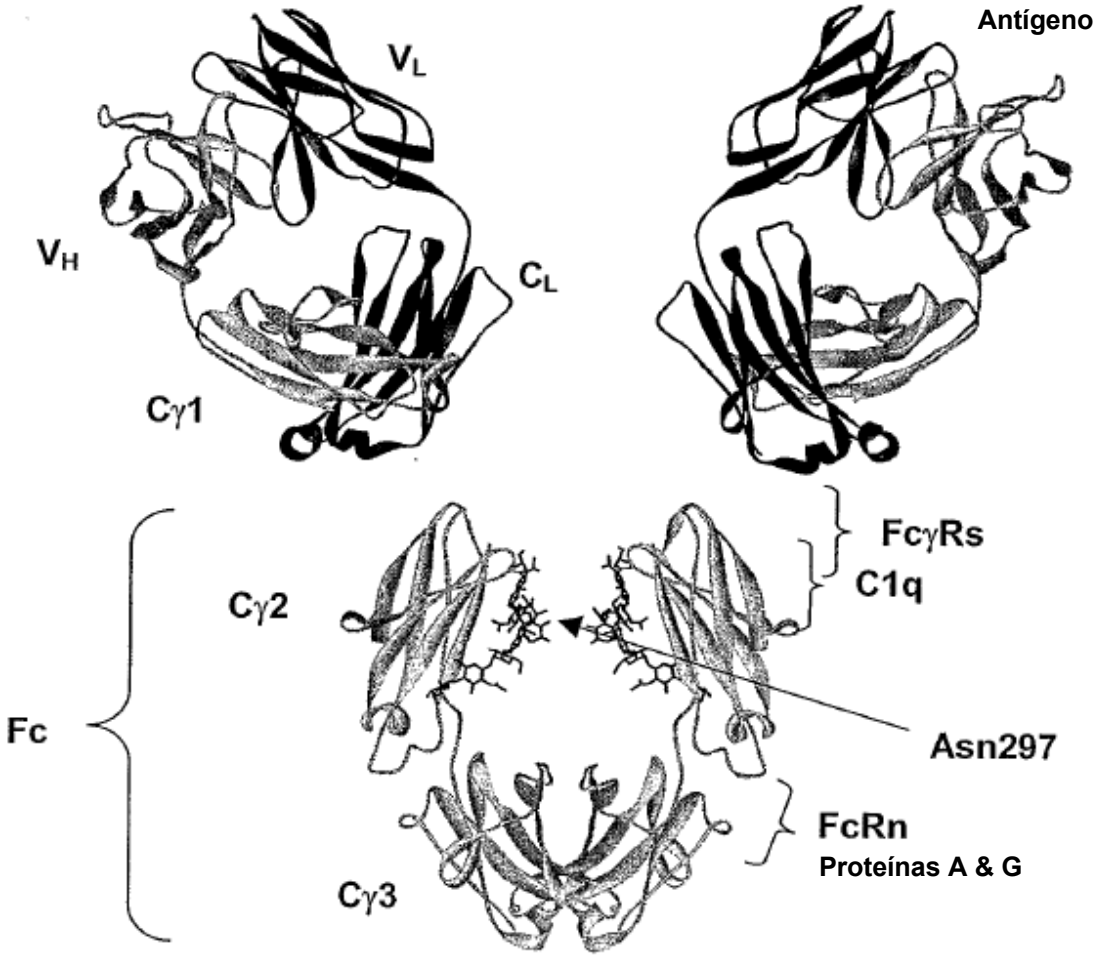
Antígeno
V_L
V_H
C_L
Cγ1
FcγRs
C1q
Cγ2
Fc
Asn297
FcRn
Proteínas A & G
Cγ3

Figura 2

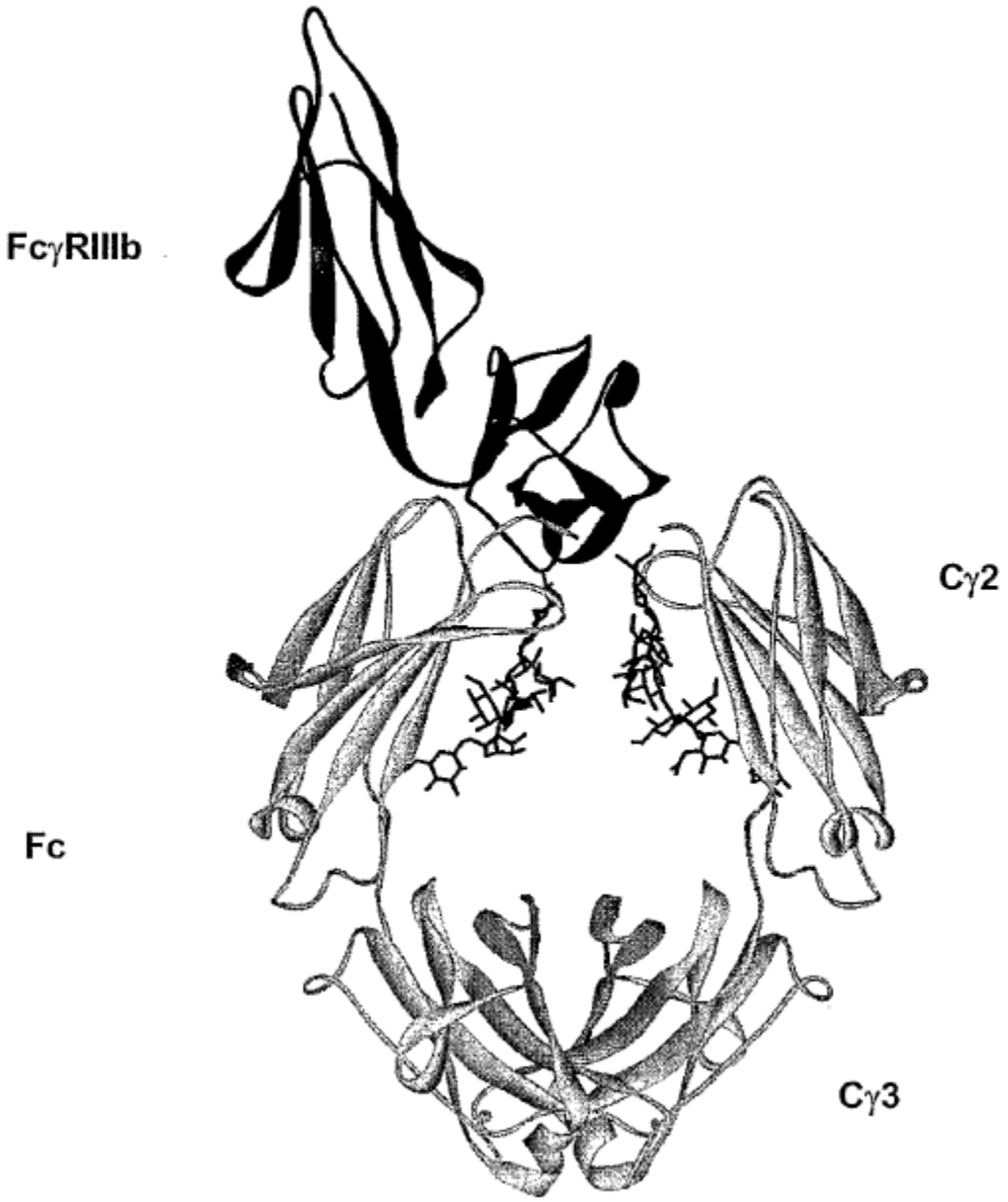

Figura 3

```
VH1->
1        10         20         30         40         50         60
123456789012345678901234567890123456789012345678901234567890
QVQLQESGPGLVRPSQTLSLTCTVSGFTFTDFYMNWVRQPPGRGLEWIGFIRDKAKGYTT

         70         80         90        100        110        120
123456789012345678901234567890123456789012345678901234567890
EYNPSVKGRVTMLVDTSKNQFSLRLSSVTAADTAVYYCAREGHTAAPFDYWGQGSLVTVS

  Cγ1->
       130        140        150        160        170        180
123456789012345678901234567890123456789012345678901234567890
SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS

                                                HINGE->
       190        200        210        220        230        240
123456789012345678901234567890123456789012345678901234567890
SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG
                                                1234567890123456
                                        KABAT  22        23

Cγ2->
       250        260        270        280        290        300
123456789012345678901234567890123456789012345678901234567890
GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY
789012345678901234567890123456789012345678901234567890123456
 240        250        260        270        280        290

                                                    ?Cγ3?->
       310        320        330        340        350        360
123456789012345678901234567890123456789012345678901234567890
NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRD
789012345678901234567890123456789012345678901234567890123456
 300        310        320        330        340        350

       370        380        390        400        410        420
123456789012345678901234567890123456789012345678901234567890
ELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR
789012345678901234567890123456789012345678901234567890123456
 360        370        380        390        400        410

       430        440        450
123456789012345678901234567890
WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
789012345678901234567890123456
 420        430        440
```

Figura 4

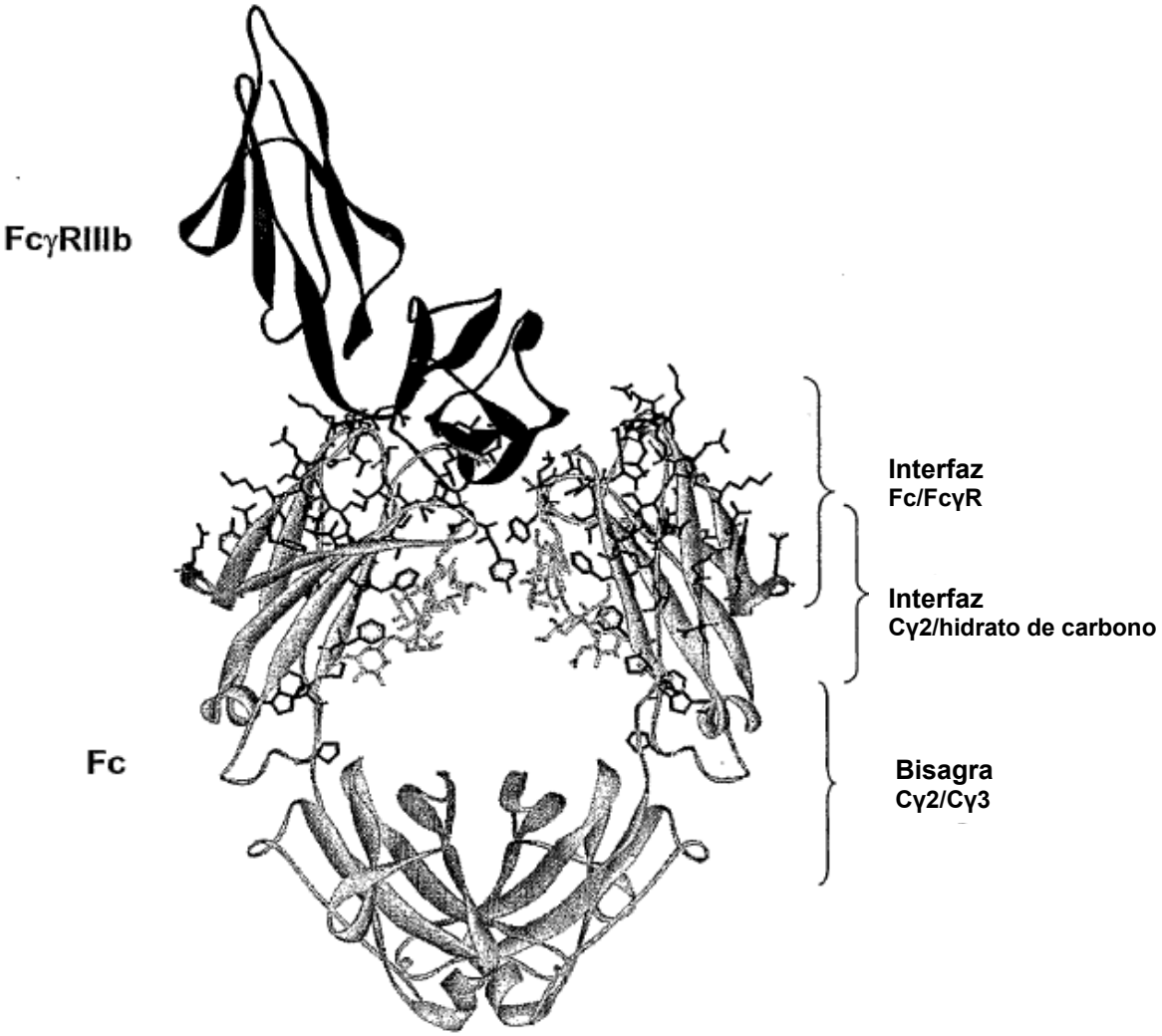
FcγRIIIb
Fc
Interfaz
Fc/FcγR
Interfaz
Cγ2/hidrato de carbono
Bisagra
Cγ2/Cγ3

Figura 5

```
22        23        24        25        26        27        28
1234567890123456789012345678901234567890123456789012345678901234567890
DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD

          29        30        31        32        33        34
1234567890123456789012345678901234567890123456789012345678901234567890
GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK

          35        36        37        38        39        40
1234567890123456789012345678901234567890123456789012345678901234567890
GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS

          41        42        43        44
1234567890123456789012345678901234567890123456789012345678901234567
DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
```

Figura 6

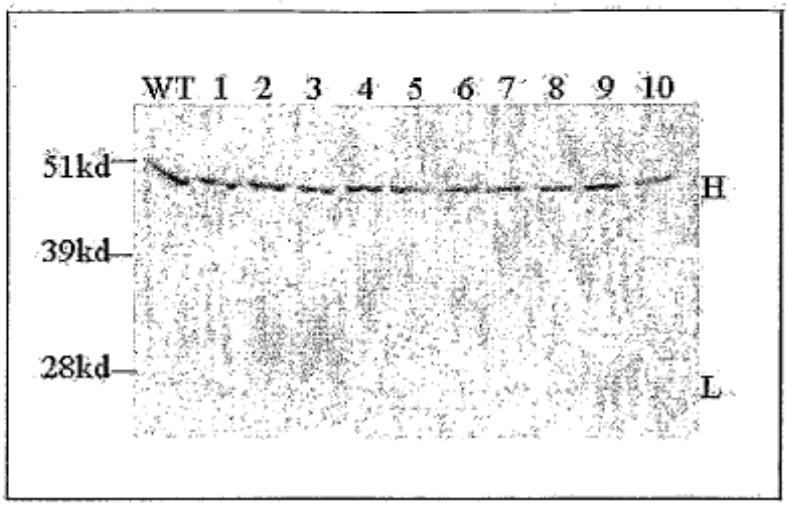

Figura 7

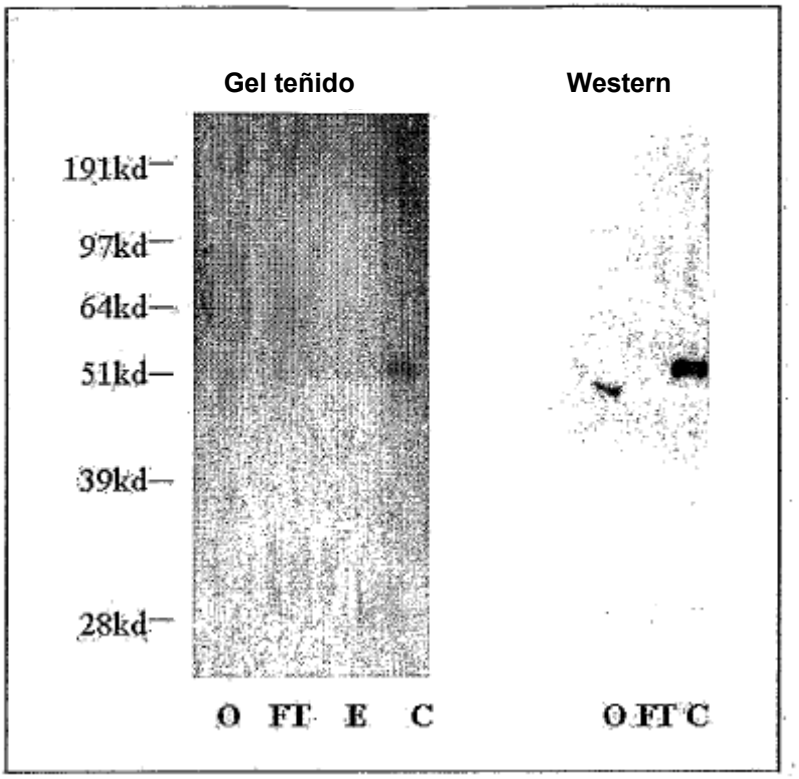
Gel teñido
Western
191kd
97kd
64kd
51kd
39kd
28kd
O FT E C
O FT C

Figura 8

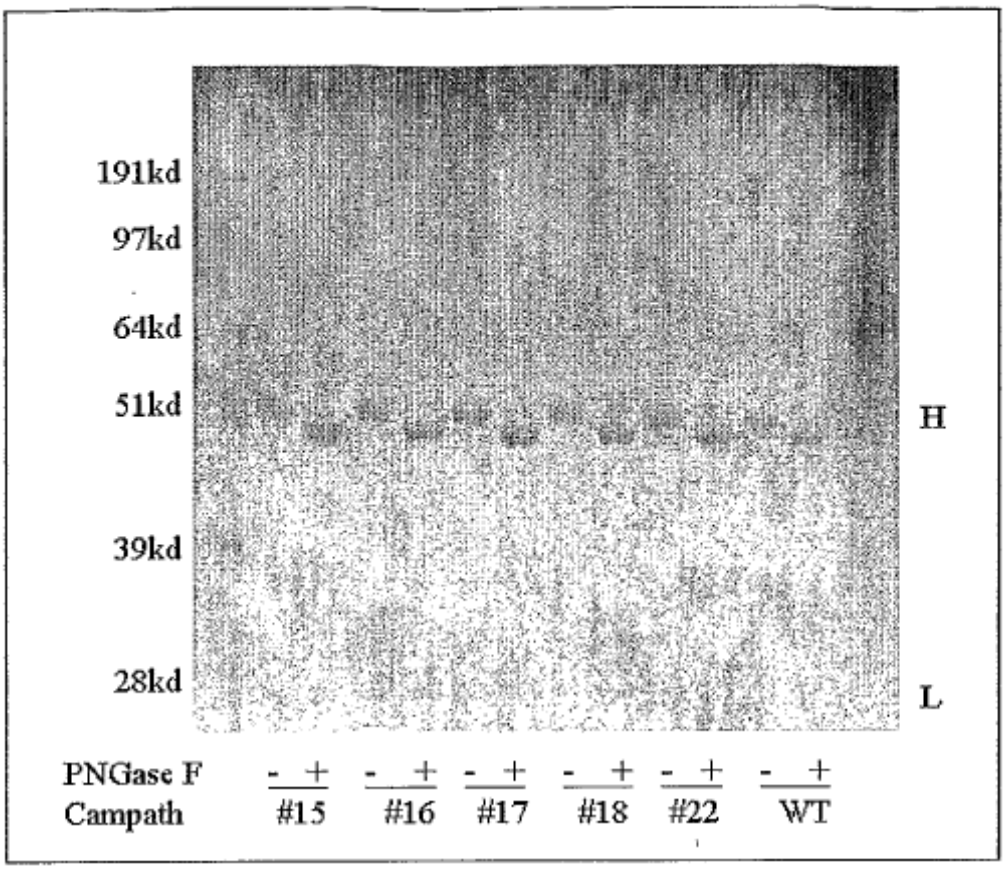
191kd
97kd
64kd
51kd
39kd
28kd
H
L
PNGase F - + - + - + - + - + - +
Campath #15 #16 #17 #18 #22 WT

Figura 9

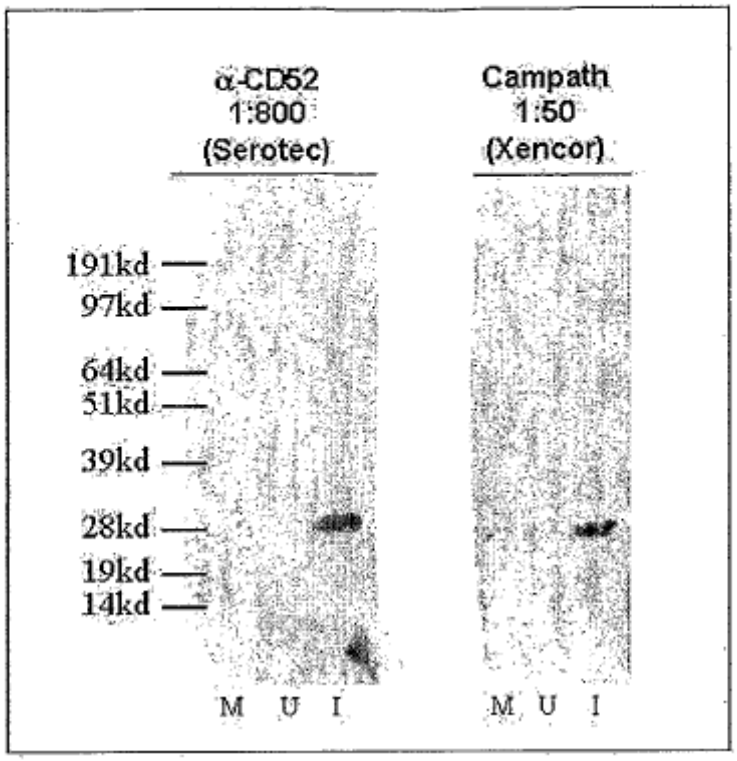
α-CD52
1:800
(Serotec)
Campath
1:50
(Xencor)
191kd
97kd
64kd
51kd
39kd
28kd
19kd
14kd
M U I
M U I

Figura 10

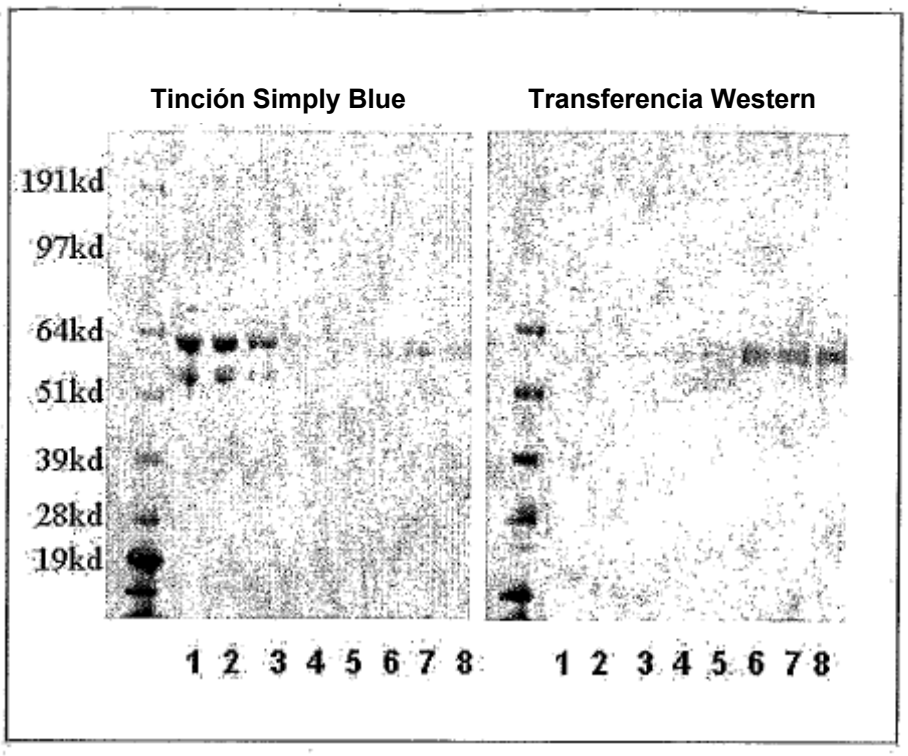
Tinción Simply Blue
Transferencia Western
191kd
97kd
64kd
51kd
39kd
28kd
19kd
1 2 3 4 5 6 7 8
1 2 3 4 5 6 7 8

Figura 11

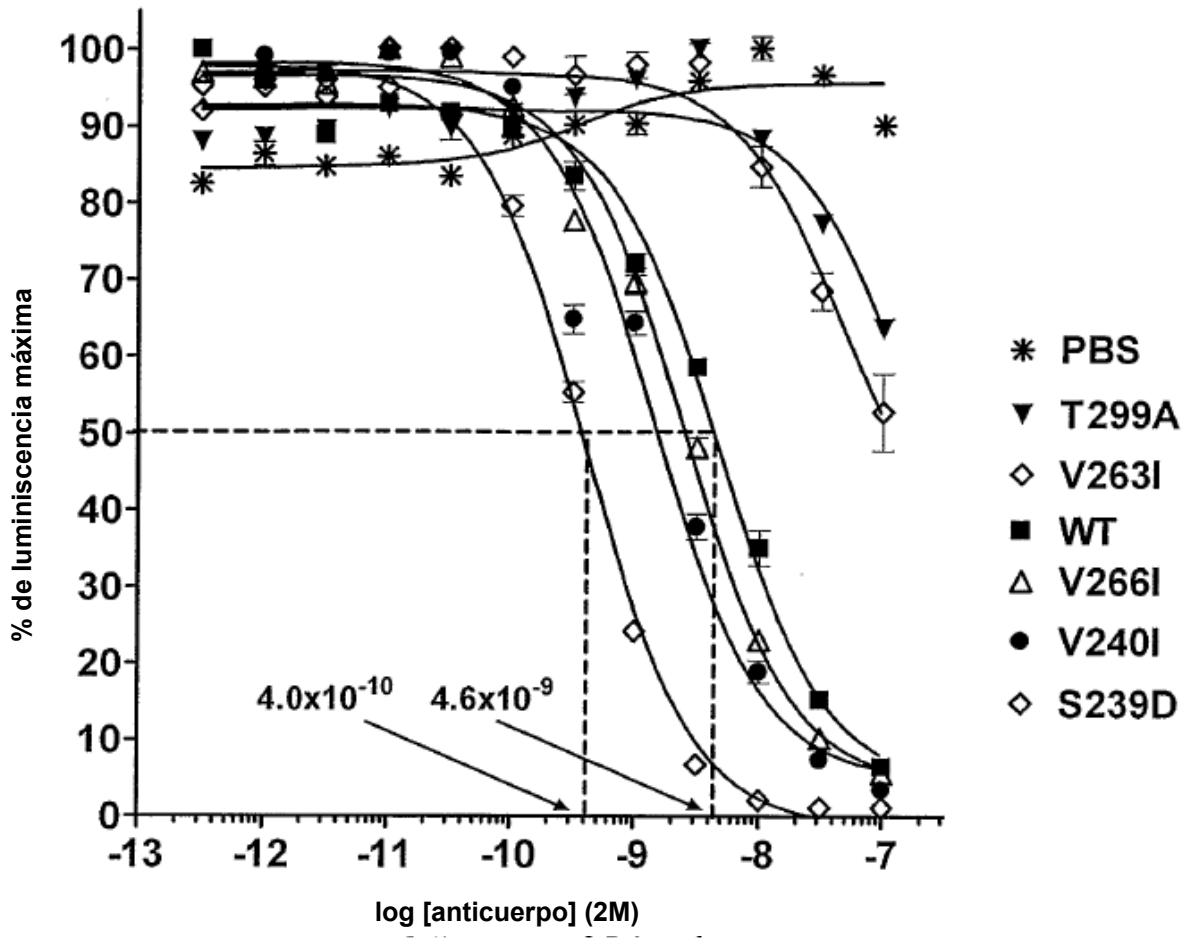
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
% de luminiscencia máxima
-13
-12
-11
-10
-9
-8
-7
log [anticuerpo] (2M)
4.0x10-10
4.6x10-9
PBS
T299A
V263I
WT
V266I
V240I
S239D

Figura 12

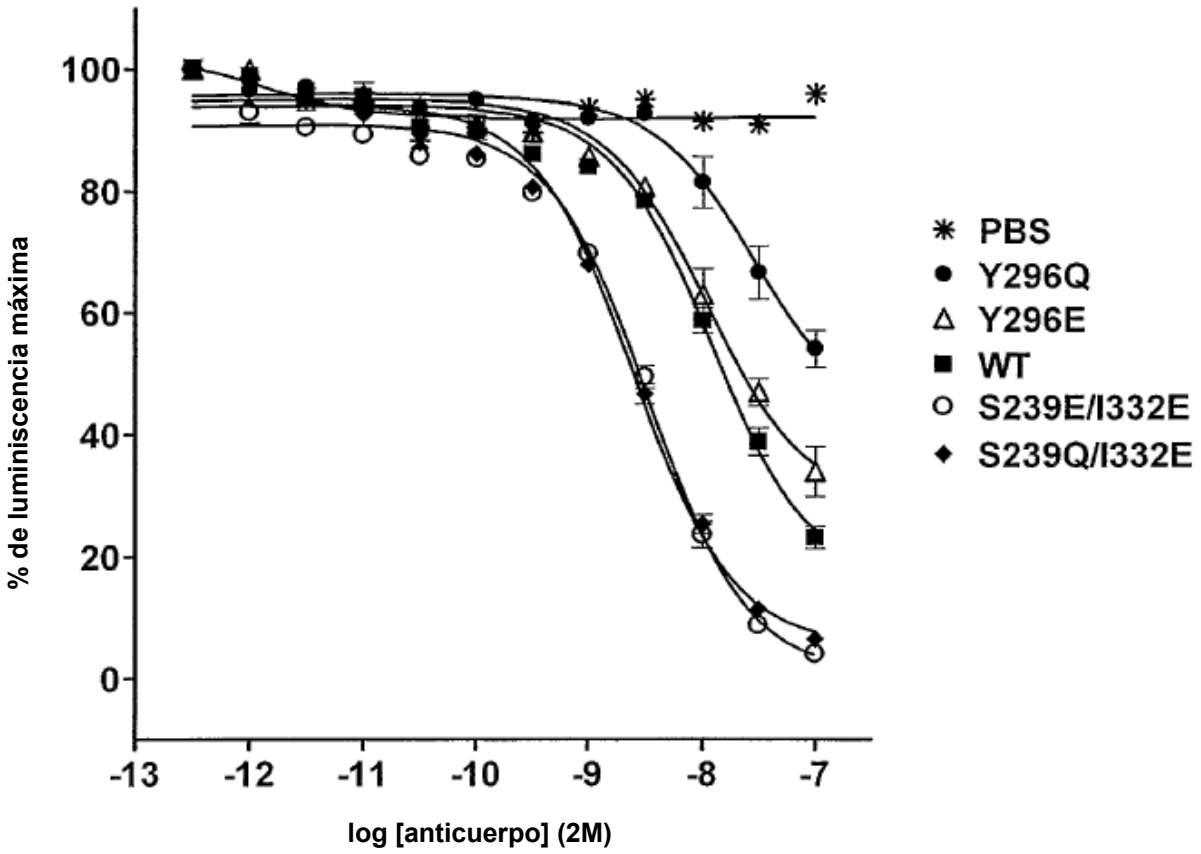
100
80
60
40
20
0
% de luminiscencia máxima
-13
-12
-11
-10
-9
-8
-7
log [anticuerpo] (2M)
PBS
Y296Q
Y296E
WT
S239E/I332E
S239Q/I332E

Figura 13a

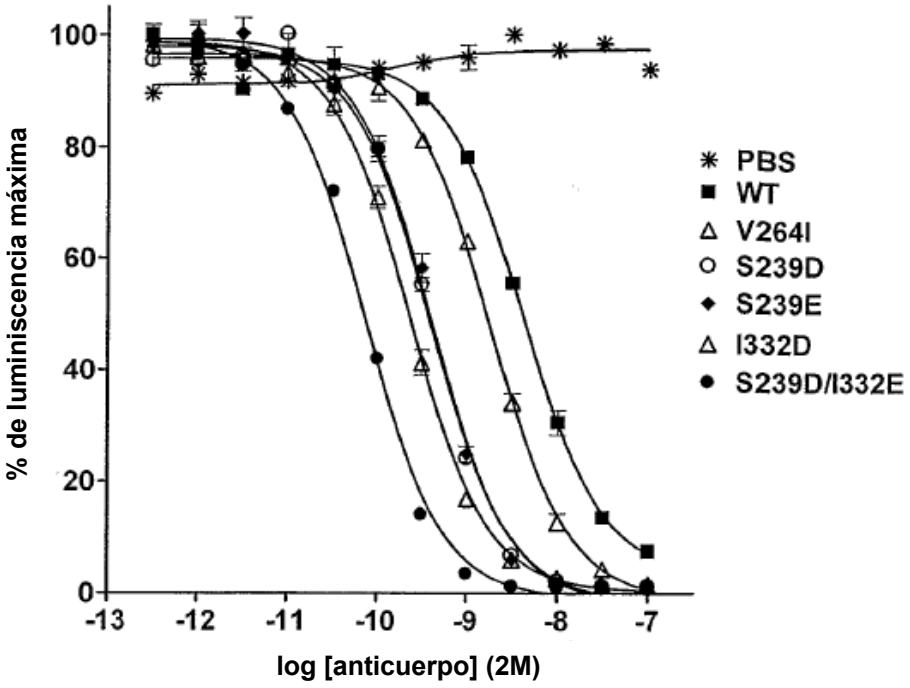

Figura 13b

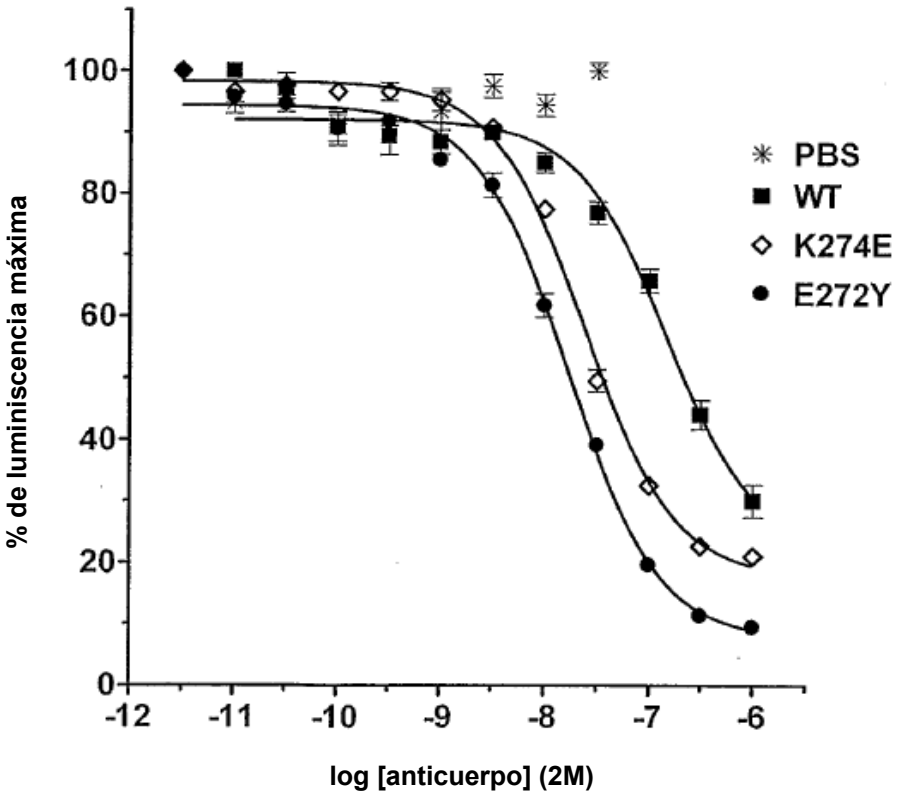

Figura 14a

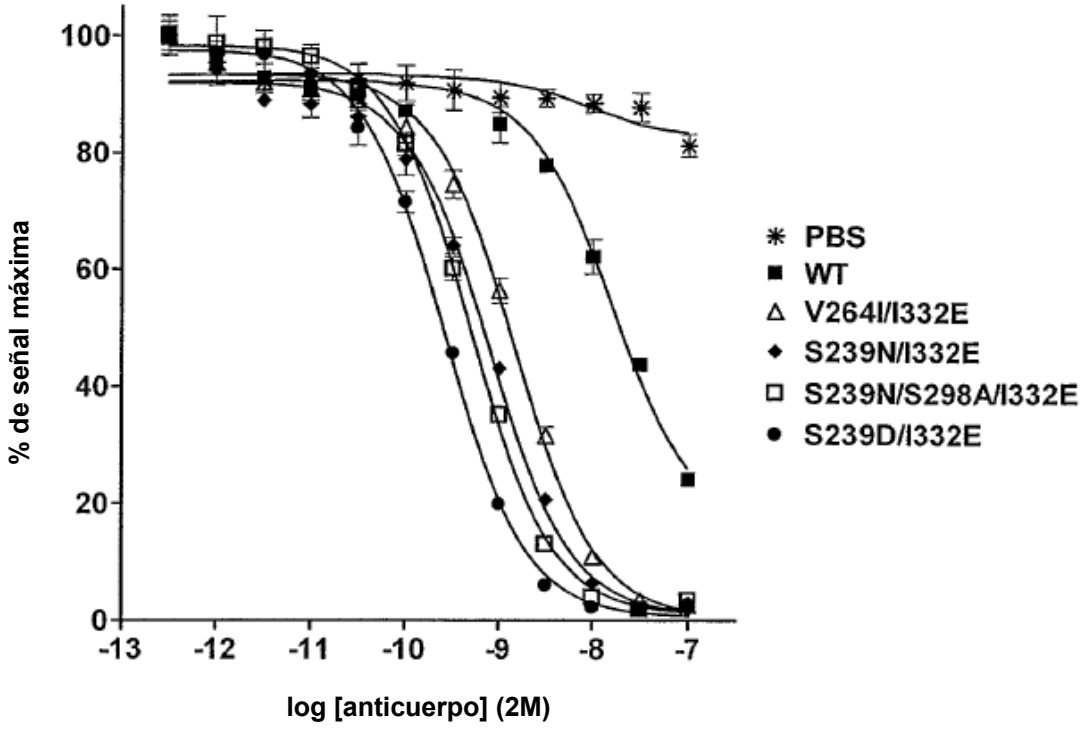

Figura 14b

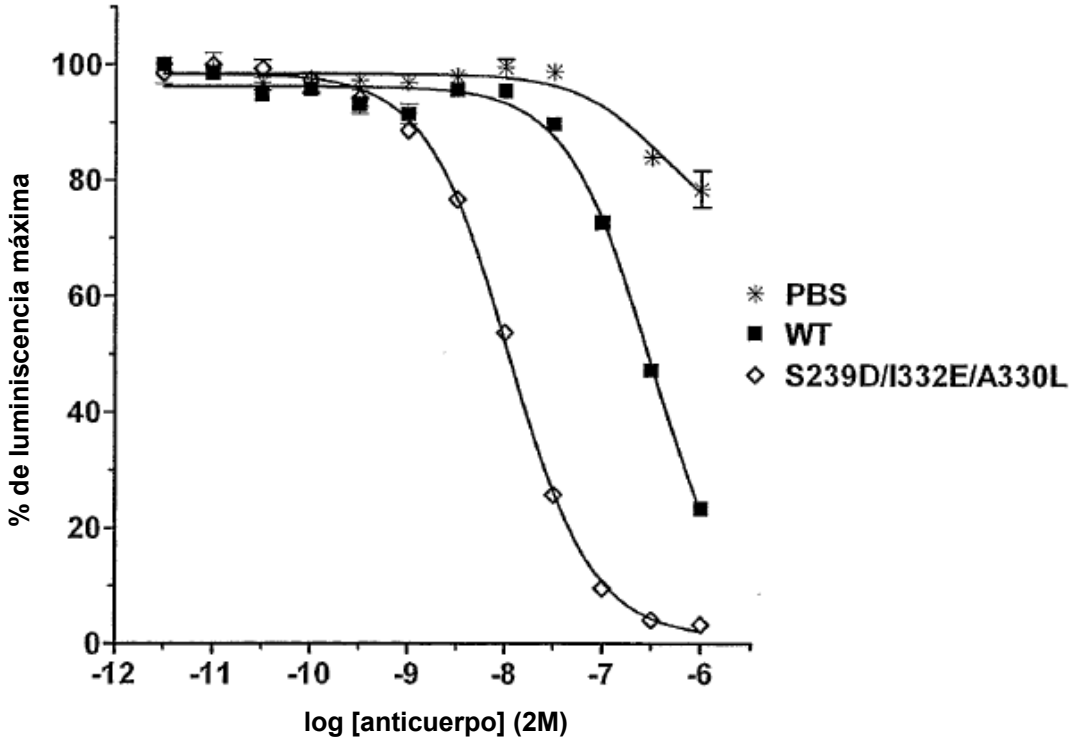

Figura 15a

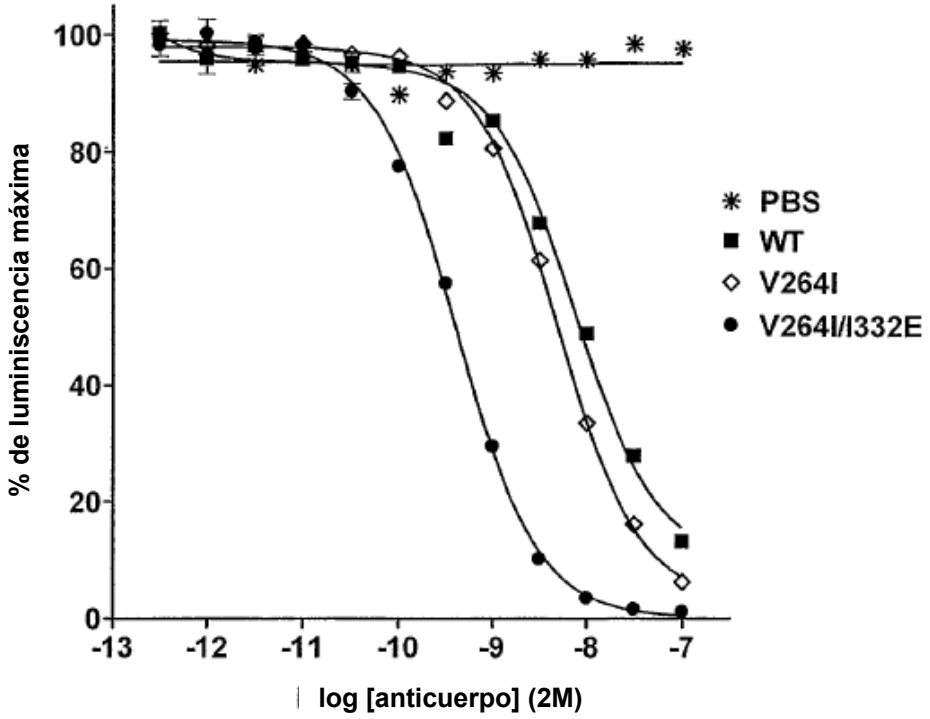

Figura 15b

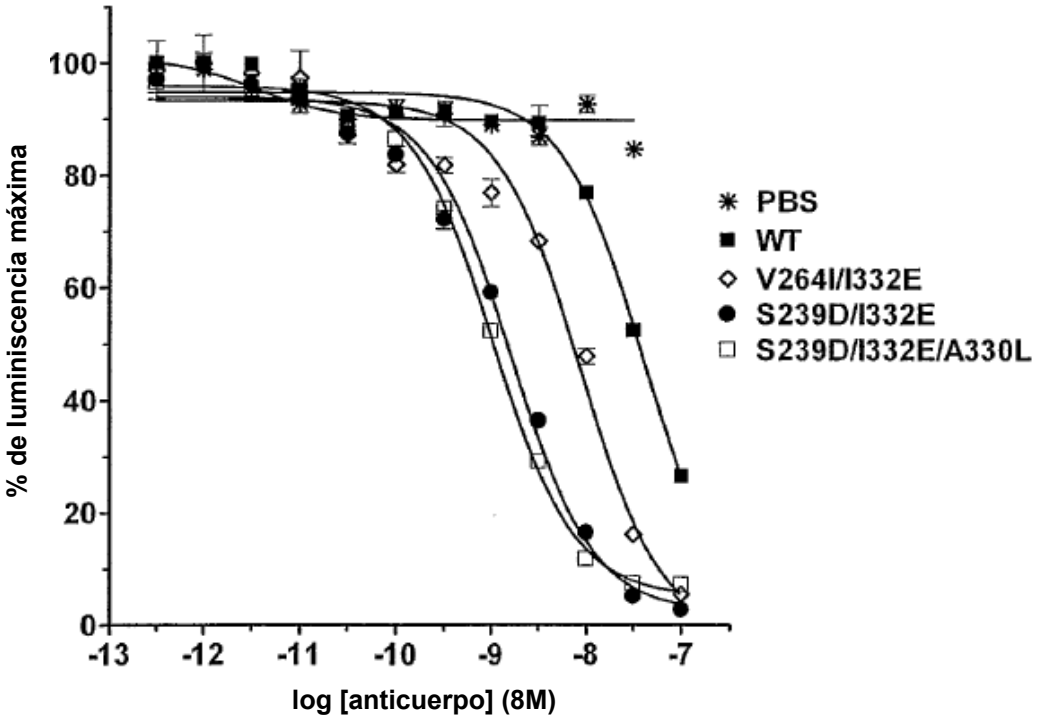

Figura 16a

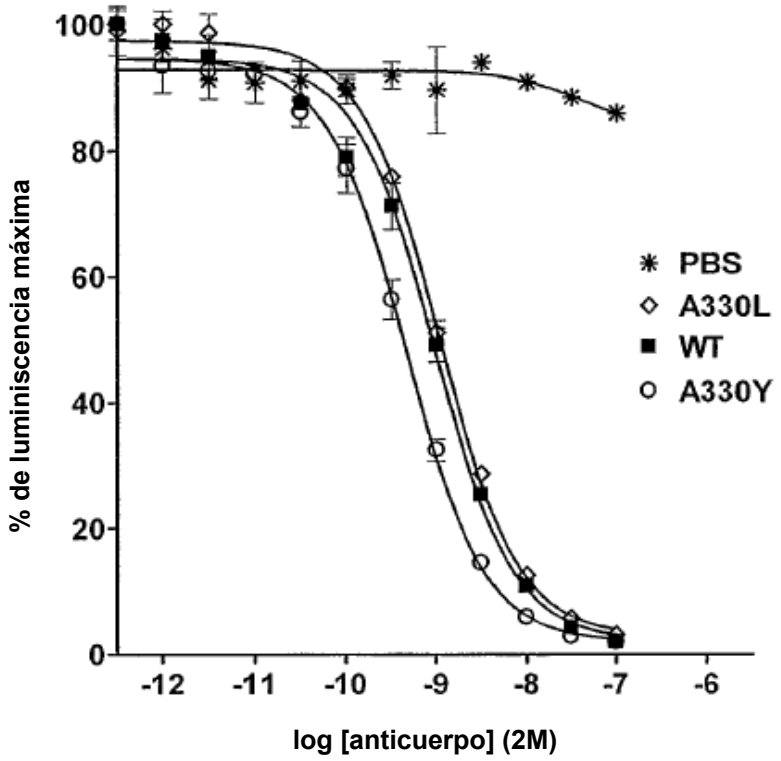

Figura 16b

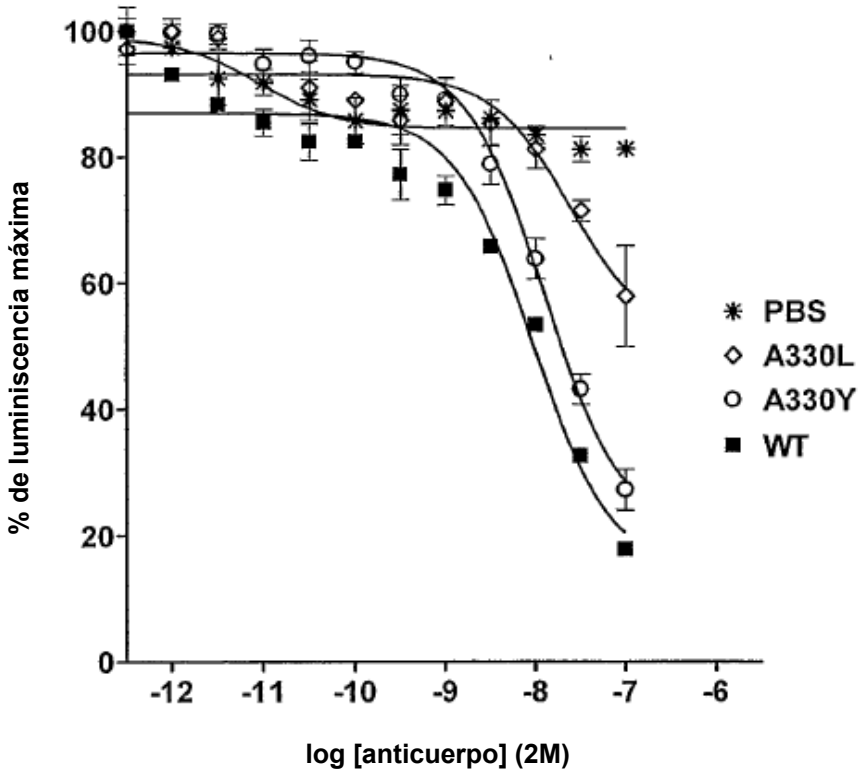

Figura 17

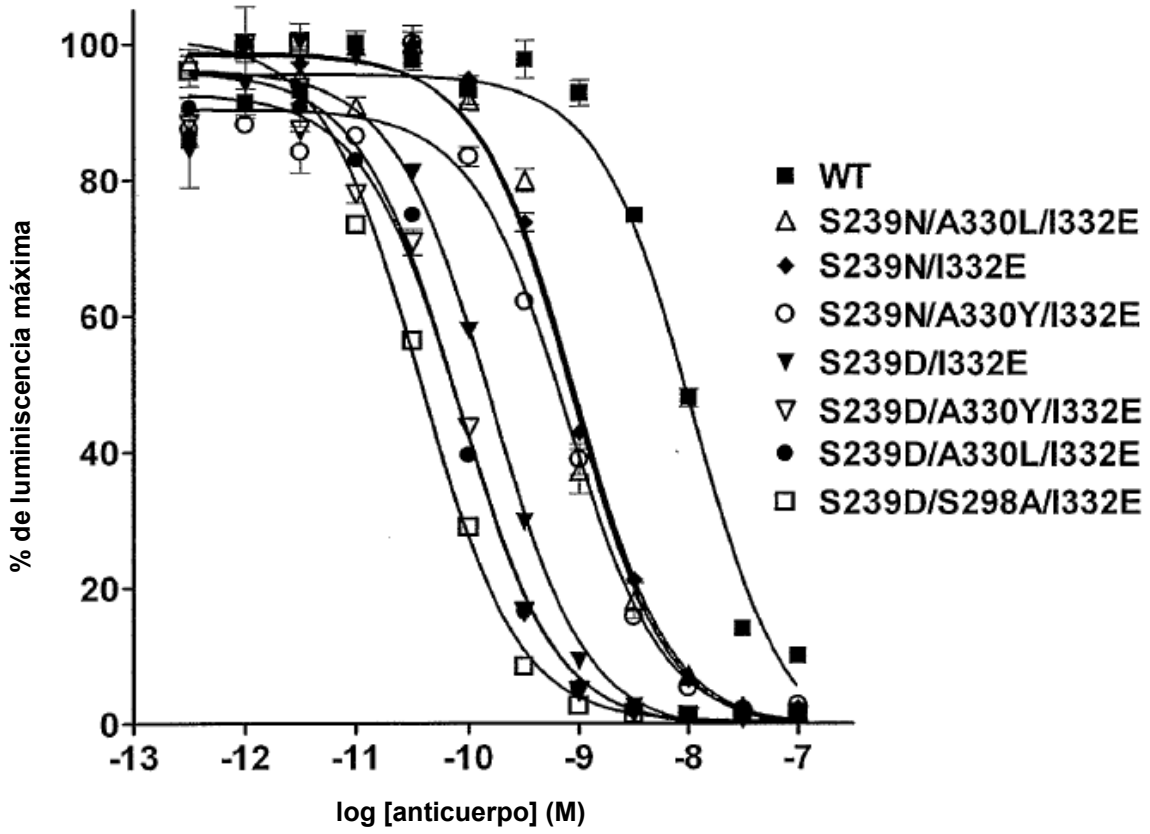
100
80
60
40
20
0
% de luminiscencia máxima
-13
-12
-11
-10
-9
-8
-7
log [anticuerpo] (M)
WT
S239N/A330L/I332E
S239N/I332E
S239N/A330Y/I332E
S239D/I332E
S239D/A330Y/I332E
S239D/A330L/I332E
S239D/S298A/I332E

Figura 18

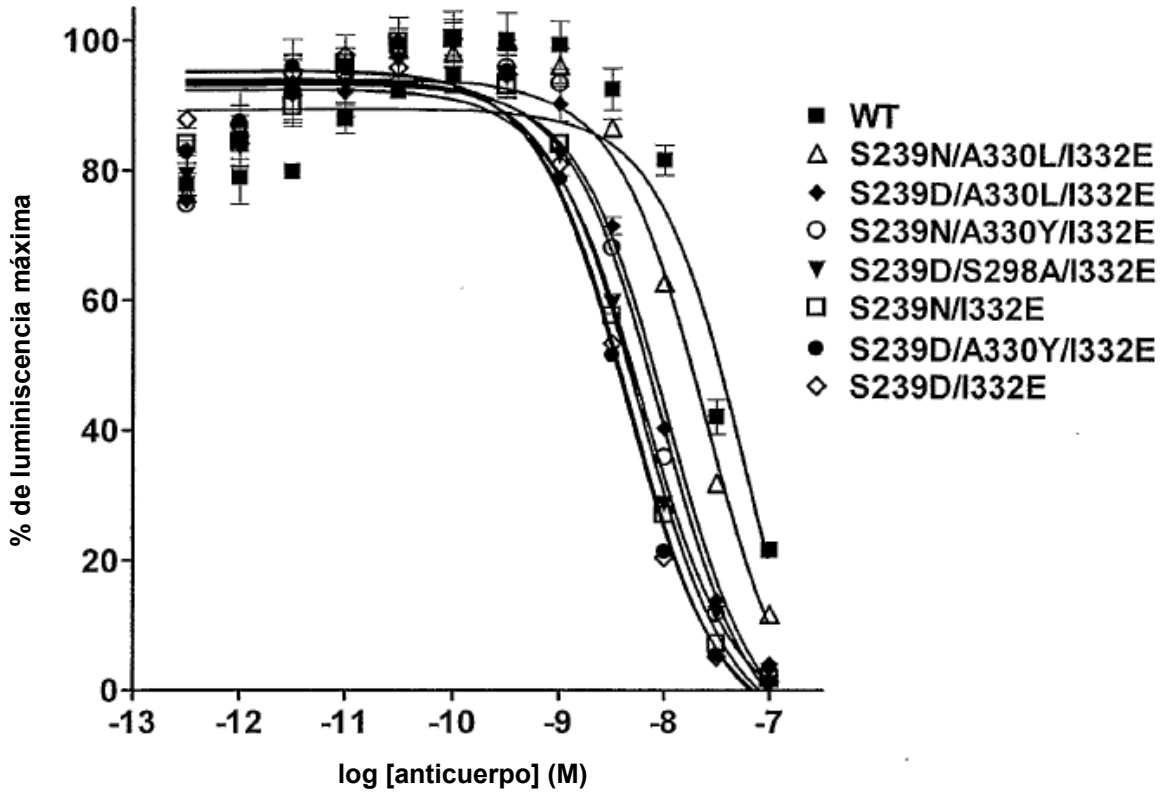
100
80
60
40
20
0
% de luminiscencia máxima
-13
-12
-11
-10
-9
-8
-7
log [anticuerpo] (M)
WT
S239N/A330L/I332E
S239D/A330L/I332E
S239N/A330Y/I332E
S239D/S298A/I332E
S239N/I332E
S239D/A330Y/I332E
S239D/I332E

Figura 19a

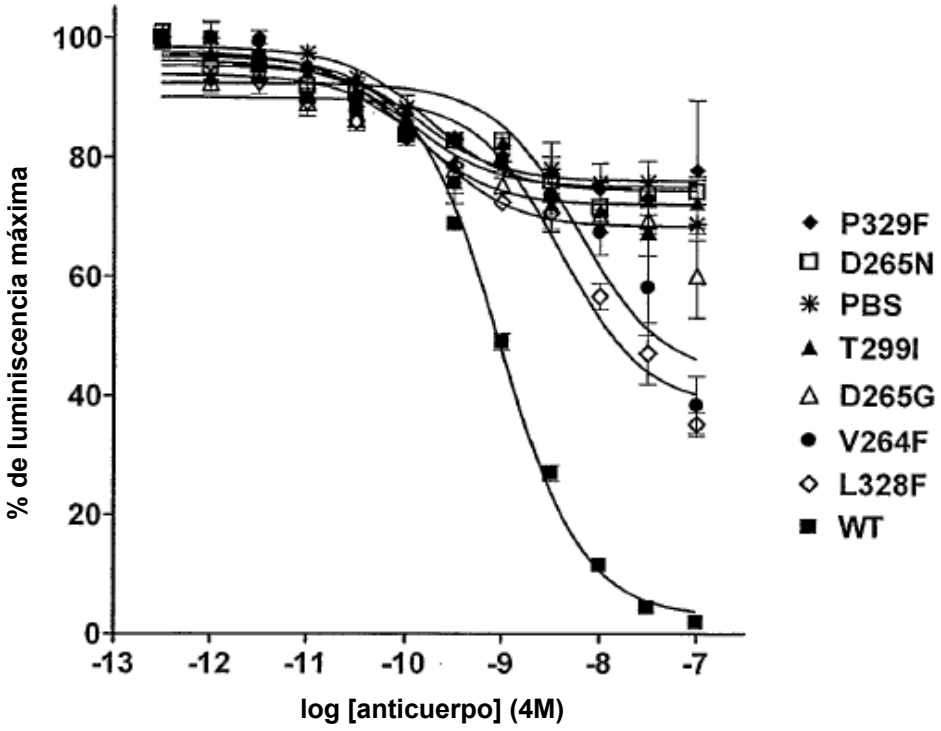

Figura 19b

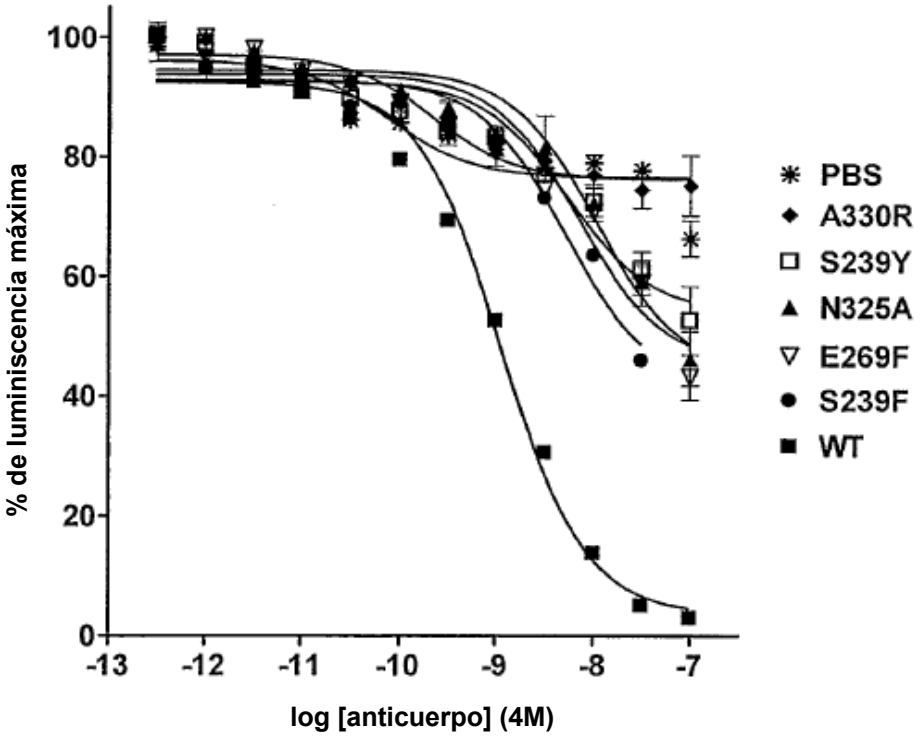

Figura 20

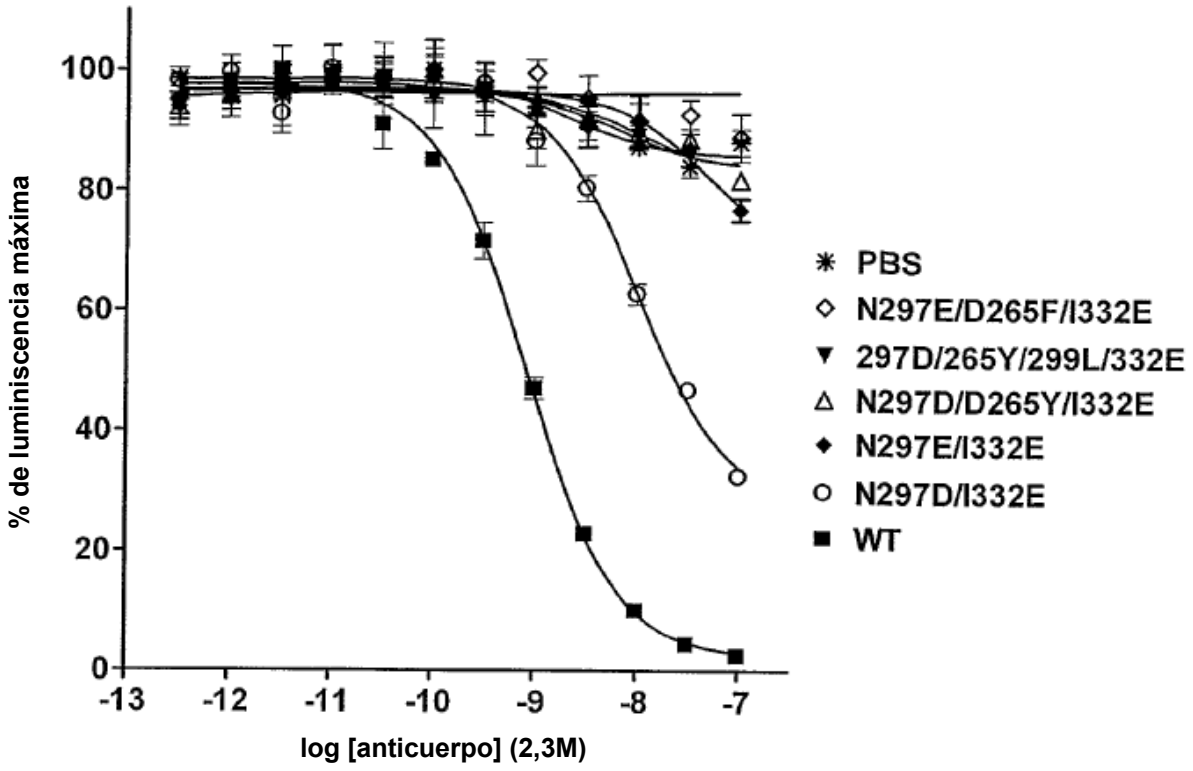
% de luminiscencia máxima
100
80
60
40
20
0
-13
-12
-11
-10
-9
-8
-7
log [anticuerpo] (2,3M)
PBS
N297E/D265F/I332E
297D/265Y/299L/332E
N297D/D265Y/I332E
N297E/I332E
N297D/I332E
WT

Figura 21

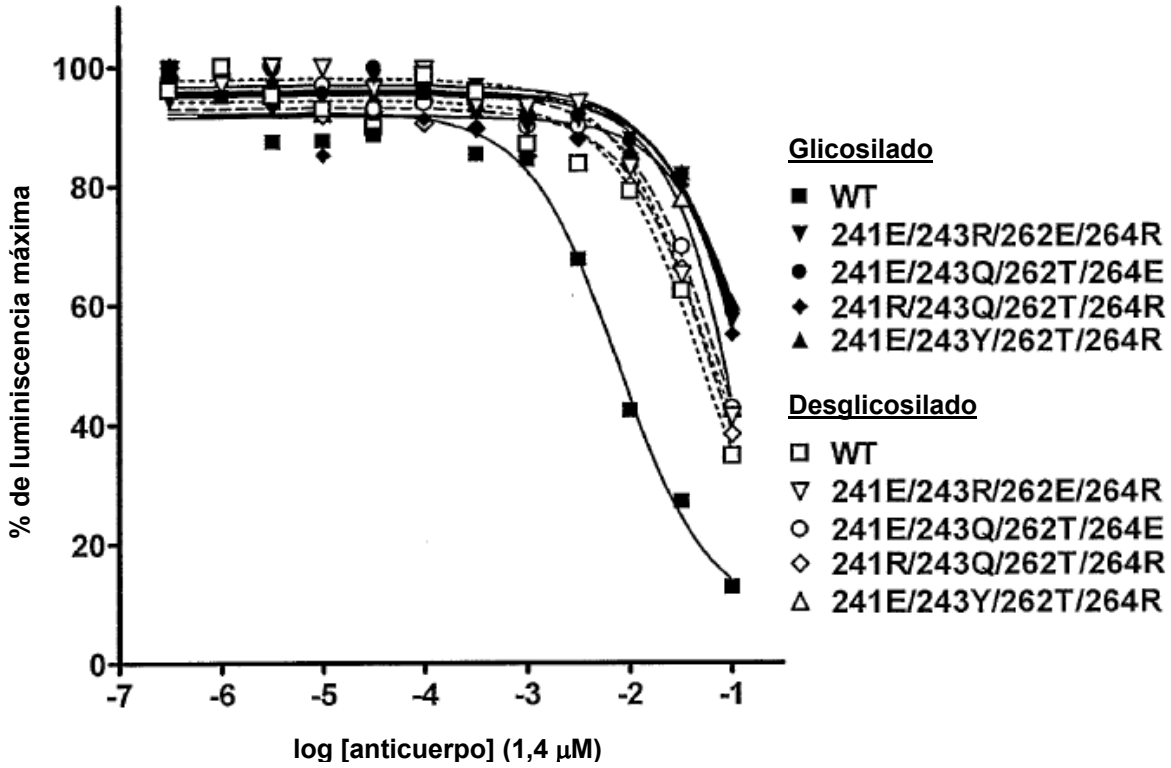
100
80
60
40
20
0
% de luminiscencia máxima
-7
-6
-5
-4
-3
-2
-1
log [anticuerpo] (1,4 μM)
Glicosilado
WT
241E/243R/262E/264R
241E/243Q/262T/264E
241R/243Q/262T/264R
241E/243Y/262T/264R
Desglicosilado
WT
241E/243R/262E/264R
241E/243Q/262T/264E
241R/243Q/262T/264R
241E/243Y/262T/264R

Figura 22a

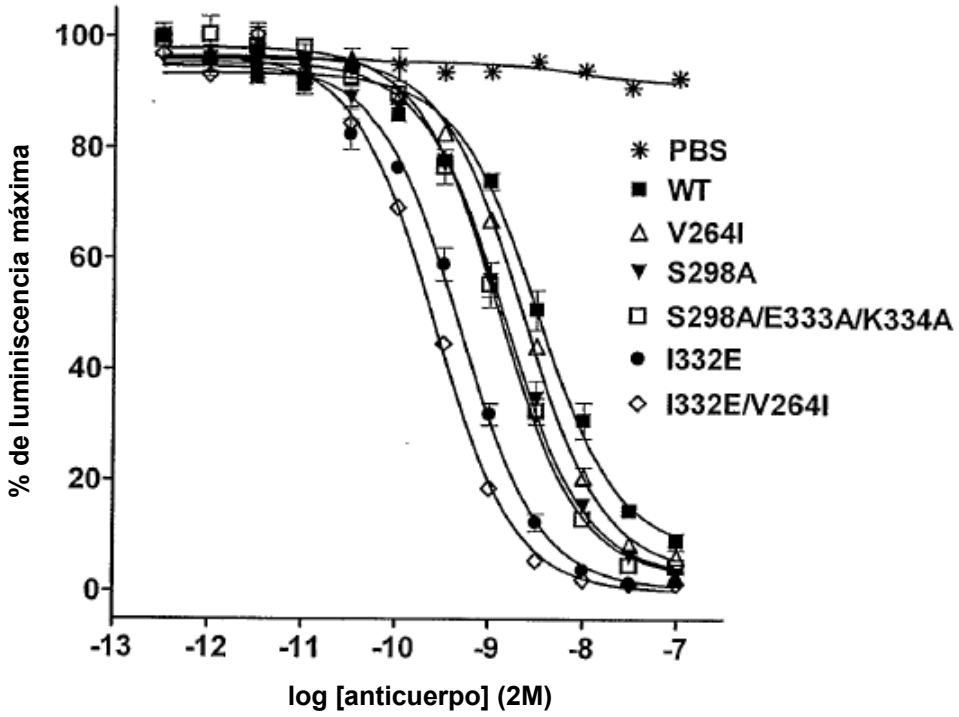

Figura 22b

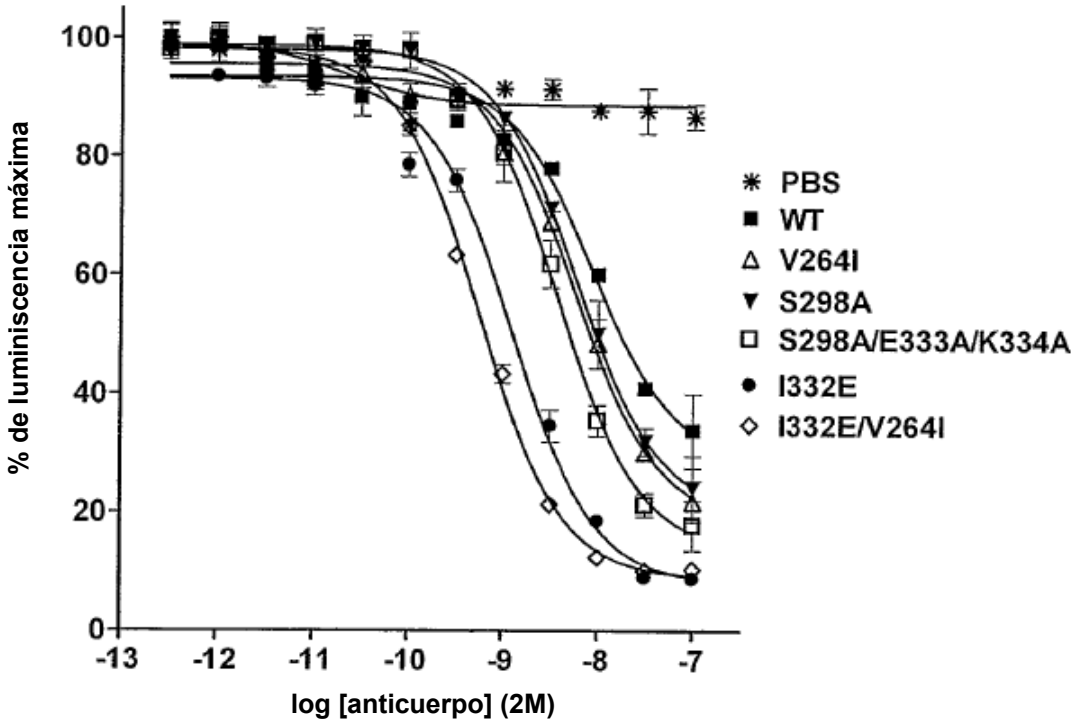

Figura 23a

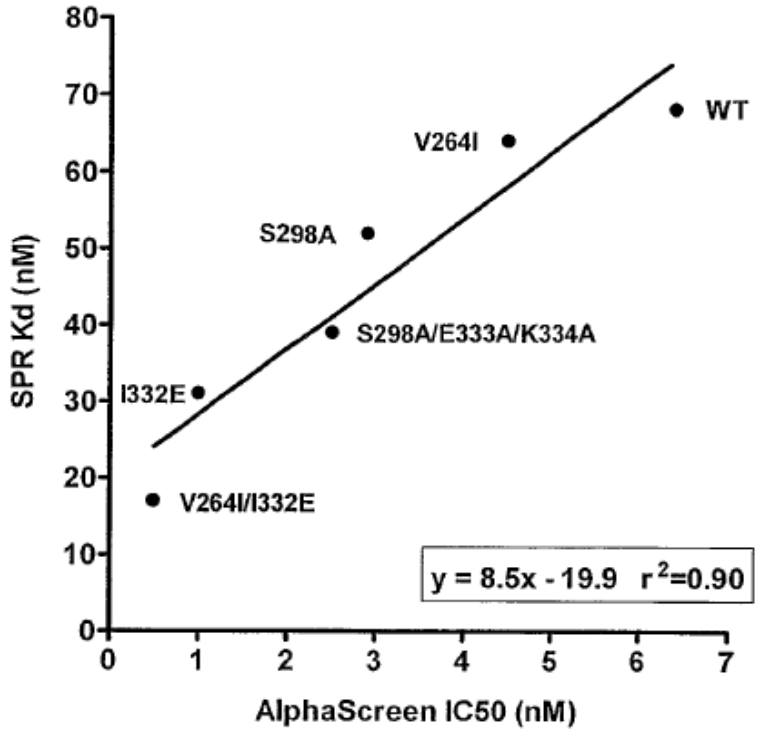

Figura 23b

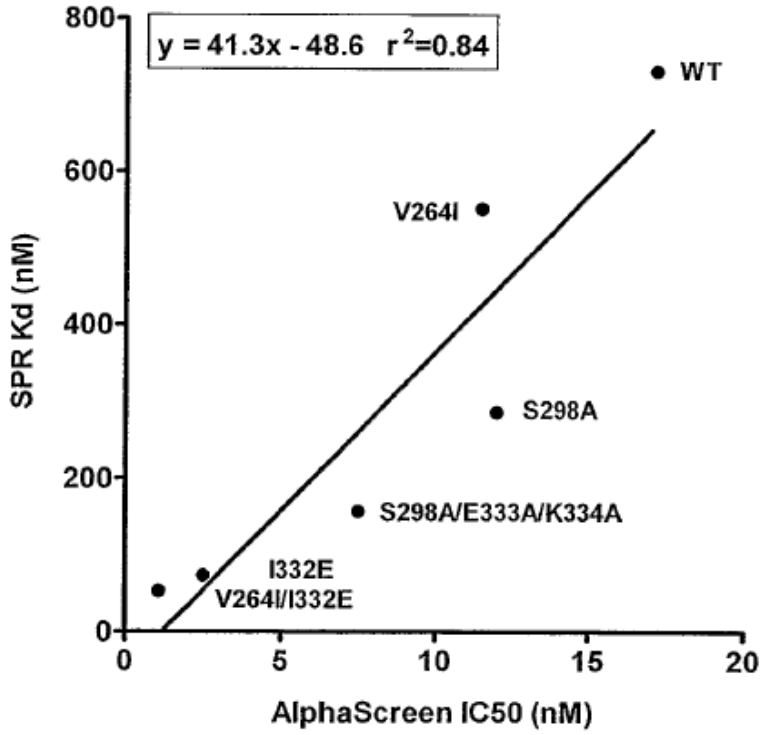

Figura 23c

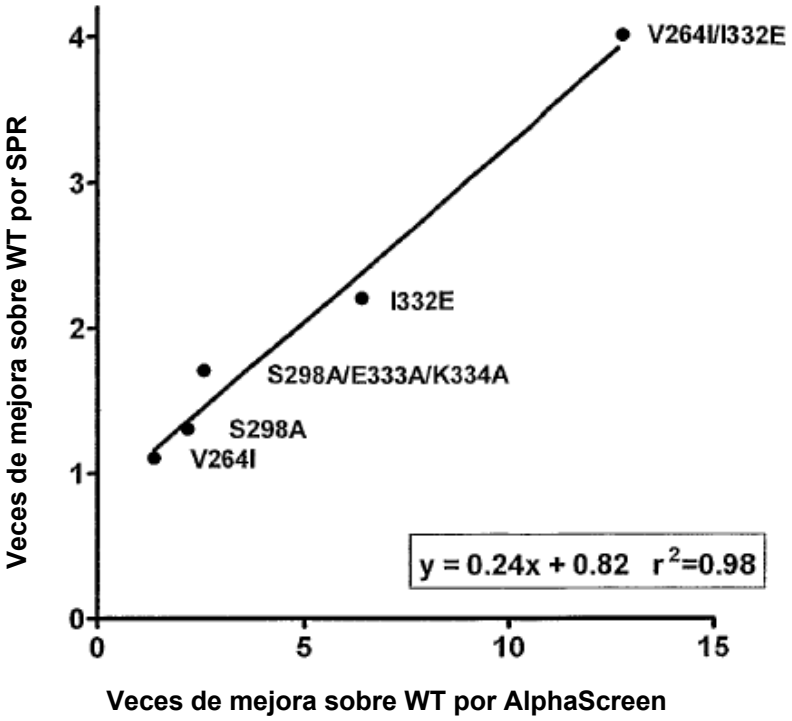

Figura 23d

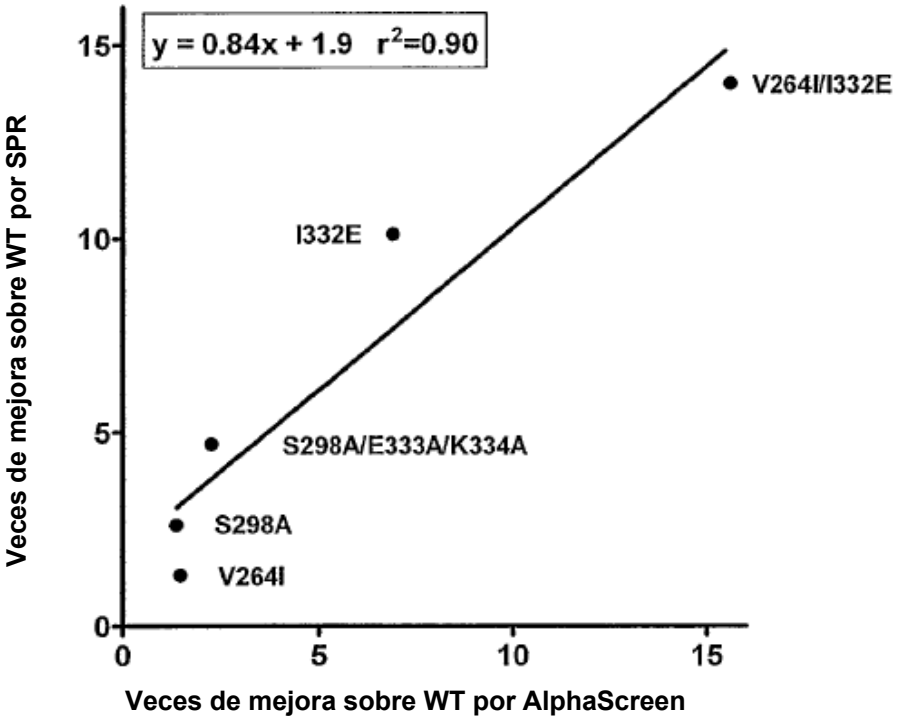

Figura 24a

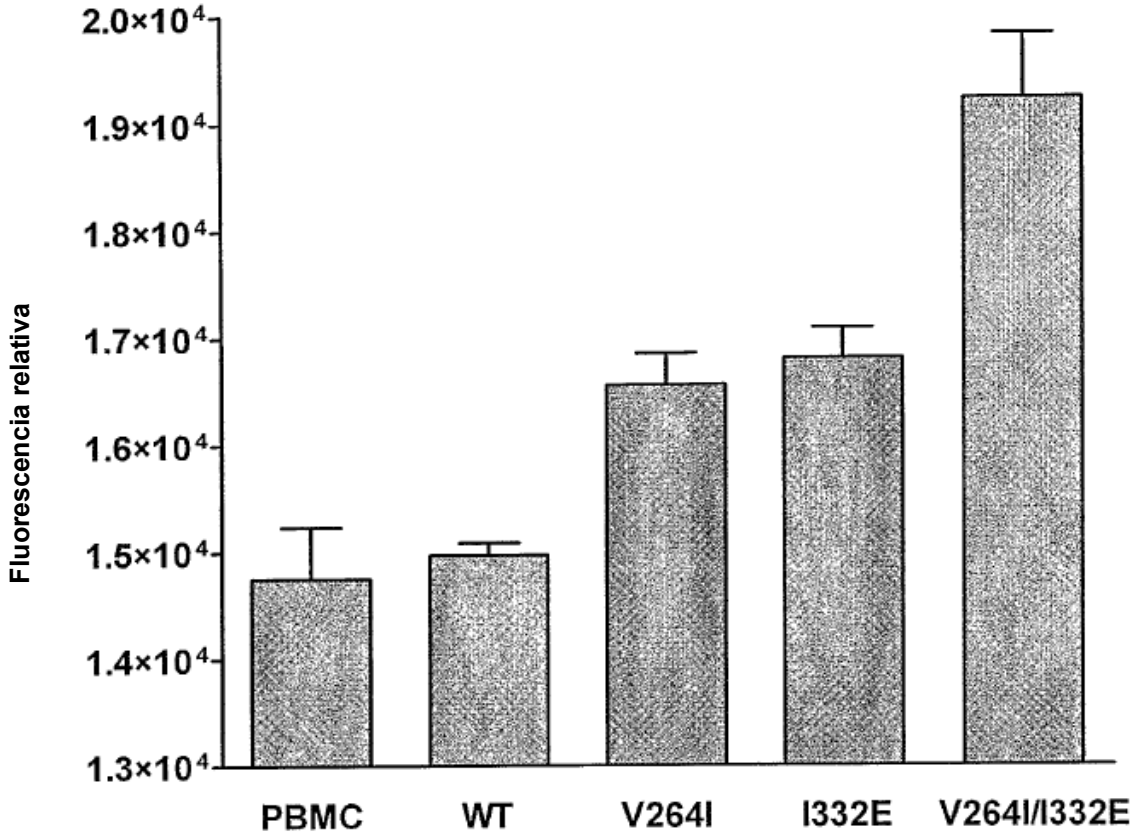
Fluorescencia relativa
2.0×10⁴
1.9×10⁴
1.8×10⁴
1.7×10⁴
1.6×10⁴
1.5×10⁴
1.4×10⁴
1.3×10⁴
PBMC
WT
V264I
I332E
V264I/I332E

Figura 24b

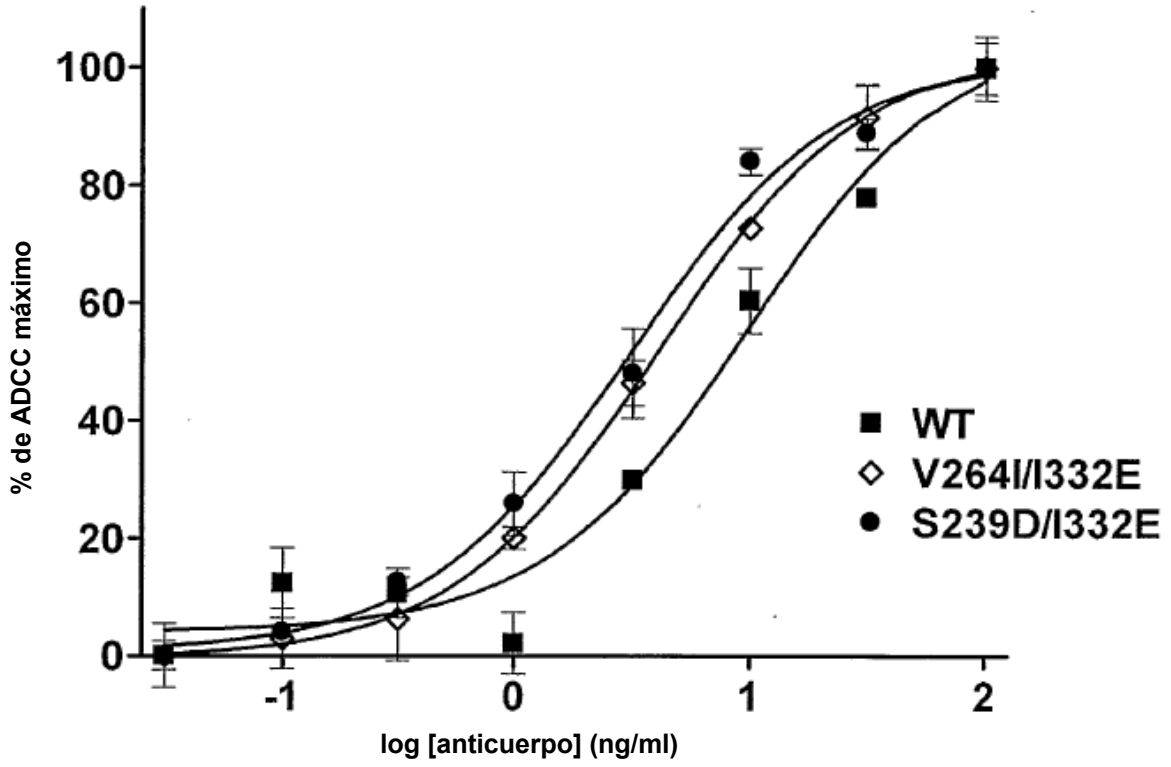
100
80
60
40
20
0
% de ADCC máximo
-1
0
1
2
log [anticuerpo] (ng/ml)
WT
V264I/I332E
S239D/I332E

Figura 25a

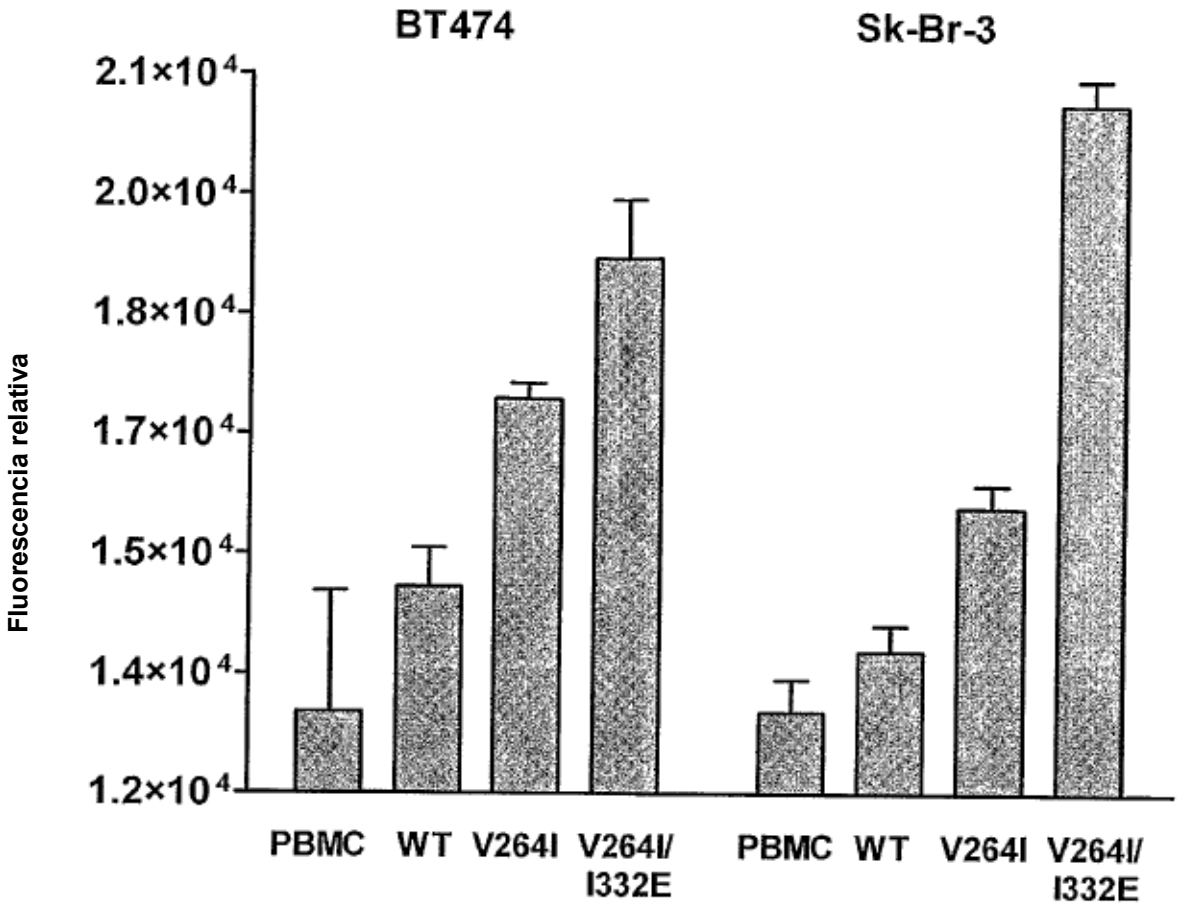
BT474
Sk-Br-3
Fluorescencia relativa
2.1×10⁴
2.0×10⁴
1.8×10⁴
1.7×10⁴
1.5×10⁴
1.4×10⁴
1.2×10⁴
PBMC
WT
V264I
V264I/ I332E
PBMC
WT
V264I
V264I/ I332E

Figura 25b

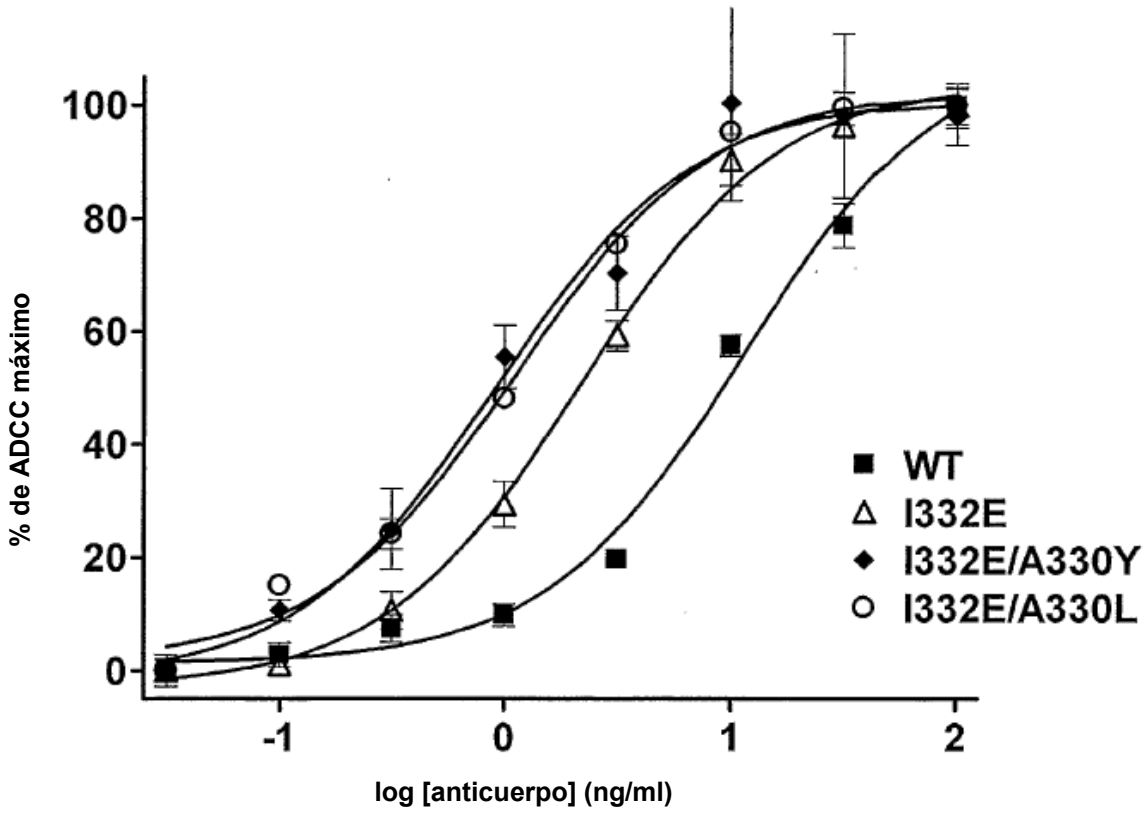
100
80
60
40
20
0
% de ADCC máximo
-1
0
1
2
log [anticuerpo] (ng/ml)
WT
I332E
I332E/A330Y
I332E/A330L

Figura 25c

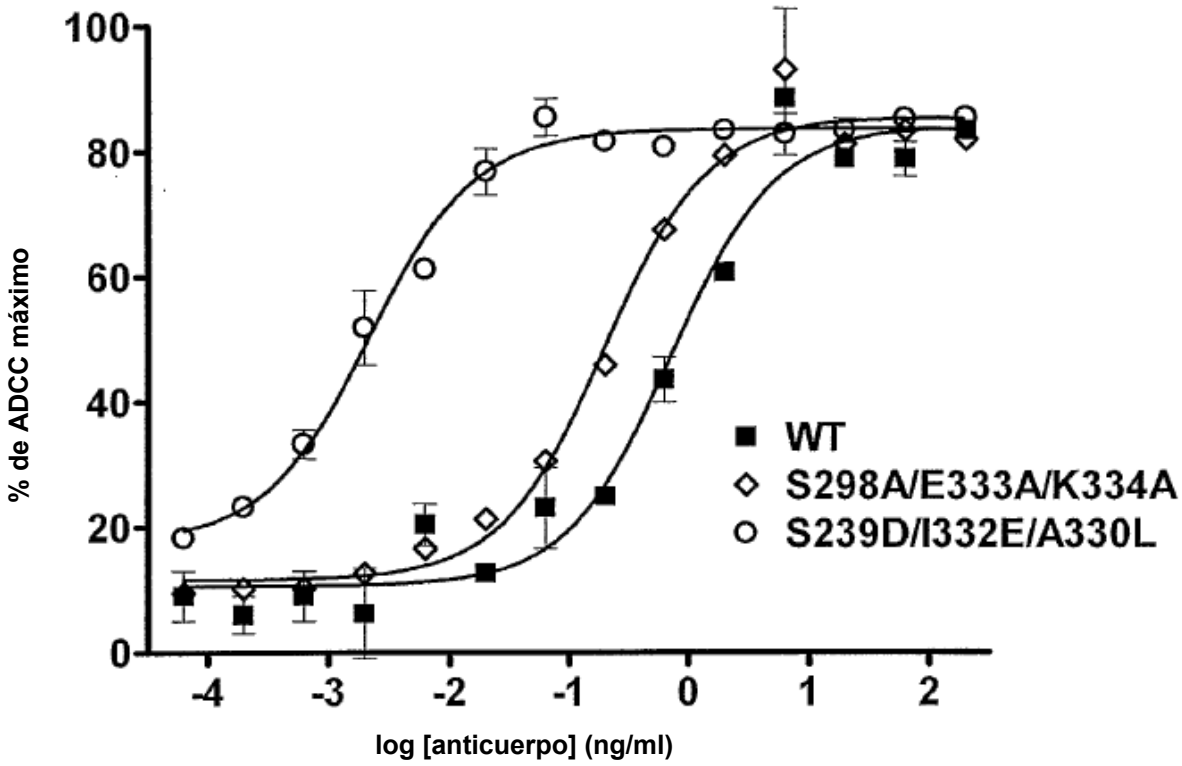
100
80
60
40
20
0
% de ADCC máximo
-4
-3
-2
-1
0
1
2
log [anticuerpo] (ng/ml)
WT
S298A/E333A/K334A
S239D/I332E/A330L

Figura 26a

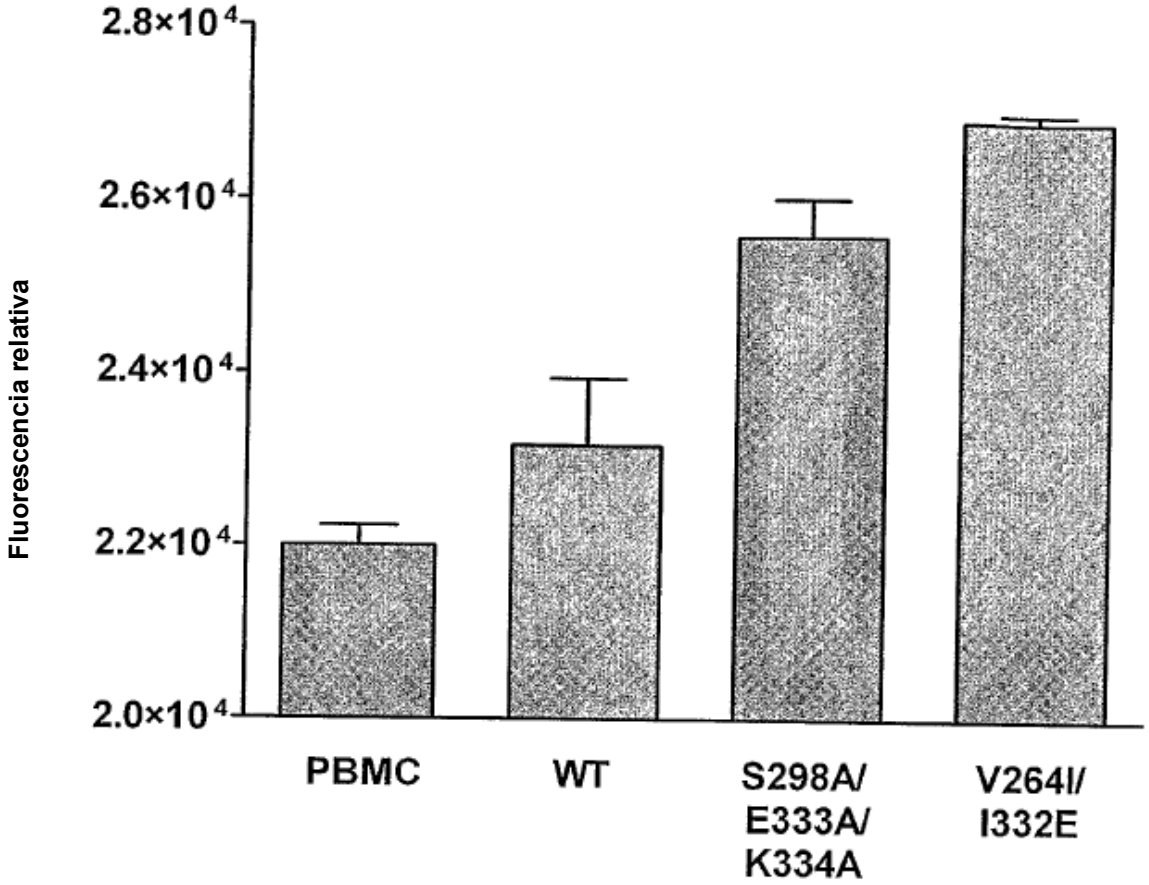
2.8×10⁴
2.6×10⁴
2.4×10⁴
2.2×10⁴
2.0×10⁴
Fluorescencia relativa
PBMC
WT
S298A/
E333A/
K334A
V264I/
I332E

Figura 26b

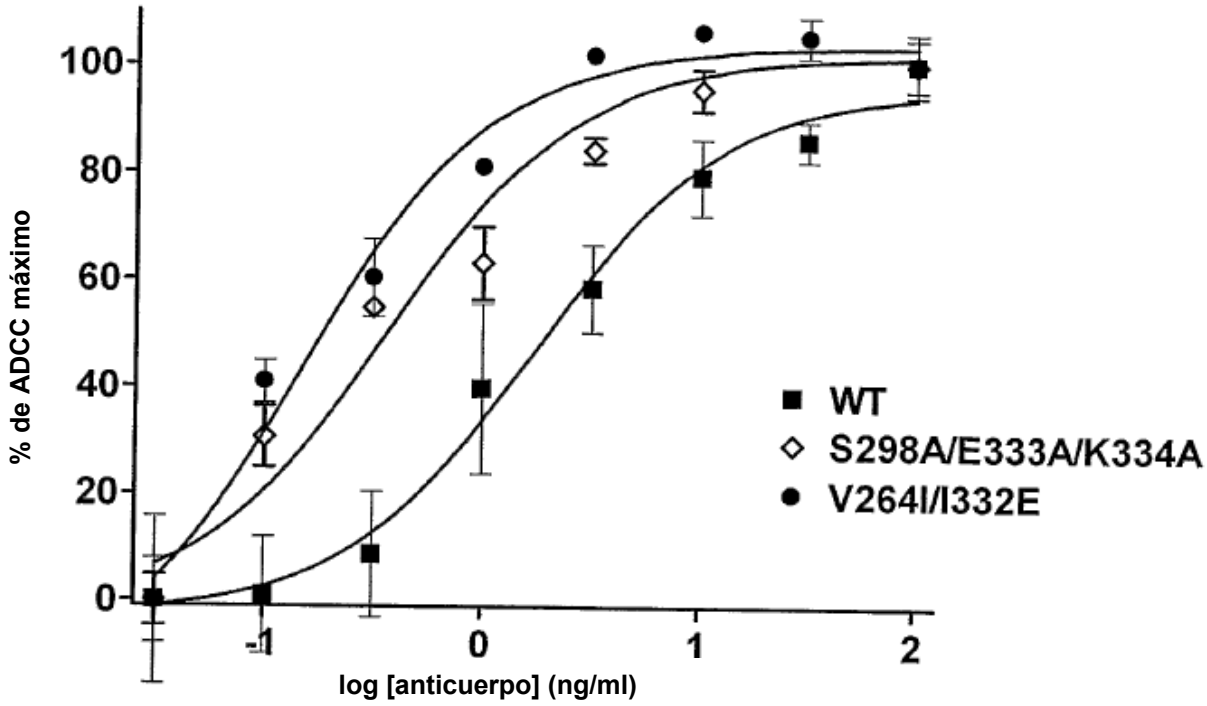
100
80
60
40
20
0
% de ADCC máximo
-1
0
1
2
log [anticuerpo] (ng/ml)
WT
S298A/E333A/K334A
V264I/I332E

Figura 26c

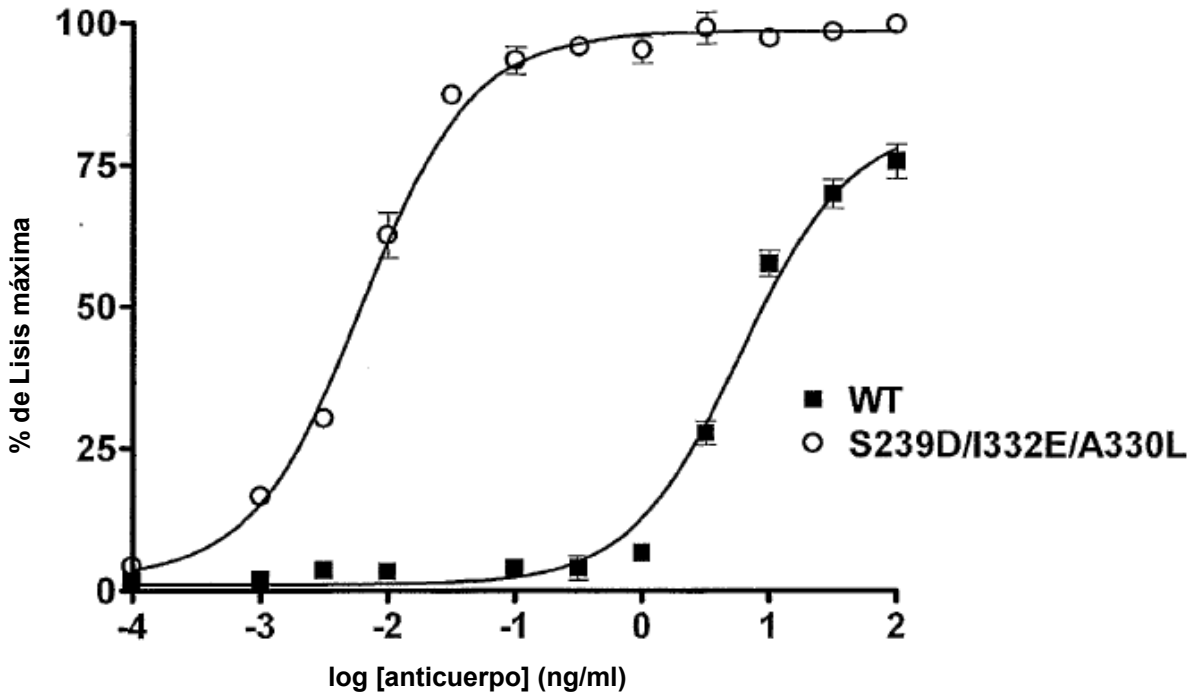
100
75
50
25
0
% de Lisis máxima
-4
-3
-2
-1
0
1
2
log [anticuerpo] (ng/ml)
WT
S239D/I332E/A330L

Figura 27a

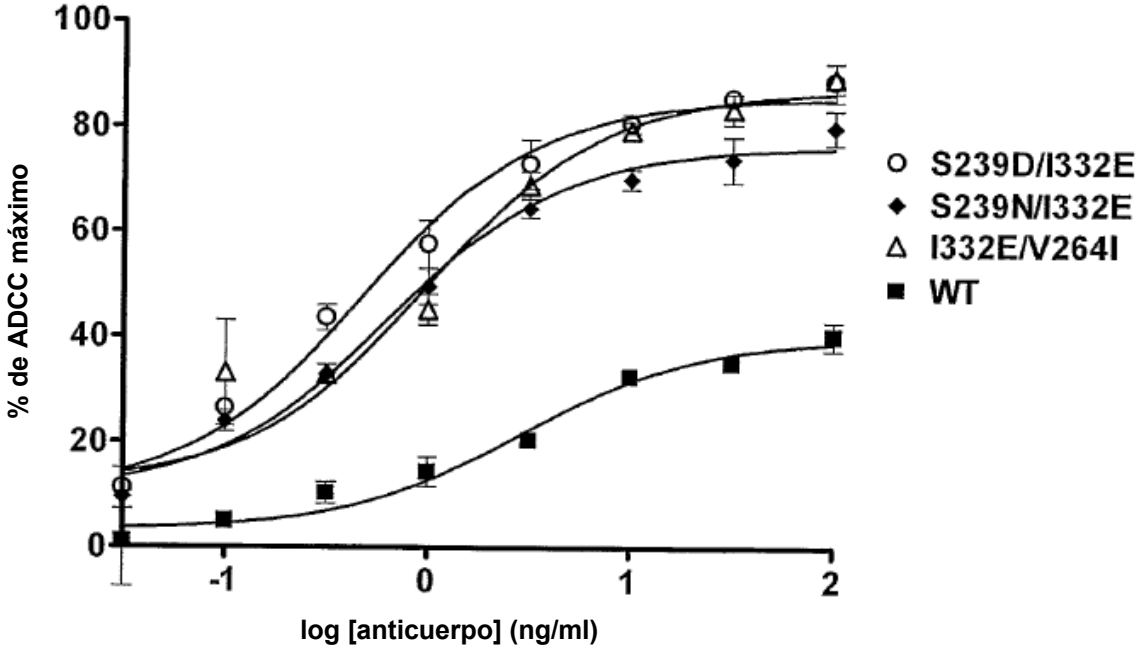

Figura 27b

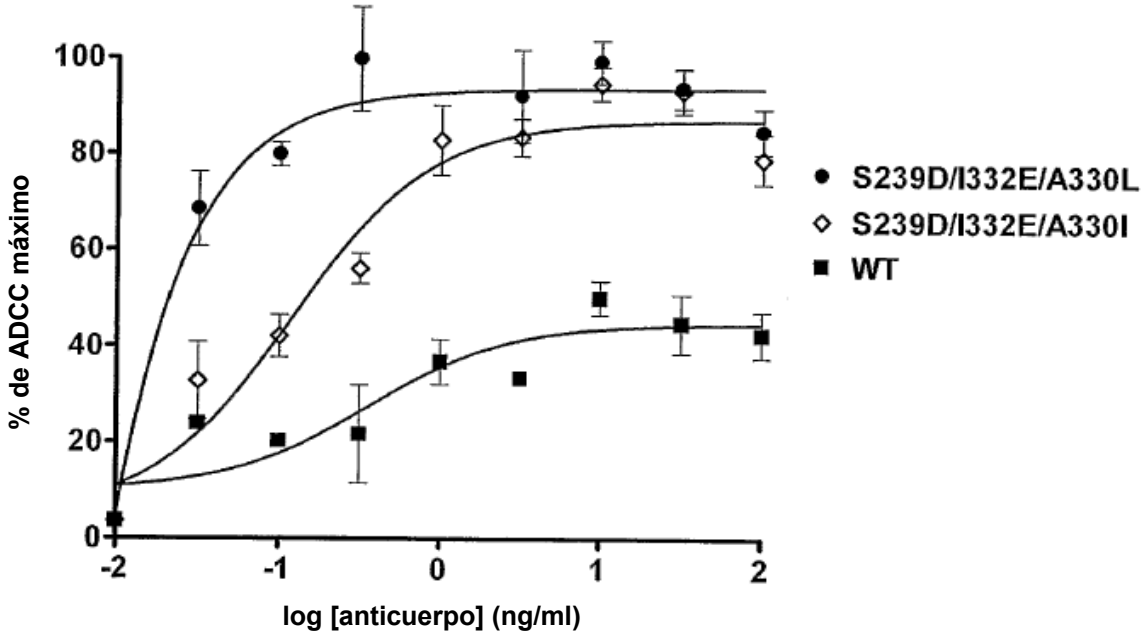

Figura 28

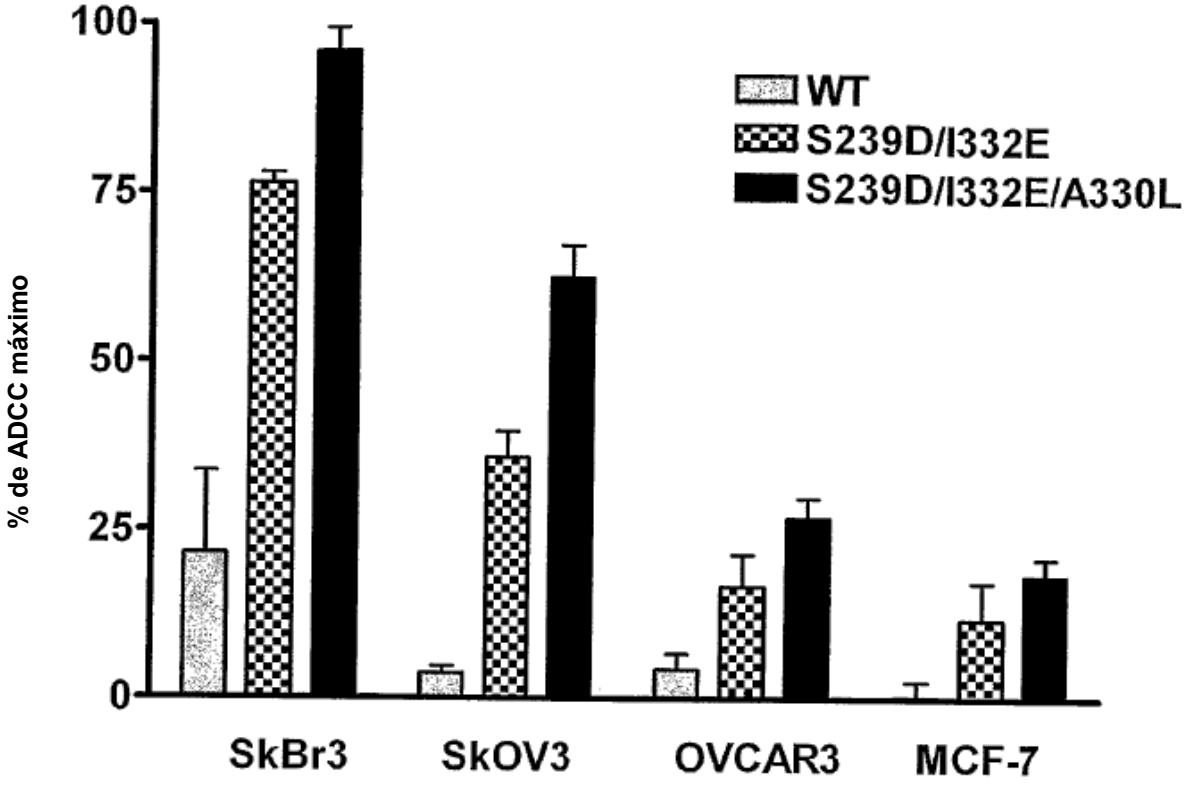
100
75
50
25
0
% de ADCC máximo
WT
S239D/I332E
S239D/I332E/A330L
SkBr3
SkOV3
OVCAR3
MCF-7

Figura 29

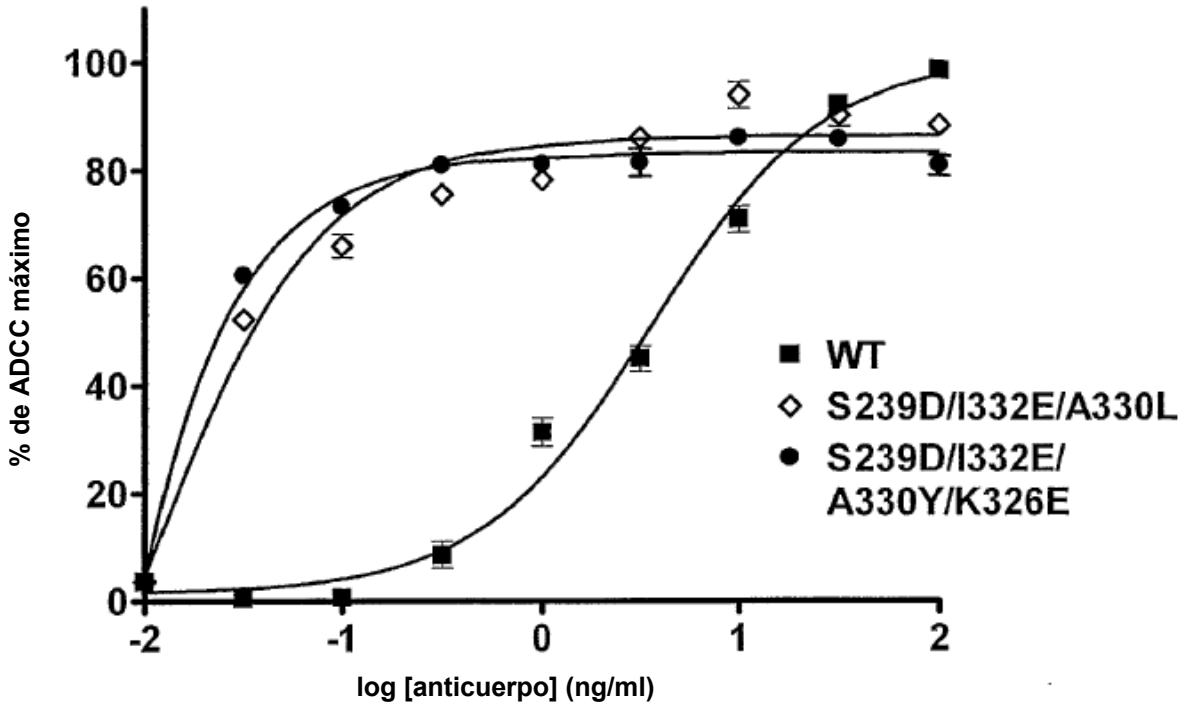
100
80
60
40
20
0
% de ADCC máximo
-2
-1
0
1
2
log [anticuerpo] (ng/ml)
WT
S239D/I332E/A330L
S239D/I332E/
A330Y/K326E

Figura 30

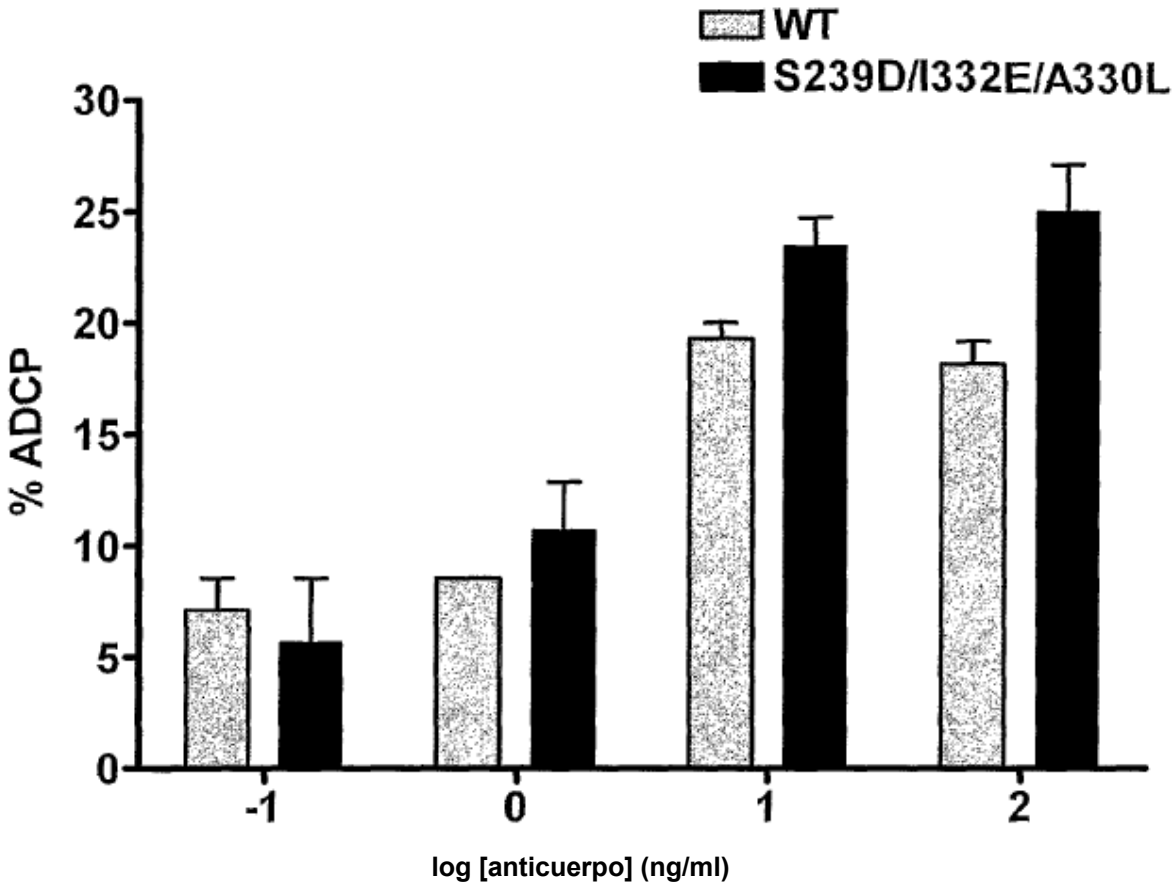
WT
S239D/I332E/A330L
% ADCP
30
25
20
15
10
5
0
-1
0
1
2
log [anticuerpo] (ng/ml)

Figura 31a

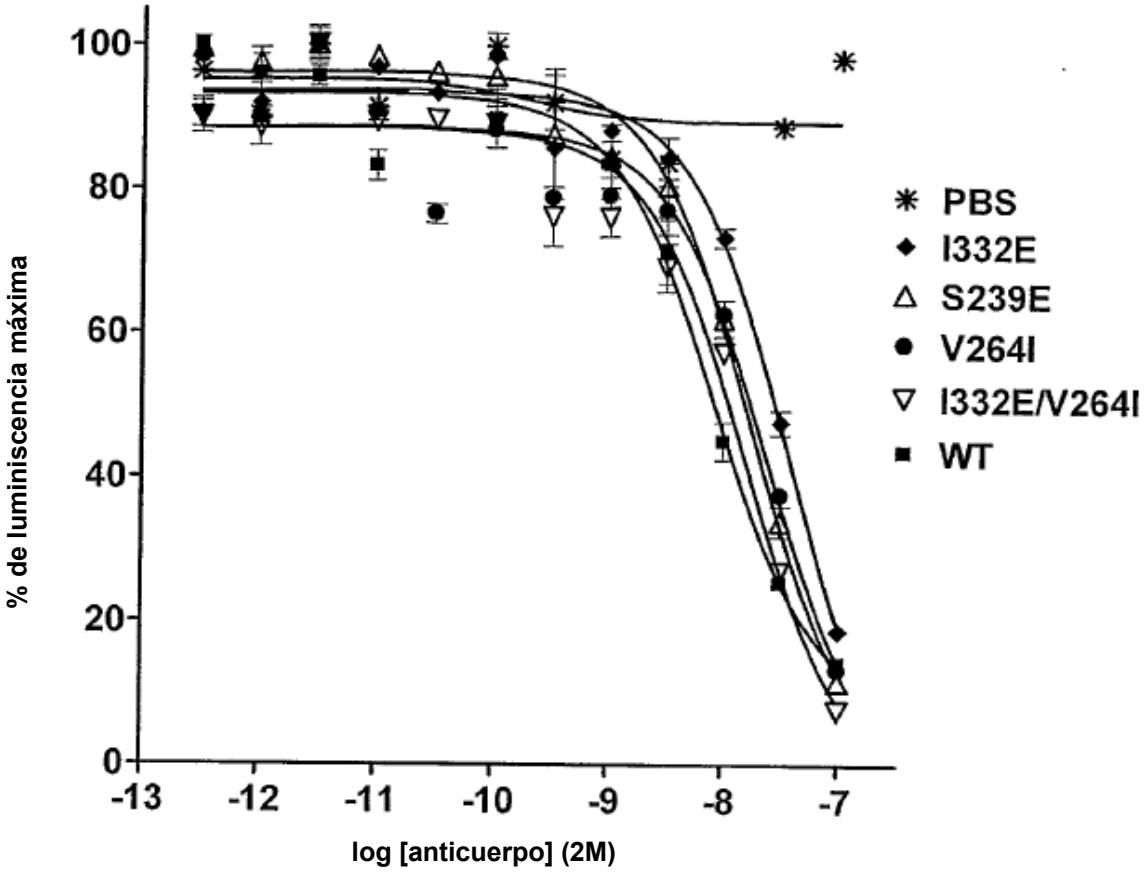
100
80
60
40
20
0
% de luminiscencia máxima
-13
-12
-11
-10
-9
-8
-7
log [anticuerpo] (2M)
PBS
I332E
S239E
V264I
I332E/V264I
WT

Figura 31b

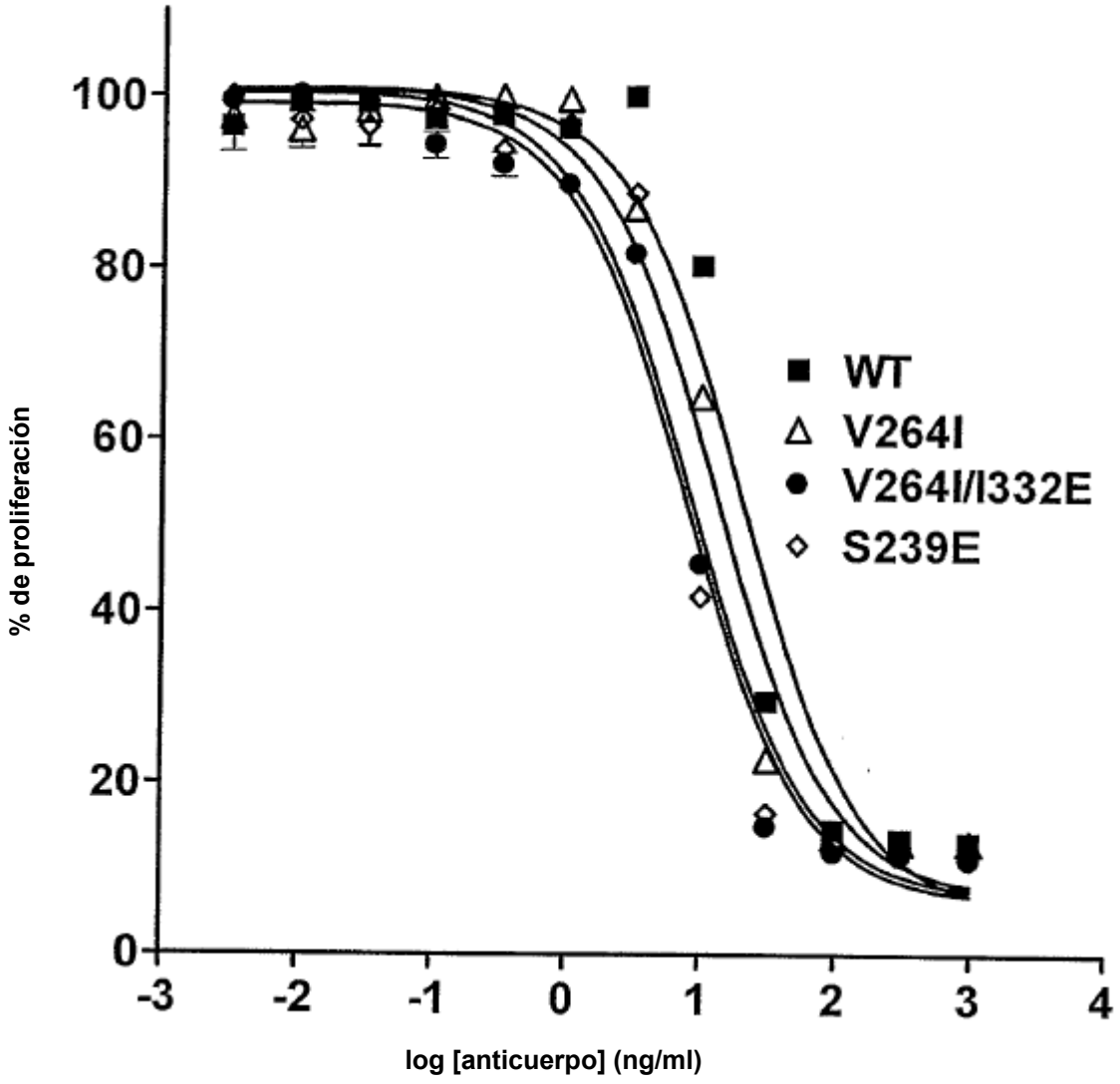
100
80
60
40
20
0
% de proliferación
-3
-2
-1
0
1
2
3
4
log [anticuerpo] (ng/ml)
WT
V264I
V264I/I332E
S239E

Figura 31c

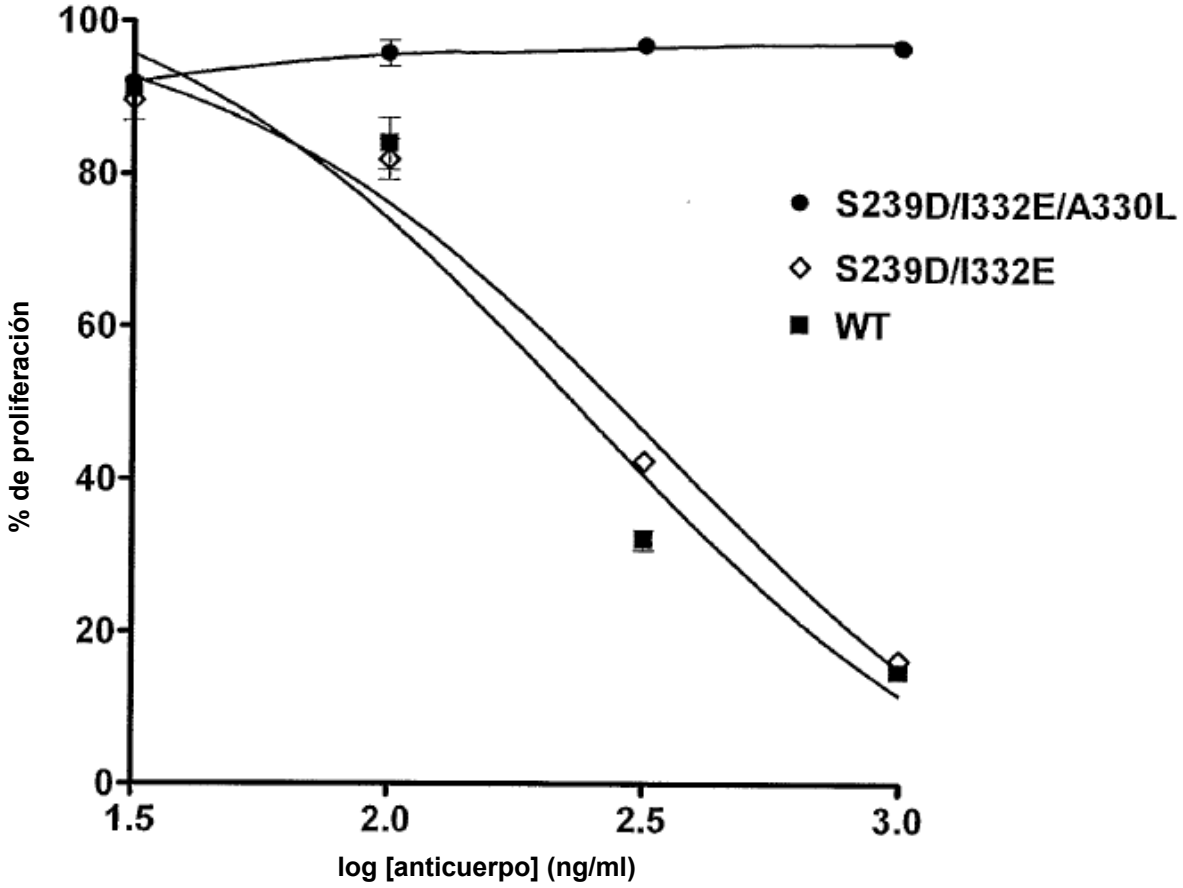
100
80
60
40
20
0
% de proliferación
1.5
2.0
2.5
3.0
log [anticuerpo] (ng/ml)
S239D/I332E/A330L
S239D/I332E
WT

Figura 32

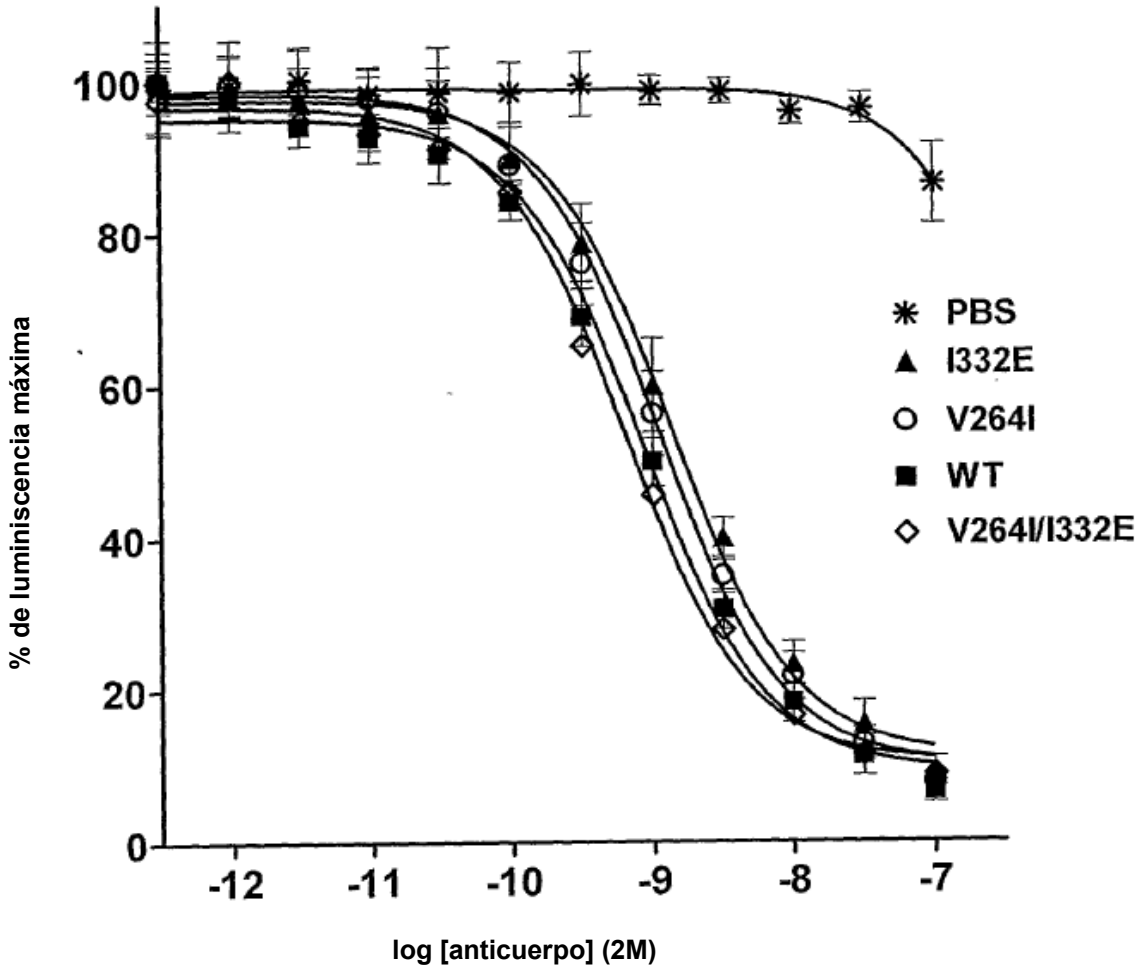
100
80
60
40
20
0
% de luminiscencia máxima
-12
-11
-10
-9
-8
-7
log [anticuerpo] (2M)
PBS
I332E
V264I
WT
V264I/I332E

Figura 33

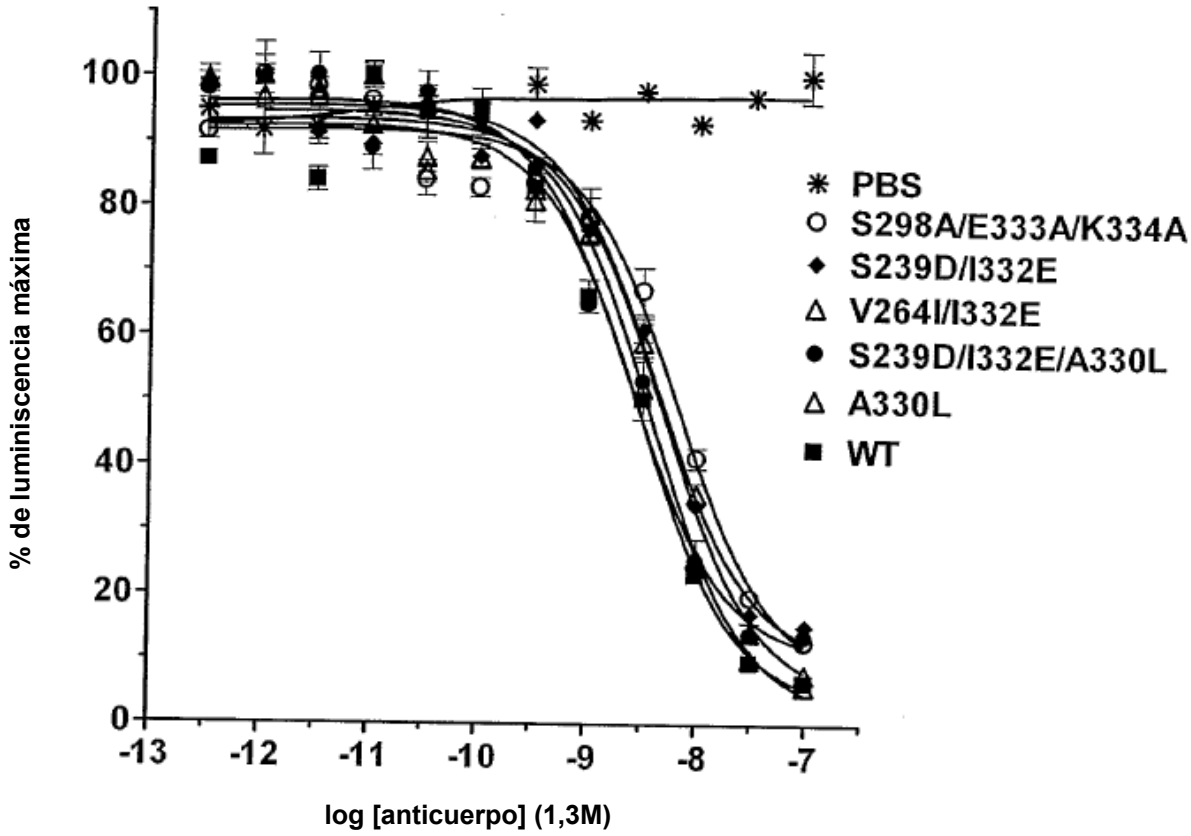
100
80
60
40
20
0
% de luminiscencia máxima
-13
-12
-11
-10
-9
-8
-7
log [anticuerpo] (1,3M)
PBS
S298A/E333A/K334A
S239D/I332E
V264I/I332E
S239D/I332E/A330L
A330L
WT

Figura 34a

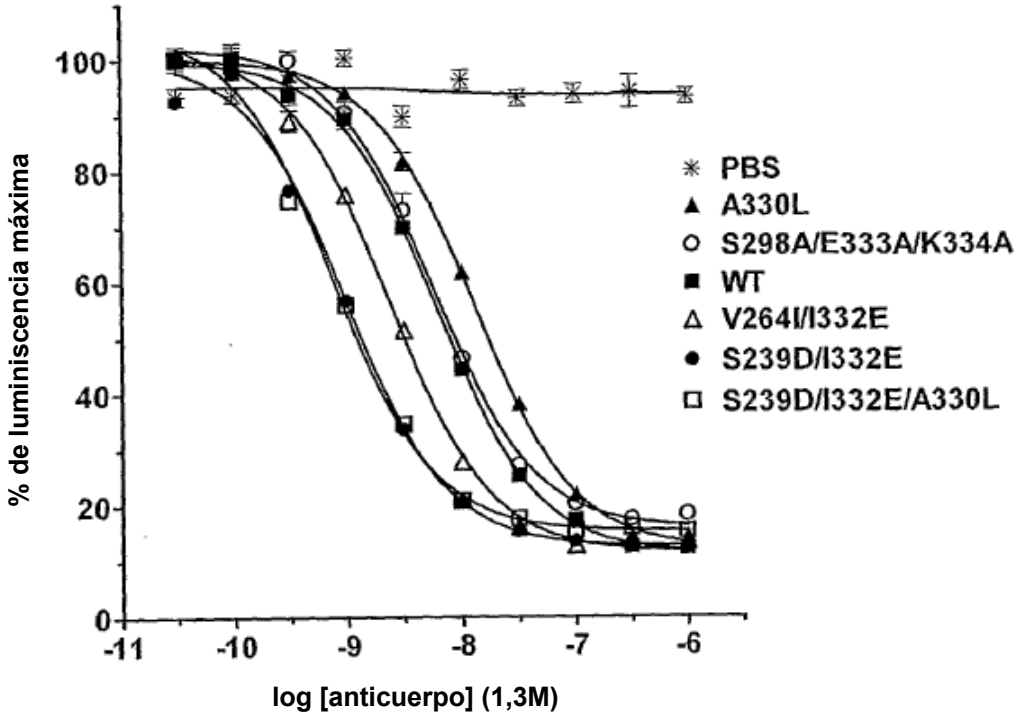

Figura 34b

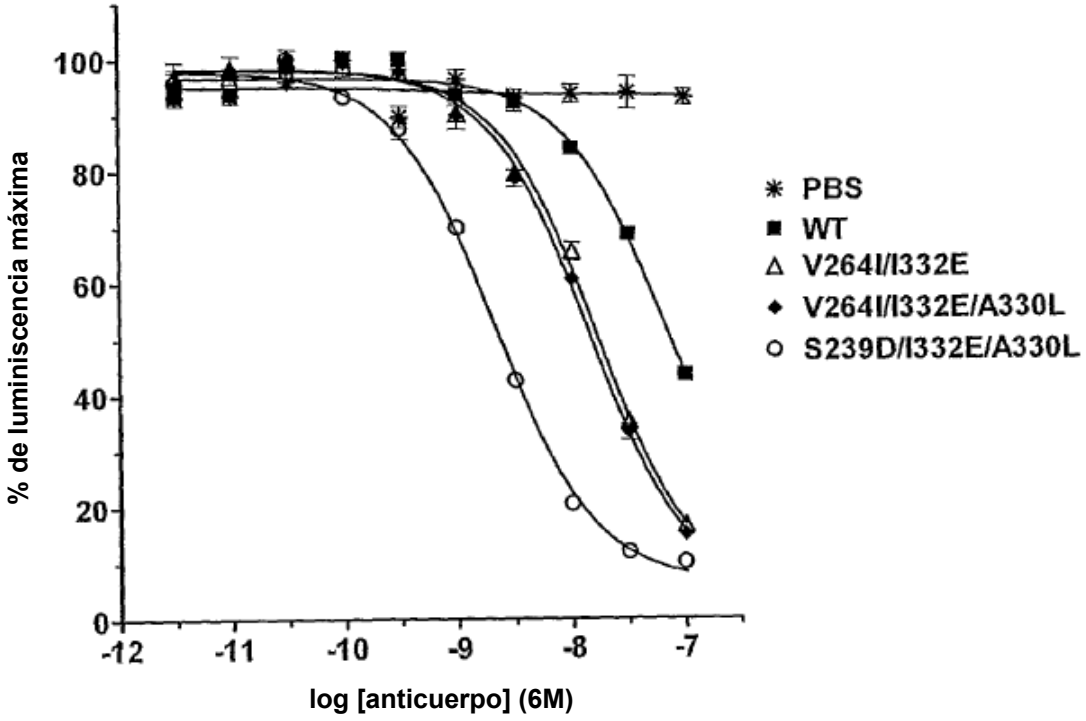

Figura 35

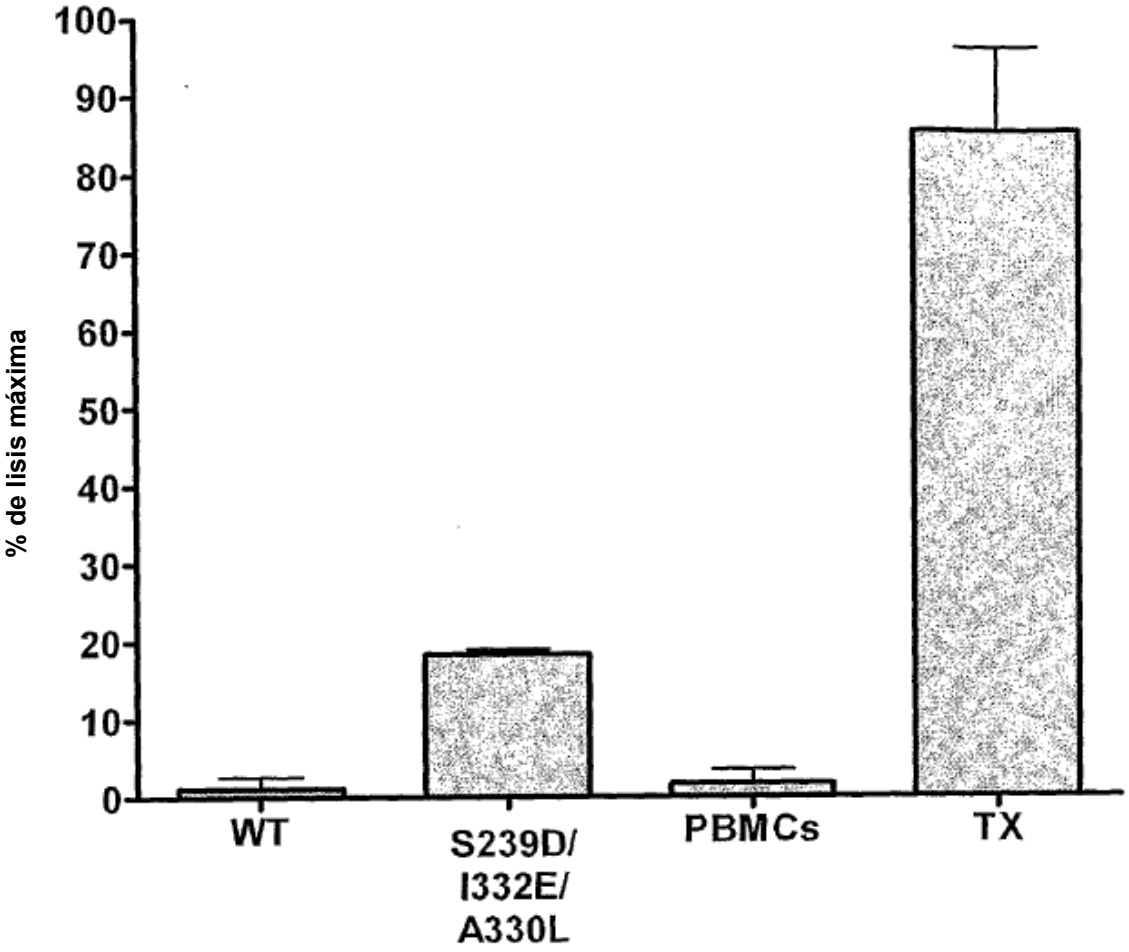
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
% de lisis máxima
WT
S239D/
I332E/
A330L
PBMCs
TX

Figura 36

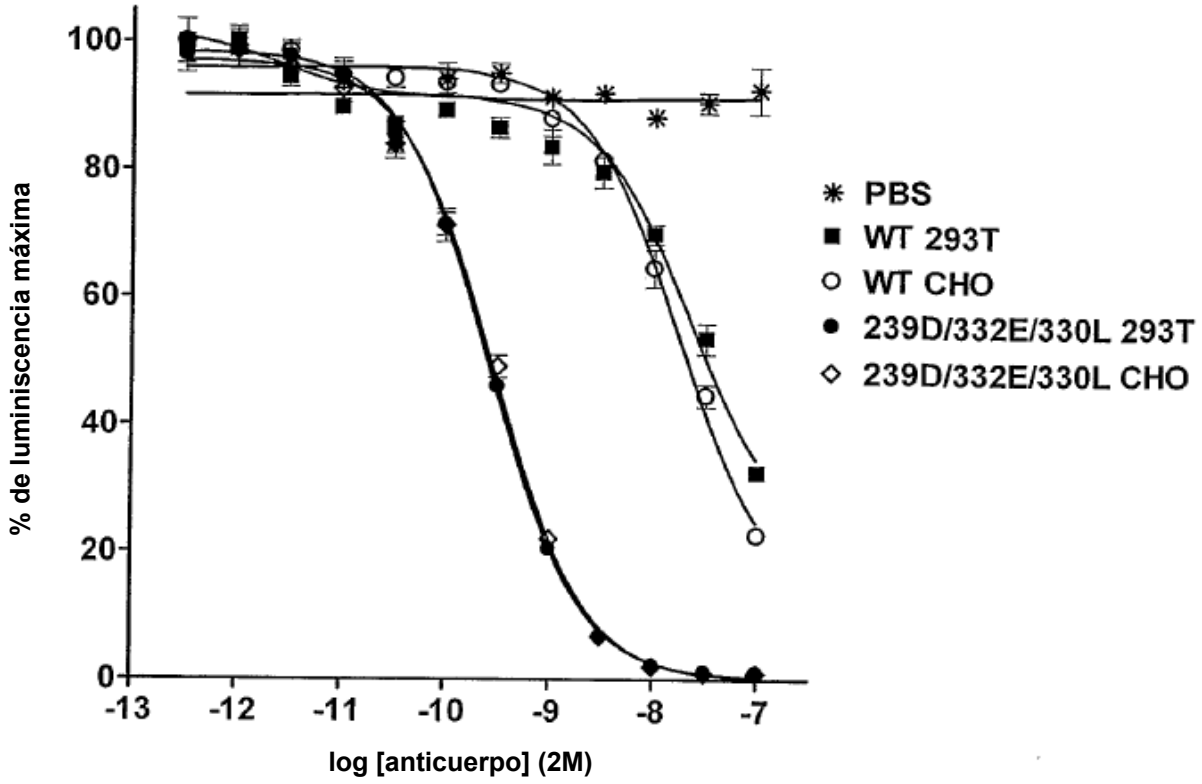
100
80
60
40
20
0
% de luminiscencia máxima
-13
-12
-11
-10
-9
-8
-7
log [anticuerpo] (2M)
PBS
WT 293T
WT CHO
239D/332E/330L 293T
239D/332E/330L CHO

Figura 37a

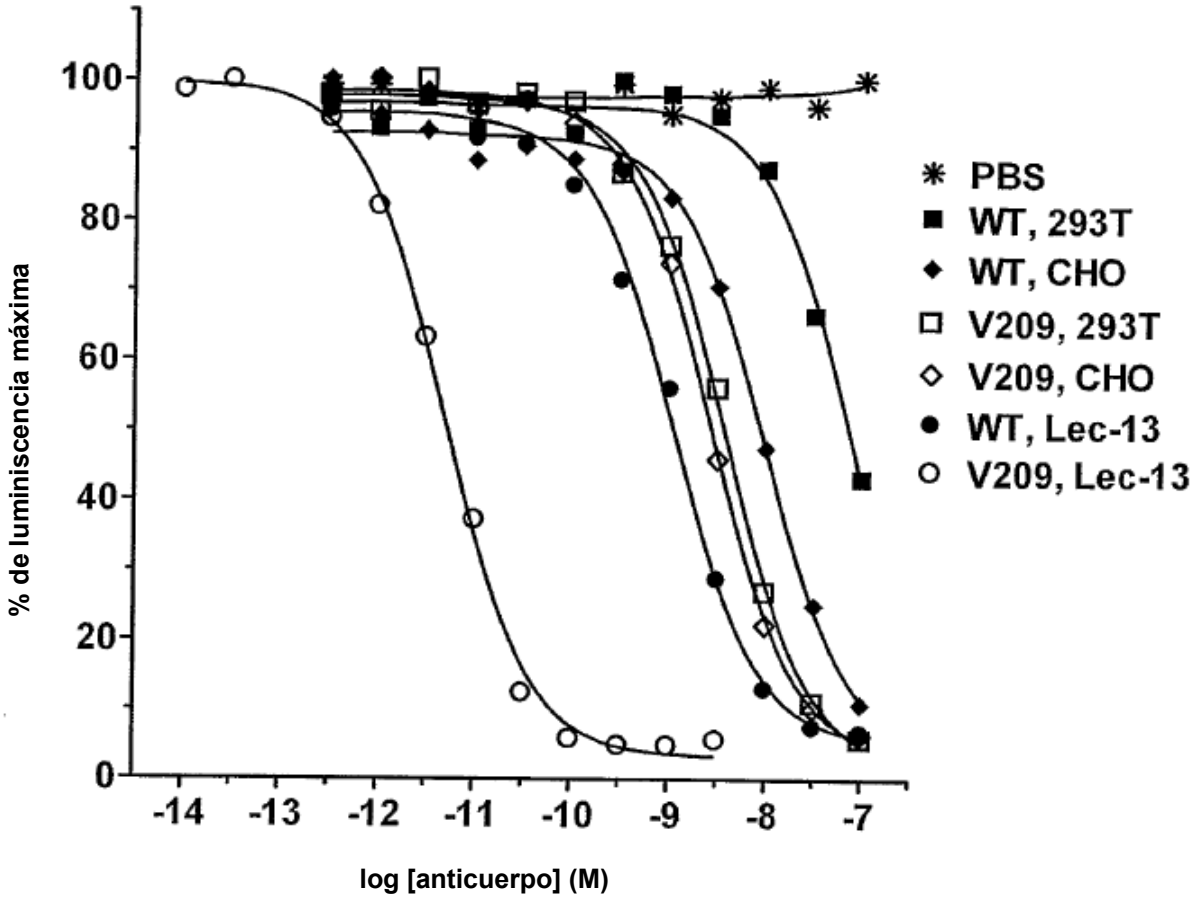
100
80
60
40
20
0
% de luminiscencia máxima
-14
-13
-12
-11
-10
-9
-8
-7
log [anticuerpo] (M)
PBS
WT, 293T
WT, CHO
V209, 293T
V209, CHO
WT, Lec-13
V209, Lec-13

Figura 37b

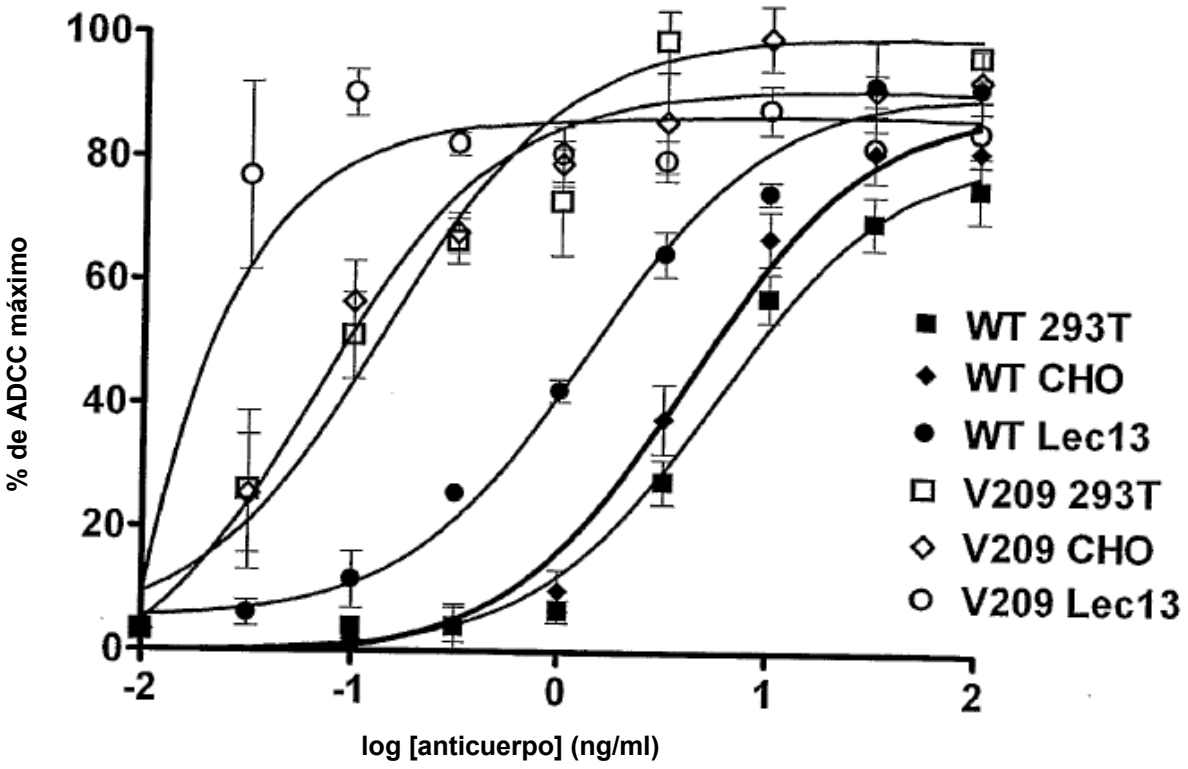
100
80
60
40
20
0
% de ADCC máximo
-2
-1
0
1
2
log [anticuerpo] (ng/ml)
WT 293T
WT CHO
WT Lec13
V209 293T
V209 CHO
V209 Lec13

Figura 38a

Anti-CD20 light chain
QIVLSQSPAILSASPGEKVTMTCRASSSVSYIHWFQQKPGSSPKPWIYATSNLASGVPVRFSGSGSG
TSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWTSNPPTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL
NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLS
SPVTKSFNRGEC

Figura 38b

Anti-CD20 heavy chain
QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVKQTPGRGLEWIGAIYPGNGDTSYNQKFK
GKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARSTYYGGDWYFNVWGAGTTVTVSAASTKGPSVFP
LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG
TQTYICNVNHKPSNTKVDKKAEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP**SV**FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV
V**V**DVSHEDP**E**V**K**FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY**NS**TYRVVSVL**T**VLHQDWLNGKEYKCKVSN**K**A
LP**A**PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP
PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Figura 37c

Anti-CD20 heavy chain comprising possible Fc variants
QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVKQTPGRGLEWIGAIYPGNGDTSYNQKFK
GKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARSTYYGGDWYFNVWGAGTTVTVSAASTKGPSVFP
LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG
TQTYICNVNHKPSNTKVDKKAEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPX_1X_2FLFPPKPKDTLMISRTPEVTC
VVX_3DVSHEDPX_4VX_5FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYX_6Z_1TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS
NZ_2ALPX_7PX_8EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN
YKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Posición	WT	Sustituciones posibles
X_1	S	D, E, N, Q, T
X_2	V	I, M
X_3	V	I, T, Y
X_4	E	Y
X_5	K	E
X_6	N	D
X_7	A	Y, L, I
X_8	I	D, E, N, Q
Z_1	S	A
Z_2	K	E, T