Brevetto europeo No. 3151921
Domanda di brevetto europeo No. 15742414.4
Data di deposito: 03 giugno 2015
Classificazione Internazionale: A61P35/00, A61K39/00, C07K16/28
Priorità: Statunitense No. 201462008945P del 06 giugno 2014
Statunitense No. 201462082980P del 21 novembre 2014

Titolo: ANTICORPI CONTRO IL RECETTORE PER IL FATTORE DI NECROSI TUMORALE INDOTTO DA GLUCOCORTICOIDI (GITR) E LORO USI

Richiedente: Bristol-Myers Squibb Company
Route 206 and Province Line Road
Princeton, NJ 08543
U.S.A.

Inventori: WANG, Changyu
LONBERG, Nils
KORMAN, Alan J.
SELBY, Mark J.
SRINIVASAN, Mohan
HENNING, Karla
HAN, Michelle, Minhua
CHEN, Guodong
HUANG, Richard
CHAKRABORTY, Indrani
HUANG, Haichun
WONG, Susan
LI, Huiming

****

Descrizione

SFONDO

La proteina TNFR-correlata indotta da glucocorticoidi (GITR), una molecola co-stimolatoria anche nota come TNFRSF18, AITR, CD357 e GITR-D, è un membro della famiglia di recettori per TNF che è stato originariamente identificato in linee di cellule T murine trattate con dexametasone (Nocentini et al., PNAS 1997; 94:6216-21). Altri membri correlati della famiglia di recettori per TNF comprendono CD40, CD27, 4-1BB e OX40. Mentre l'espressione di GITR è bassa nelle cellule CD4+ e CD8+ naïve, questo recettore viene costitutivamente espresso nelle cellule T regolatorie (Tone et al., PNAS 2003; 100:15059-64). Tuttavia, dopo l'induzione della sua espressione sulle cellule T effettrici, l'impegno di GITR promuove l'attivazione di queste cellule, la loro proliferazione e la loro produzione di citochine (Watts, Annual Reviews in Immunology 2005; 23:23-68). Con riferimento alle cellule T regolatorie (Treg) CD4+CD25+, Shimizu ha riportato che l'impegno di GITR sopprime la loro funzione (Shimizu et al., Nature Immunology 2002; 3:135-42) usando un saggio di soppressione in coltura mista. Tuttavia, un lavoro successivo di Stephans et al. (JI 2004 15; 173(8):5008-20) ha determinato che l'impegno di GITR sulle cellule T effettrici (T_{eff}) rende queste cellule meno sensibili alla soppressione da Treg, spiegando così la soppressione diminuita che veniva osservata in co-colture di cellule Treg-T_{eff}. La stimolazione di GITR mediata dall'anticorpo DTA-1 (un anti-GITR murino di ratto) promuove l'immunità antitumorale in molteplici modelli di tumore.

WO 2011/028683 A1 e US 2014/065152 A1 descrivono agonisti di GITR, come l'anticorpo DTA-1 e anticorpi anti-GITR umanizzati o umani, che riconoscono il GITR umano.

GITR-L, il ligando per GITR, viene espresso a bassi livelli nelle cellule presentanti l'antigene (ad esempio le cellule B e le cellule dendritiche), ma viene transientemente sovraregolato in queste cellule quando attivate, ad esempio da un'infezione virale (Suvas et al., J. Virol. 2005; 79:11935-42).

Data la continua necessità di migliorare le strategie che prendono a bersaglio malattie come il cancro traendo vantaggio da risposte immunitarie potenziate, in particolare da risposte potenziate delle cellule T, sono altamente desiderabili nuovi agenti e metodi in grado di modulare l'attività di GITR.

RIEPILOGO

Qui vengono forniti anticorpi isolati, come anticorpi monoclonali, in particolare anticorpi monoclonali umani, che legano specificatamente GITR e che hanno proprietà funzionali desiderabili. Queste proprietà comprendono un legame ad alta affinità con il GITR umano, la capacità di legarsi ad un GITR di scimmia (ad esempio il GITR cynomolgus), e la capacità di stimolare risposte antigene-specifiche delle cellule T. Gli anticorpi qui descritti possono essere usati per stimolare risposte antigene-specifiche delle cellule T, ad esempio in un soggetto portatore di un tumore o portatore di un virus (infettato da un virus), e per rilevare una proteina GITR in un campione. La presente invenzione riguarda un anticorpo monoclonale isolato che si lega al GITR umano e che comprende sequenze di CDR1, CDR2 e CDR3 di catena pesante rispettivamente comprendenti SEQ ID NO:20, 21 e 22 e sequenze di CDR1, CDR2 e CDR3 di catena leggera rispettivamente comprendenti SEQ ID NO:23, 24 e 25.

In un aspetto, gli anticorpi isolati qui descritti possono mostrare almeno una delle seguenti proprietà:

(a) si legano al GITR umano solubile;

(b) si legano al GITR umano legato a membrana;

(c) si legano al GITR di cynomolgus legato a membrana;

(d) inducono o potenziano l'attivazione delle cellule T, ad esempio l'attivazione di cellule T antigene-specifiche;

(e) inibiscono il legame di un ligando per GITR a GITR su cellule 3A9-hGITR;

(f) inibiscono al massimo parzialmente il legame di un ligando per GITR a GITR su cellule T attivate;

(g) si legano ad un epitopo conformazionale sul GITR umano maturo (SEQ ID NO:4);

(h) si legano sia ad un GITR umano non glicosilato che ad un GITR umano glicosilato con glicosilazione O-collegata o N-collegata;

(i) mostrano un'attività da agonista senza legarsi ad un recettore per Fc, ma in cui il legame ad un recettore per Fc potenzia ulteriormente l'attività da agonista; e

(j) competono per il legame al GITR umano, in una delle due direzioni o in entrambe le direzioni, con uno o più degli anticorpi 28F3, 3C3-1, 3C3-2, 2G6, 8A6, 9G7-1, 9G7-2, 14E3, 19H8-1, 19H8-2, 19D3, 18E10 e 6G10.

In certe forme esecutive, gli anticorpi anti-GITR qui descritti, o loro porzioni leganti gli antigeni, stimolano una risposta immunitaria antitumorale, ad esempio una risposta antigene-specifica delle cellule T. In certe forme esecutive, gli anticorpi anti-GITR aumentano la produzione di citochine (ad esempio IL-2 e/o IFN-γ) in cellule T che esprimono GITR, e/o aumentano la proliferazione delle cellule T.

In certe forme esecutive, gli anticorpi anti-GITR non si legano a recettori per Fc. In certe forme esecutive, gli anticorpi anti-GITR si legano ad uno o più FcγR, ad esempio a FcγR attivanti o inibitori.

In certe forme esecutive, gli anticorpi anti-GITR si legano al GITR umano solubile con una K_D di 10 nM o meno come misurata via Biacore, si legano al GITR umano legato a membrana con una K_D di 1 nM o meno come misurata via Scatchard, si legano al GITR umano legato a membrana con una EC_{50} di 1 nM o meno come misurata via FACS, si legano al GITR di cynomolgus legato a membrana con una EC_{50} di 10 nM o meno come misurata via FACS, inducono o potenziano l'attivazione delle cellule T, ad esempio delle cellule T_{eff}, senza richiedere una reticolazione multivalente, inibiscono il legame di un ligando per GITR a GITR con una EC_{50} di 1 μg/mL o meno come misurata via FACS, e/o si legano all'interno delle regioni PTGGPGCGPGRLLLGTGT (SEQ ID NO:217) e CRDYPGEE (SEQ ID NO:218) del GITR umano maturo (SEQ ID NO:4) come determinato via HDX-MS.

Gli anticorpi monoclonali isolati dell'invenzione possono comprendere regioni variabili di catena pesante e catena leggera, in cui la regione variabile di catena pesante comprende una sequenza di amminoacidi che è almeno 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% identica alla sequenza di amminoacidi riportata in SEQ ID NO:13.

Gli anticorpi monoclonali isolati dell'invenzione che si legano a GITR possono comprendere regioni variabili di catena pesante e catena leggera, in cui la regione variabile di catena leggera comprende una sequenza di amminoacidi che è almeno 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% identica alla sequenza di amminoacidi riportata in SEQ ID NO:14.

Gli anticorpi monoclonali isolati dell'invenzione possono comprendere sequenze di regione variabile di catena pesante e catena leggera almeno 85% identiche, ad esempio 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% identiche, alle sequenze di amminoacidi rispettivamente riportate in SEQ ID NO:13 e 14. Gli anticorpi monoclonali isolati

dell'invenzione possono comprendere sequenze di catena pesante e catena leggera almeno 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 99% o 100% identiche alle sequenze di amminoacidi selezionate dal gruppo costituito da:

(a) SEQ ID NO:15 e 16, rispettivamente;

(b) SEQ ID NO:17 e 19, rispettivamente;

(c) SEQ ID NO:18 e 19, rispettivamente.

In certe forme esecutive, gli anticorpi monoclonali isolati (a) si legano allo stesso epitopo su GITR a cui si lega 28F3, e (b) inibiscono il legame di 28F3 a GITR su cellule T attivate di almeno 50%, 60%, 70%, 80% o 90%, ad esempio come misurato via FACS.

In certe forme esecutive, gli anticorpi anti-GITR si legano all'interno delle regioni PTGGPGCGPGRLLLGTGT (SEQ ID NO:217) e CRDYPGEE (SEQ ID NO:218) del GITR umano maturo (SEQ ID NO:4). In alcune forme esecutive, gli anticorpi anti-GITR qui descritti si legano sia al GITR umano che al GITR di cynomolgus.

In certe forme esecutive, gli anticorpi anti-GITR sono anticorpi IgG1, IgG2 o IgG4, o loro varianti. In certe forme esecutive, gli anticorpi anti-GITR comprendono un Fc IgG1 senza funzione effettrice, ad esempio un Fc IgG1 senza funzione effettrice che ha le seguenti mutazioni: L234A, L235E, G237A, A330S e P331S. In certe forme esecutive, gli anticorpi anti-GITR comprendono un Fc che si lega ad un FcγR attivante, o che mostra un legame potenziato ad un FcγR attivante, ad esempio rispetto ad un Fc IgG1 di tipo selvatico. In certe forme esecutive, i residui di metionina nelle regioni CDR degli anticorpi anti-GITR sono sostituiti con residui di amminoacido che non vanno incontro ad ossidazione. In certe forme esecutive, gli anticorpi anti-GITR sono anticorpi umani o umanizzati.

Qui vengono forniti anticorpi monoclonali isolati, o loro porzioni leganti l'antigene, che si legano a GITR e che comprendono una regione costante di catena pesante modificata comprendente una cerniera IgG2 e almeno una di CH1, CH2 e CH3 che non è di isotipo IgG2, in cui l'anticorpo anti-GITR ha un'attività da agonista potenziata rispetto allo stesso anticorpo anti-GITR ma con una cerniera non IgG2.

In certe forme esecutive, la regione costante di catena pesante modificata comprende una regione costante di catena pesante comprendente una sequenza di amminoacidi selezionata dal gruppo costituito da SEQ ID NO:223-226 e

283-290, o comprende una regione costante di catena pesante che differisce da essa per al massimo 5 amminoacidi o che è almeno 95%, 96%, 97%, 98% o 99% identica ad una sequenza di amminoacidi di SEQ ID NO:223-226 e 283-290.

In certe forme esecutive, la catena pesante comprende una sequenza di amminoacidi selezionata dal gruppo costituito da SEQ ID NO:15, 17, 18, 227-231, 361 e 362, o comprende una catena pesante che differisce da essa per al massimo 10 amminoacidi o che è almeno 95%, 96%, 97%, 98% o 99% identica ad una sequenza di amminoacidi di SEQ ID NO:15, 17, 18, 227-231, 361 e 362.

In certe forme esecutive, la catena leggera comprende una sequenza di amminoacidi selezionata dal gruppo costituito da SEQ ID NO:16 e 19, o comprende una catena leggera che differisce da essa per al massimo 10 amminoacidi o che è almeno 95%, 96%, 97%, 98% o 99% identica ad una sequenza di amminoacidi di SEQ ID NO:16 e 19.

Qui vengono fornite molecole bispecifiche che comprendono un anticorpo anti-GITR collegato ad un molecola avente una seconda specificità di legame.

Qui vengono forniti/e acidi nucleici codificanti per le regioni variabili di catena pesante e catena leggera degli anticorpi anti-GITR, vettori di espressione comprendenti le molecole di acido nucleico, e cellule trasformate con i vettori di espressione.

Qui vengono fornite cellule trasformate con un vettore di espressione comprendente acidi nucleici codificanti per le regioni variabili di catena pesante e catena leggera degli anticorpi anti-GITR, o con un vettore di espressione comprendente un acido nucleico codificante per la regione di catena pesante degli anticorpi anti-GITR e, separatamente, un vettore di espressione comprendente un acido nucleico codificante per la regione di catena leggera degli anticorpi anti-GITR.

Qui vengono forniti immunoconiugati che comprendono gli anticorpi anti-GITR qui descritti collegati ad un agente.

Qui vengono fornite composizioni che comprendono anticorpi anti-GITR, o loro porzioni leganti l'antigene, e un trasportatore. Qui vengono anche forniti kit che comprendono gli anticorpi anti-GITR, o loro porzioni leganti l'antigene, e istruzioni per l'uso.

Qui viene fornito un metodo per preparare gli anticorpi anti-GITR, il metodo prevedendo di esprimere un anticorpo anti-GITR in una cellula e isolare l'anticorpo dalla cellula.

Qui viene fornito un metodo per stimolare una risposta antigene-specifica di una cellula T, il metodo prevedendo di mettere in contatto la cellula T con un anticorpo anti-GITR, o con una sua porzione legante l'antigene, in modo da stimolare una risposta antigene-specifica della cellula T.

Qui viene fornito un metodo per attivare o co-stimolare una cellula T, ad esempio una cellula T effettrice, il metodo prevedendo di mettere in contatto una cellula, ad esempio una cellula T effettrice, con un anticorpo anti-GITR, o con una sua porzione legante l'antigene, e con CD3, in cui la cellula T effettrice viene attivata o co-stimolata.

Qui viene fornito un metodo per aumentare la produzione di IL-2 e/o IFN-γ e/o la proliferazione di una cellula T, il metodo prevedendo di mettere in contatto la cellula T con una quantità efficace di un anticorpo anti-GITR o di una sua porzione legante l'antigene.

Qui viene fornito un metodo per aumentare la produzione di IL-2 e/o IFN-γ in cellule T di un soggetto, il metodo prevedendo di somministrare una quantità efficace di un anticorpo anti-GITR o di una sua porzione legante l'antigene, di una molecola bispecifica o un coniugato comprendente l'anticorpo anti-GITR, o di una composizione comprendente l'anticorpo anti-GITR, per aumentare la produzione di IL-2 e/o IFN-γ dalle cellule T.

Qui viene fornito un metodo per ridurre o depletare il numero di cellule T regolatorie in un tumore di un soggetto bisognoso, il metodo prevedendo di somministrare una quantità efficace di un anticorpo anti-GITR o di una sua porzione legante l'antigene, o di una molecola bispecifica o un coniugato, in cui l'anticorpo o una sua porzione legante l'antigene ha una funzione effettrice o una funzione effettrice potenziata, per ridurre il numero di cellule T regolatorie nel tumore.

Qui viene fornito un metodo per stimolare una risposta immunitaria in un soggetto, il metodo prevedendo di somministrare una quantità efficace di un anticorpo anti-GITR, una molecola bispecifica o un coniugato al soggetto in

modo da stimolare una risposta immunitaria nel soggetto. In certe forme esecutive, il soggetto ha un tumore contro cui viene stimolata una risposta immunitaria.

Qui viene fornito/a l'anticorpo anti-GITR dell'invenzione, la molecola bispecifica o il coniugato per l'uso in un metodo per inibire la crescita di cellule di un tumore in un soggetto in modo da inibire la crescita del tumore nel soggetto.

Qui viene fornito/a l'anticorpo anti-GITR dell'invenzione, una molecola bispecifica o un coniugato comprendente l'anticorpo anti-GITR, o una composizione comprendente l'anticorpo anti-GITR, per l'uso in un metodo per trattare un cancro, ad esempio mediante immunoterapia. In alcune forme esecutive, il cancro è cancro della vescica, cancro della mammella, cancro dell'utero/della cervice, cancro dell'ovaio, cancro della prostata, cancro del testicolo, cancro dell'esofago, cancro gastrointestinale, cancro del pancreas, cancro del colon-retto, cancro del colon, cancro del rene, cancro di testa e collo, cancro del polmone, cancro dello stomaco, cancro a cellule germinali, cancro dell'osso, cancro del fegato, cancro della tiroide, cancro della pelle, neoplasia del sistema nervoso centrale, linfoma, leucemia, mieloma, sarcoma e cancro virus-correlato. In certe forme esecutive, il cancro è un cancro metastatico, un cancro refrattario o un cancro recidivante.

In certe forme esecutive, i metodi qui descritti prevedono inoltre di somministrare uno o più agenti terapeutici aggiuntivi insieme ad un anticorpo anti-GITR, ad esempio un anticorpo anti-PD1, un anticorpo anti-LAG-3, un anticorpo anti-CTLA-4 e/o un anticorpo anti-PD-L1.

Qui viene fornito un metodo per rilevare la presenza di GITR in un campione, il metodo prevedendo di mettere in contatto il campione con un anticorpo anti-GITR in condizioni che permettono la formazione di un complesso tra l'anticorpo, o una sua porzione legante l'antigene, e GITR, e rilevare la formazione di un complesso.

Qui vengono forniti usi degli anticorpi anti-GITR qui descritti per trattare un cancro, stimolare una risposta immunitaria in un soggetto, stimolare una risposta antigene-specifica delle cellule T, attivare o co-stimolare una cellula T, aumentare la produzione di IL-2 e/o IFN-γ in una cellula T e/o la proliferazione di una cellula T, ridurre o depletare il numero di cellule T regolatorie in un tumore, e/o inibire la crescita di cellule tumorali. Qui vengono anche forniti usi degli anticorpi anti-GITR qui descritti nella preparazione di un medicamento per stimolare una risposta immunitaria in

un soggetto, stimolare una risposta antigene-specifica delle cellule T, attivare o co-stimolare una cellula T, aumentare la produzione di IL-2 e/o IFN-γ in una cellula T e/o la proliferazione di una cellula T, ridurre o depletare il numero di cellule T regolatorie in un tumore, e/o inibire la crescita di cellule tumorali.

Ulteriori caratteristiche e vantaggi della presente divulgazione risulteranno evidenti dalla seguente descrizione dettagliata e dagli esempi.

BREVE DESCRIZIONE DEI DISEGNI

La Figura 1 mostra le sequenze di amminoacidi delle regioni variabili di catena pesante e di catena leggera degli anticorpi monoclonali 28F3 (rispettivamente SEQ ID NO:13 e 14), 18E10 (rispettivamente SEQ ID NO:39 e 40) e 19D3 (rispettivamente SEQ ID NO:26 e 27). Le CDR di VH e VL di 28F3 sono sottolineate.

La Figura 2A mostra la sequenza di nucleotidi (SEQ ID NO:147) e la sequenza di amminoacidi (SEQ ID NO:13) della regione variabile di catena pesante dell'anticorpo monoclonale umano 28F3. Sono delineate le regioni CDR1 (SEQ ID NO:20), CDR2 (SEQ ID NO:21) e CDR3 (SEQ ID NO:22), e sono indicate le derivazioni dai segmenti della linea germinale V, D e J.

La Figura 2B mostra la sequenza di nucleotidi (SEQ ID NO:148) e la sequenza di amminoacidi (SEQ ID NO:14) della regione variabile di catena leggera kappa dell'anticorpo monoclonale umano 28F3. Sono delineate le regioni CDR1 (SEQ ID NO:23), CDR2 (SEQ ID NO:24) e CDR3 (SEQ ID NO:25), e sono indicate le derivazioni dai segmenti della linea germinale V e J.

La Figura 3A mostra la sequenza di nucleotidi (SEQ ID NO:158) e la sequenza di amminoacidi (SEQ ID NO:39) della regione variabile di catena pesante dell'anticorpo monoclonale umano 18E10. Sono delineate le regioni CDR1 (SEQ ID NO:46), CDR2 (SEQ ID NO:47) e CDR3 (SEQ ID NO:48), e sono indicate le derivazioni dai segmenti della linea germinale V, D e J.

La Figura 3B mostra la sequenza di nucleotidi (SEQ ID NO:159) e la sequenza di amminoacidi (SEQ ID NO:40) della regione variabile di catena leggera kappa dell'anticorpo monoclonale umano 18E10. Sono delineate le regioni CDR1 (SEQ ID NO:49), CDR2 (SEQ ID NO:50) e CDR3 (SEQ ID NO:51), e sono indicate le derivazioni dai segmenti della linea germinale V e J.

La Figura 4A mostra la sequenza di nucleotidi (SEQ ID NO:154) e la sequenza di amminoacidi (SEQ ID NO:26) della regione variabile di catena pesante dell'anticorpo monoclonale umano 19D3. Sono delineate le regioni CDR1 (SEQ ID NO:33), CDR2 (SEQ ID NO:34) e CDR3 (SEQ ID NO:35), e sono indicate le derivazioni dai segmenti della linea germinale V, D e J.

La Figura 4B mostra la sequenza di nucleotidi (SEQ ID NO:155) e la sequenza di amminoacidi (SEQ ID NO:27) della regione variabile di catena leggera kappa dell'anticorpo monoclonale umano 19D3. Sono delineate le regioni CDR1 (SEQ ID NO:36), CDR2 (SEQ ID NO:37) e CDR3 (SEQ ID NO:38), e sono indicate le derivazioni dai segmenti della linea germinale V e J.

La Figura 5A mostra la sequenza di nucleotidi (SEQ ID NO:162) e la sequenza di amminoacidi (SEQ ID NO:52) della regione variabile di catena pesante dell'anticorpo monoclonale umano 3C3. Sono delineate le regioni CDR1 (SEQ ID NO:62), CDR2 (SEQ ID NO:63) e CDR3 (SEQ ID NO:64), e sono indicate le derivazioni dai segmenti della linea germinale V, D e J.

La Figura 5B mostra la sequenza di nucleotidi (SEQ ID NO:163) e la sequenza di amminoacidi (SEQ ID NO:53) della regione variabile di catena leggera kappa (VK1) dell'anticorpo monoclonale umano 3C3. Sono delineate le regioni CDR1 (SEQ ID NO:65), CDR2 (SEQ ID NO:66) e CDR3 (SEQ ID NO:67), e sono indicate le derivazioni dai segmenti della linea germinale V e J.

La Figura 5C mostra la sequenza di nucleotidi (SEQ ID NO:164) e la sequenza di amminoacidi (SEQ ID NO:54) della regione variabile di catena leggera kappa (VK2) dell'anticorpo monoclonale umano 3C3. Sono delineate le regioni CDR1 (SEQ ID NO:68), CDR2 (SEQ ID NO:69) e CDR3 (SEQ ID NO:70), e sono indicate le derivazioni dai segmenti della linea germinale V e J.

La Figura 6A mostra la sequenza di nucleotidi (SEQ ID NO:168) e la sequenza di amminoacidi (SEQ ID NO:71) della regione variabile di catena pesante dell'anticorpo monoclonale umano 2G6. Sono delineate le regioni CDR1 (SEQ ID NO:78), CDR2 (SEQ ID NO:79) e CDR3 (SEQ ID NO:80), e sono indicate le derivazioni dai segmenti della linea germinale V, D e J.

La Figura 6B mostra la sequenza di nucleotidi (SEQ ID NO:169) e la sequenza di amminoacidi (SEQ ID NO:72) della regione variabile di catena leggera kappa dell'anticorpo monoclonale umano 2G6. Sono delineate le regioni CDR1 (SEQ ID NO:81), CDR2 (SEQ ID NO:82) e CDR3 (SEQ ID NO:83), e sono indicate le derivazioni dai segmenti della linea germinale V e J.

La Figura 7A mostra la sequenza di nucleotidi (SEQ ID NO:172) e la sequenza di amminoacidi (SEQ ID NO:84) della regione variabile di catena pesante dell'anticorpo monoclonale umano 8A6. Sono delineate le regioni CDR1 (SEQ ID NO:91), CDR2 (SEQ ID NO:92) e CDR3 (SEQ ID NO:93), e sono indicate le derivazioni dai segmenti della linea germinale V, D e J.

La Figura 7B mostra la sequenza di nucleotidi (SEQ ID NO:173) e la sequenza di amminoacidi (SEQ ID NO:85) della regione variabile di catena leggera kappa dell'anticorpo monoclonale umano 8A6. Sono delineate le regioni CDR1 (SEQ ID NO:94), CDR2 (SEQ ID NO:95) e CDR3 (SEQ ID NO:96), e sono indicate le derivazioni dai segmenti della linea germinale V e J.

La Figura 8A mostra la sequenza di nucleotidi (SEQ ID NO:176) e la sequenza di amminoacidi (SEQ ID NO:97) della regione variabile di catena pesante dell'anticorpo monoclonale umano 9G7. Sono delineate le regioni CDR1 (SEQ ID NO:106), CDR2 (SEQ ID NO:107) e CDR3 (SEQ ID NO:108), e sono indicate le derivazioni dai segmenti della linea germinale V, D e J.

La Figura 8B mostra la sequenza di nucleotidi (SEQ ID NO:177) e la sequenza di amminoacidi (SEQ ID NO:98) della regione variabile di catena leggera kappa (VK1) dell'anticorpo monoclonale umano 9G7. Sono delineate le regioni CDR1 (SEQ ID NO:109), CDR2 (SEQ ID NO:110) e CDR3 (SEQ ID NO:111), e sono indicate le derivazioni dai segmenti della linea germinale V e J.

La Figura 8C mostra la sequenza di nucleotidi (SEQ ID NO:178) e la sequenza di amminoacidi (SEQ ID NO:99) della regione variabile di catena leggera kappa (VK2) dell'anticorpo monoclonale umano 9G7. Sono delineate le regioni CDR1 (SEQ ID NO:112), CDR2 (SEQ ID NO:113) e CDR3 (SEQ ID NO:114), e sono indicate le derivazioni dai segmenti della linea germinale V e J.

La Figura 9A mostra la sequenza di nucleotidi (SEQ ID NO:182) e la sequenza di amminoacidi (SEQ ID NO:115) della regione variabile di catena pesante dell'anticorpo monoclonale umano 14E3. Sono delineate le regioni CDR1 (SEQ ID NO:122), CDR2 (SEQ ID NO:123) e CDR3 (SEQ ID NO:124), e sono indicate le derivazioni dai segmenti della linea germinale V, D e J.

La Figura 9B mostra la sequenza di nucleotidi (SEQ ID NO:183) e la sequenza di amminoacidi (SEQ ID NO:116) della regione variabile di catena leggera kappa dell'anticorpo monoclonale umano 14E3. Sono delineate le regioni CDR1 (SEQ ID NO:125), CDR2 (SEQ ID NO:126) e CDR3 (SEQ ID NO:127), e sono indicate le derivazioni dai segmenti della linea germinale V e J.

La Figura 10A mostra la sequenza di nucleotidi (SEQ ID NO:186) e la sequenza di amminoacidi (SEQ ID NO:128) della regione variabile di catena pesante dell'anticorpo monoclonale umano 19H8. Sono delineate le regioni CDR1 (SEQ ID NO:138), CDR2 (SEQ ID NO:139) e CDR3 (SEQ ID NO:140), e sono indicate le derivazioni dai segmenti della linea germinale V, D e J.

La Figura 10B mostra la sequenza di nucleotidi (SEQ ID NO:187) e la sequenza di amminoacidi (SEQ ID NO:129) della regione variabile di catena leggera kappa (VK1) dell'anticorpo monoclonale umano 19H8. Sono delineate le regioni CDR1 (SEQ ID NO:141), CDR2 (SEQ ID NO:142) e CDR3 (SEQ ID NO:143), e sono indicate le derivazioni dai segmenti della linea germinale V e J.

La Figura 10C mostra la sequenza di nucleotidi (SEQ ID NO:188) e la sequenza di amminoacidi (SEQ ID NO:130) della regione variabile di catena leggera kappa (VK2) dell'anticorpo monoclonale umano 19H8. Sono delineate le regioni CDR1 (SEQ ID NO:144), CDR2 (SEQ ID NO:145) e CDR3 (SEQ ID NO:146), e sono indicate le derivazioni dai segmenti della linea germinale V e J.

La Figura 11A mostra la sequenza di nucleotidi (SEQ ID NO:353) e la sequenza di amminoacidi (SEQ ID NO:335) della regione variabile di catena pesante dell'anticorpo monoclonale umano 6G10. Sono delineate le regioni CDR1 (SEQ ID NO:342), CDR2 (SEQ ID NO:343) e CDR3 (SEQ ID NO:344), e sono indicate le derivazioni dai segmenti della linea germinale V, D e J.

La Figura 11B mostra la sequenza di nucleotidi (SEQ ID NO:354) e la sequenza di amminoacidi (SEQ ID NO:336) della regione variabile di catena leggera kappa dell'anticorpo monoclonale umano 6G10. Sono delineate le regioni CDR1 (SEQ ID NO:345), CDR2 (SEQ ID NO:346) e CDR3 (SEQ ID NO:347), e sono indicate le derivazioni dai segmenti della linea germinale V e J.

La Figura 12 mostra un allineamento della sequenza di amminoacidi delle regioni variabili di catena pesante di 28F3 (SEQ ID NO:13) con le sequenze di amminoacidi della linea germinale umana V_H 3-33, 3-10 e JH6 (rispettivamente SEQ ID NO:192, 193 e 196).

La Figura 13 mostra un allineamento della sequenza di amminoacidi della regione variabile di catena leggera di 28F3 (SEQ ID NO:14) con le sequenze di amminoacidi della linea germinale umana V_k L18 e JK2 (rispettivamente SEQ ID NO:204 e 205).

La Figura 14 mostra un allineamento della sequenza di amminoacidi delle regioni variabili di catena pesante di 18E10 (SEQ ID NO:39) con le sequenze di amminoacidi della linea germinale umana V_H 3-33, 6-19 e JH6 (rispettivamente SEQ ID NO:192, 199 e 197).

La Figura 15 mostra un allineamento della sequenza di amminoacidi della regione variabile di catena leggera di 18E10 (SEQ ID NO:40) con le sequenze di amminoacidi della linea germinale umana V_k L15 e JK2 (rispettivamente SEQ ID NO:207 e 205).

La Figura 16 mostra un allineamento della sequenza di amminoacidi delle regioni variabili di catena pesante di 19D3 (SEQ ID NO:26) con le sequenze di amminoacidi della linea germinale umana V_H 3-33, 3-16 e JH6 (rispettivamente SEQ ID NO:192, 200 e 198).

La Figura 17 mostra un allineamento della sequenza di amminoacidi della regione variabile di catena leggera di 19D3 (SEQ ID NO:27) con le sequenze di amminoacidi della linea germinale umana V_k L15 e JK2 (rispettivamente SEQ ID NO:207 e 205).

La Figura 18 mostra un allineamento della sequenza di amminoacidi delle regioni variabili di catena pesante di 3C3 (SEQ ID NO:52) con le sequenze di amminoacidi della linea germinale umana V_H 4-34 e JH3 (rispettivamente SEQ ID NO:201 e 202).

La Figura 19A mostra un allineamento della sequenza di amminoacidi della regione variabile di catena leggera (VK1) di 3C3 (SEQ ID NO:53) con le sequenze di amminoacidi della linea germinale umana V_k L15 e JK2 (rispettivamente SEQ ID NO:207 e 205).

La Figura 19B mostra un allineamento della sequenza di amminoacidi della regione variabile di catena leggera (VK2) di 3C3 (SEQ ID NO:54) con le sequenze di amminoacidi della linea germinale umana V_k L20 e JK2 (rispettivamente SEQ ID NO:208 e 206).

La Figura 20 mostra un allineamento della sequenza di amminoacidi delle regioni variabili di catena pesante di 2G6 (SEQ ID NO:71) con le sequenze di amminoacidi della linea germinale umana V_H 3-33 e JH6 (rispettivamente SEQ ID NO:192 e 197).

La Figura 21 mostra un allineamento della sequenza di amminoacidi della regione variabile di catena leggera di 2G6 (SEQ ID NO:72) con le sequenze di amminoacidi della linea germinale umana V_k L15 e JK2 (rispettivamente SEQ ID NO:207 e 205).

La Figura 22 mostra un allineamento della sequenza di amminoacidi delle regioni variabili di catena pesante di 8A6 (SEQ ID NO:84) con le sequenze di amminoacidi della linea germinale umana V_H 3-33, 3-10 e JH6 (rispettivamente SEQ ID NO:192, 193 e 197).

La Figura 23 mostra un allineamento della sequenza di amminoacidi della regione variabile di catena leggera di 8A6 (SEQ ID NO:85) con le sequenze di amminoacidi della linea germinale umana V_k L18 e JK2 (rispettivamente SEQ ID NO:204 e 205).

La Figura 24 mostra un allineamento della sequenza di amminoacidi delle regioni variabili di catena pesante di 9G7 (SEQ ID NO:97) con le sequenze di amminoacidi della linea germinale umana V_H 3-15, 3-10 e JH6 (rispettivamente SEQ ID NO:203, 194 e 198).

La Figura 25A mostra un allineamento della sequenza di amminoacidi della regione variabile di catena leggera (VK1) di 9G7 (SEQ ID NO:98) con le sequenze di amminoacidi della linea germinale umana V_k A27 e JK1 (rispettivamente SEQ ID NO:209 e 210).

La Figura 25B mostra un allineamento della sequenza di amminoacidi della regione variabile di catena leggera (VK2) di 9G7 (SEQ ID NO:99) con le sequenze di amminoacidi della linea germinale umana V_k A27 e JK5 (rispettivamente SEQ ID NO:209 e 212).

La Figura 26 mostra un allineamento della sequenza di amminoacidi delle regioni variabili di catena pesante di 14E3 (SEQ ID NO:115) con le sequenze di amminoacidi della linea germinale umana V_H 4-34 e JH3 (rispettivamente SEQ ID NO:201 e 202).

La Figura 27 mostra un allineamento della sequenza di amminoacidi della regione variabile di catena leggera di 14E3 (SEQ ID NO:116) con le sequenze di amminoacidi della linea germinale umana V_k L15 e JK1 (rispettivamente SEQ ID NO:207 e 211).

La Figura 28 mostra un allineamento della sequenza di amminoacidi delle regioni variabili di catena pesante di 19H8 (SEQ ID NO:128) con le sequenze di amminoacidi della linea germinale umana V_H 3-33, 3-10 e JH6 (rispettivamente SEQ ID NO:192, 195 e 196).

La Figura 29A mostra un allineamento della sequenza di amminoacidi della regione variabile di catena leggera (VK1) di 19H8 (SEQ ID NO:129) con le sequenze di amminoacidi della linea germinale umana V_k L18 e JK1 (rispettivamente SEQ ID NO:204 e 211).

La Figura 29B mostra un allineamento della sequenza di amminoacidi della regione variabile di catena leggera (VK2) di 19H8 (SEQ ID NO:130) con le sequenze di amminoacidi della linea germinale umana V_k L6 e JK4 (rispettivamente SEQ ID NO:213 e 214).

La Figura 30 mostra un allineamento della sequenza di amminoacidi delle regioni variabili di catena pesante di 6G10 (SEQ ID NO:335) con le sequenze di amminoacidi della linea germinale umana V_H 3-33, 3-10 e JH6 (rispettivamente SEQ ID NO:192, 195 e 196).

La Figura 31 mostra un allineamento della sequenza di amminoacidi della regione variabile di catena leggera (VK1) di 6G10 (SEQ ID NO:336) con le sequenze di amminoacidi della linea germinale umana V_k L18 e JK2 (rispettivamente SEQ ID NO:204 e 205).

La Figura 32 mostra l'alta affinità (in nM) di vari anticorpi anti-GITR per le cellule T umane attivate come valutata via FACS con nessun anticorpo, un anticorpo IgG1 e un anticorpo hIgG2 come controlli.

La Figura 33 mostra l'alta affinità (in nM) di vari anticorpi anti-GITR per le cellule T di cynomolgus attivate come valutata via FACS con nessun anticorpo e anticorpi hIgG1 e hIgG2 come controlli.

Le Figure 34A e 34B mostrano la capacità di vari anticorpi anti-GITR di inibire il legame del ligando per GITR (GITR-L) a cellule GITR-3A9 con hIgG1, hIgG2, nessun anticorpo e cellule da sole come controlli.

La Figura 34C mostra il legame di un GITR-L ricombinante a cellule T CD4 e CD8 umane.

La Figura 34D mostra che GITR-L blocca parzialmente il legame di 28F3-hIgG1 a cellule T CD4+ attivate. Ad una concentrazione fissa di 0,5 μg/mL, il legame di 28F3-hIgG1 alle cellule T attivate veniva parzialmente bloccato dal GITR-L pre-legato con una IC50 di 0,0024 μg/mL.

La Figura 34E mostra che 28F3-hIgG1 non blocca il legame di 0,6 μg/ml di GITR-L alle cellule T umane attivate. Quando GITR-L veniva aggiunto alle cellule T CD4+ a 0,6 mg/mL, circa 90% di saturazione, la 28F3-hIgG1 pre-legata non era in grado di bloccare GITR-L in un intervallo da 100 mg/mL a 0,00056 mg/mL.

La Figura 34F mostra che 28F3-hIgG1 blocca parzialmente il legame di 0,02 μg/ml di GITR-L alle cellule T umane attivate. Ad una concentrazione fissa di 20 ng/mL, il legame di GITR-L alle cellule T attivate veniva parzialmente bloccato dal 28F3-hIgG1 pre-legato con una IC50 di 0,075 μg/mL.

La Figura 35A mostra un Western blot che dimostra che l'anticorpo anti-GITR 28F3 si lega al GITR umano nativo, ma non a quello denaturato, e che il legame non viene influenzato dalla presenza o assenza di una glicosilazione N-collegata. Un segno "+" indica che i campioni sono stati trattati con PNGasi F per rimuovere la glicosilazione N-collegata.

La Figura 35B è un gel colorato con blu Coomassie che mostra la presenza di tutte le forme del GITR umano prima del trasferimento sulla nitrocellulosa per l'analisi in Western blot.

Le Figure 36A-36B mostrano il legame degli anticorpi 28F3 e 3C3 a frammenti del GITR nativo generati mediante digestione con l'endoproteinasi Arg-C (1), l'endoproteinasi Lys-C (2), la tripsina (3), l'endoproteinasi Glu-C (4) o l'endoproteinasi Asp-N (5).

La Figura 37 mostra la vista di una mappa termica del legame dell'anticorpo anti-GITR 28F3 a frammenti peptidici del GITR umano generati mediante digestione della proteina GITR umana nativa con l'endoproteinasi Glu-C e la tripsina ("Glu-C e tripsina"), l'endoproteinasi Arg-C ("Arg-C"), l'endoproteinasi Lys-C e la tripsina ("Lys-C e tripsina"), la tripsina, o l'endoproteinasi Asp-N e l'endoproteinasi Glu-C ("Asp-N e Glu-C"), la mappa identificando l'ubicazione dell'epitopo a cui l'anticorpo 28F3 si lega (regione nel riquadro). La sequenza di amminoacidi del dominio extracellulare maturo del GITR umano è mostrata in grigio scuro, mentre la sequenza dell'Fc murino collegato al suo C-terminale è mostrata in grigio chiaro.

La Figura 38A mostra i peptidi presenti nella frazione del flusso passante dopo l'incubazione di sferette rivestite con 28F3 insieme a peptidi ottenuti per digestione con tripsina del GITR umano nativo.

La Figura 38B mostra i due peptidi principali che vengono legati da 28F3 (indicati con un asterisco).

La Figura 38C mostra l'identificazione via LC-MS del primo dei due picchi della Figura 34B come un picco corrispondente al peptide N-terminale avente la sequenza mostrata e privo di glicosilazione O-collegata.

La Figura 38D mostra l'identificazione via LC-MS del secondo dei due picchi della Figura 34B come un picco corrispondente al peptide N-terminale avente la sequenza mostrata e avente una glicosilazione O-collegata su T20.

La Figura 38E mostra il peptide di GITR che rimane dopo la digestione in situ con l'endoproteinasi Asp-N di un peptide più lungo che era stato incubato insieme a 28F3.

La Figura 39A mostra un elenco di peptidi peptici per un GITR umano ricombinante/Fc e per un complesso proteico GITR umano ricombinante/Fc + 28F3 IgG1, raggiungendo una copertura di sequenza di 86% per la regione N-terminale di GITR.

La Figura 39B mostra i livelli di captazione del deuterio via spettrometria di massa (MS) di tipo HDX in assenza/presenza del mAb IgG1 28F3 ("GITR.6").

La Figura 39C raffigura le due regioni del GITR umano maturo che vengono legate da 28F3 come determinato via HDX-MS.

La Figura 40 mostra gli effetti di vari anticorpi anti-GITR agonisti sulla secrezione di IL-2 da parte di cellule 3A9-hGITR in presenza di anticorpi anti-CD3 legati alla piastra.

La Figura 41A mostra gli effetti degli anticorpi anti-GITR agonisti 18E10, 13H2 (lo stesso di 28F3) e 28F3 sulla secrezione di IL-2 da parte di cellule 3A9-hGITR attivate da uno specifico antigene.

La Figura 41B mostra gli effetti degli anticorpi anti-GITR agonisti 3C3 (mostrato come "GITR.3"), 28F3, 19D3 e 18E10 sulla secrezione di IL-2 da parte di cellule 3A9-hGITR attivate da uno specifico antigene.

La Figura 42A mostra gli effetti di vari anticorpi HuMab anti-GITR agonisti sulla secrezione di interferone gamma (IFN-γ) da parte di cellule T stimolate con cellule CHO-OKT3 (ovvero cellule CHO che esprimono l'scFv OKT3).

La Figura 42B mostra gli effetti dell'anticorpo anti-GITR agonista 28F3 sulla secrezione di IL-2 da parte di cellule T CD4+ stimolate con cellule CHO che esprimono OKT3, in cui le cellule T sono di un primo donatore.

La Figura 42C mostra gli effetti dell'anticorpo anti-GITR 28F3 sulla secrezione di IFN-γ da parte di cellule T CD4+ stimolate con cellule CHO che esprimono OKT3, in cui le cellule T sono di un primo donatore.

La Figura 42D mostra gli effetti dell'anticorpo anti-GITR 28F3 sulla secrezione di IL-2 da parte di cellule T CD4+ stimolate con cellule CHO che esprimono OKT3, in cui le cellule T sono di un secondo donatore.

La Figura 42E mostra gli effetti dell'anticorpo anti-GITR 28F3 sulla secrezione di IFN-γ da parte di cellule T CD4+ stimolate con cellule CHO che esprimono OKT3, in cui le cellule T sono di un secondo donatore.

La Figura 43 mostra gli effetti dell'anticorpo anti-GITR 28F3 (IgG2), del frammento 28F3-F(ab')2 e di 28F3-Fab sulla secrezione di IL-2 da parte di cellule 3A9-hGITR stimolate con cellule LK35.2 in presenza del peptide HEL48-63.

La Figura 44 mostra l'immunoistochimica di provini di tonsilla umana con l'anticorpo monoclonale 28F3-FITC.

Le Figure 45A-45D mostrano gli effetti di differenti isotipi dell'anticorpo di ratto anti-GITR murino DTA-1 sull'attività antitumorale, misurati in base ai cambiamenti dei volumi dei tumori in singoli topi trattati con questi isotipi, in un modello di adenocarcinoma del colon MC38: (Figura 45A) anticorpo IgG1 murino di controllo (10 mg/kg); (Figura 45B) DTA-1-IgG2b di ratto (10 mg/kg); (Figura 45C) DTA-1-IgG1 di topo (10 mg/kg); (Figura 45D) DTA-1-IgG2a di topo (10 mg/kg). Il numero di topi liberi da tumore (TF) per gruppo è mostrato per ogni gruppo di 10 topi.

Le Figure 46A e 46B mostrano i cambiamenti dei volumi tumorali medi (Figura 46A) e mediani (Figura 46B) di tumori MC38 in gruppi di topi trattati con anticorpi DTA-1 (10 mg/kg) di differenti isotipi.

Le Figure 47A-47F mostrano un'analisi flussocitometrica delle milze (Figure 47A-47C) e dei linfociti infiltranti il tumore (TIL) (Figure 47D-47F) di topi portatori di tumori MC38 e trattati con i differenti isotipi di anti-GITR (DTA-1) e anti-CTLA-4 (9D9) e con l'anticorpo di controllo indicato. (Figura 47A) percentuale di cellule T $CD8^+$ nella milza; (Figura 47B) percentuale di cellule $CD4^+$ nella milza; (Figura 47C) percentuale di cellule $CD4^+$ che sono anche $Foxp3^+$ nella milza; (Figura 47D) percentuale di cellule T $CD8^+$ nei TIL; (Figura 47E) percentuale di cellule $CD4^+$ nei TIL; (Figura 47F) percentuale di cellule $CD4^+$ che sono anche $Foxp3^+$ nei TIL.

Le Figure 48A-48F mostrano gli effetti sull'attività antitumorale di differenti isotipi dell'anticorpo di ratto anti-GITR murino DTA-1 reingegnerizzato per minimizzare l'aggregazione (l'anticorpo reingegnerizzato essendo identificato come "mGITR.7"), misurati in base ai cambiamenti dei volumi dei tumori in singoli topi trattati con questi isotipi, in un modello MC38: (Figura 48A) anticorpo IgG1 murino di controllo; (Figura 48B) mGITR.7-mIgG1; (Figura 48C) mGITR.7-mIgG1-D265A; (Figura 48D) mGITR.7-mIgG2a; (Figura 48E) mGITR.7-mIgG2b; (Figura 48F) mGITR.7-IgG2b di ratto. Il numero di topi TF per gruppo è mostrato per ogni gruppo di 9 topi.

Le Figure 49A e 49B mostrano i cambiamenti dei volumi tumorali medi (Figura 49A) e mediani (Figura 49B) di tumori MC38 in gruppi di topi trattati con anticorpi DTA-1 reingegnerizzati di differenti isotipi.

Le Figure 50A e 50B mostrano un'analisi flussocitometrica degli effetti di differenti isotipi di DTA-1 (DTA-1 anti-"mGITR" reingegnerizzati o anticorpi "DTA-1" originariamente ingegnerizzati) e anti-CTLA-4 (9D9) sulle T_{reg} $Foxp3^+/CD4^+$nelle milze (Figura 50A) e sui TIL (Figura 50B) di topi portatori di tumori MC38.

Le Figure 51A-51E mostrano l'attività antitumorale di DTA-1 murini di differenti isotipi in un modello murino di fibrosarcoma SalN, misurata in base ai cambiamenti dei volumi dei tumori in singoli topi trattati con questi isotipi: (Figura 51A) anticorpo IgG1 murino di controllo; (Figura 51B) DTA-1-IgG2a di topo; (Figura 51C) DTA-1-IgG2b di ratto; (Figura 51D) DTA-1-IgG1 di topo; (Figura 51E) DTA-1-IgG1-D265A di topo. Il numero di topi TF per gruppo è mostrato per ogni gruppo di massimo 10 topi.

Le Figure 52A e 52B mostrano i cambiamenti dei volumi tumorali medi (Figura 52A) e mediani (Figura 52B) di tumori SalN in gruppi di topi trattati con anticorpi DTA-1 di differenti isotipi.

Le Figure 53A e 53B mostrano gli effetti di differenti isotipi di DTA-1 e anti-CTLA-4 (9D9) sulle T_{reg} $Foxp3^+/CD4^+$ nelle milze (Figura 53A) e sui TIL (Figura 53B) di topi portatori di tumori SalN.

Le Figure 54A-54D mostrano gli effetti dell'anticorpo anti-GITR di ratto DTA-1 sul volume tumorale usando un modello di adenocarcinoma del colon MC38 stadiato. I topi sono stati trattati con (Figura 54A) una mIgG1 di controllo, (Figura 54B) mIgG + DTA-1, (Figura 54C) mIgG + PD-1, e (Figura 54D) PD-1 + DTA-1 i giorni 7, 10 e 14. Il numero di topi liberi da tumore (TF) per gruppo è mostrato per ogni gruppo di 10 topi.

Le Figure 55A e 55B mostrano l'effetto di varie combinazioni di mutazioni nella VHCDR3 dell'anticorpo anti-GITR 28F3 sul legame alle cellule 3A9-hGITR.

Le Figure 56A-56F mostrano l'effetto di varie combinazioni di mutazioni nella VHCDR3 dell'anticorpo anti-GITR 28F3 sul livello di secrezione di IL-2 da cellule 3A9-hGITR in presenza di un anti-CD3 legato alla piastra.

La Figura 57 mostra l'affinità di legame degli anticorpi anti-GITR indicati per le cellule T attivate. Gli anticorpi esaminati comprendevano una delle seguenti regioni costanti di catena pesante: una regione costante IgG1 ("anti-GITR.glf"), una regione costante IgG1 senza funzione effettrice ("anti-GITR.g1.1f"), una regione costante IgG2 ("anti-GITR-G2"), una cerniera IgG2 più dominio Fc IgG1 ("anti-GITR.G2.G1f"), e una cerniera IgG2 più dominio Fc IgG1 senza funzione effettrice ("anti-GITR.G2.G1.1f").

Le Figure 58A-58C mostrano la secrezione di IFN-γ e IL-2 da cellule T CD4 di donatore stimolate con anticorpi anti-GITR umano solubili con differenti regioni costanti di catena pesante. La Figura 58A mostra la secrezione di IFN-γ da cellule T CD4 di donatore stimolate con cellule CHO che esprimono OKT3 e con varie concentrazioni di anticorpi anti-GITR umano con una regione costante IgG2-IgG1. La Figura 58B mostra la secrezione di IL-2 da cellule T CD4 di donatore stimolate con cellule CHO che esprimono OKT3 e con varie concentrazioni di un dominio costante di catena pesante IgG1 o di un dominio costante di catena pesante ibrido IgG2-IgG1. La Figura 58C mostra la secrezione di IL-2 da cellule T CD4 di donatore stimolate con cellule CHO che esprimono OKT3 e con varie concentrazioni di versioni senza funzione effettrice (IgG1.1) degli anticorpi delle Figure 55A e B.

La Figura 59 mostra un confronto tra gli anticorpi anti-GITR indicati sulla secrezione di IL-2 da cellule 3A9-hGITR in presenza di un anti-CD3 legato alla piastra.

Le Figure 60A-60D mostrano l'effetto di 28F3.IgG1 e 28F3.IgG1.1 sulla proliferazione delle cellule Treg e Teff.

Le Figure 61A-61F mostrano l'effetto di 28F3.IgG1 ("GITR.6IgG1") e 28F3.IgG1.1 ("GITR.6IgG1.1") sulla lisi indotta dalle cellule NK di cellule CD4+, cellule CD8+ e cellule arricchite in Treg attivate di due donatori differenti.

Le Figure 62A-62C mostrano l'effetto di un anticorpo hIgG1 di controllo, di 28F3.IgG1 ("anti-GITR IgG1") e di 28F3.IgG1.1 (anti-GITR IgG1.1") sulla crescita di tumori MC38.

Le Figure 63A e 63B mostrano rispettivamente il volume medio e il volume mediano di tumori MC38 in topi trattati con un anticorpo hIgG1 di controllo, con 28F3.IgG1 ("anti-GITR IgG1") e con 28F3.IgG1.1 ("anti-GITR IgG1.1").

Le Figure 64A e 64B mostrano rispettivamente la % media di cambiamento del peso corporeo e la % mediana di cambiamento del peso corporeo in topi con tumori MC38 trattati con un anticorpo hIgG1 di controllo, con 28F3.IgG1 ("anti-GITR IgG1") e con 28F3.IgG1.1 ("anti-GITR IgG1.1").

La Figura 65 mostra gli effetti di 28F3.IgG1 ("GITR IgG1"), rispetto ad un controllo isotipico, sulla deplezione delle cellule Treg nel modello di tumore MC38.

La Figura 66 mostra gli effetti di 28F3.IgG1 ("GITR IgG1"), rispetto ad un controllo isotipico, sulla percentuale di cellule T CD8+ nel modello di tumore MC38.

La Figura 67 mostra l'effetto degli anticorpi 28F3.IgG1 ("GITR.6IgG1") e 28F3.IgG1.1 ("GITR.6IgG1.1") solubili e reticolati sulla secrezione di IFN-γ da cellule T quando co-coltivate con cellule CHO-OKT3 e CHO-OKT3-CD32a.

La Figura 68 mostra l'effetto degli anticorpi 28F3.IgG1 ("GITR.6IgG1") e 28F3.IgG1.1 ("GITR.6IgG1.1") solubili e reticolati sulla proliferazione delle cellule T quando co-coltivate con cellule CHO-OKT3 e CHO-OKT3-CD32a.

DESCRIZIONE DETTAGLIATA

Qui vengono descritti anticorpi isolati, in particolare anticorpi monoclonali, ad esempio anticorpi monoclonali umani, che si legano specificatamente a GITR e dunque attivano la segnalazione di GITR a valle ("anticorpi anti-GITR agonisti"). Gli anticorpi qui descritti derivano da particolari sequenze di catena pesante e catena leggera della linea germinale e/o comprendono particolari caratteristiche strutturali, come regioni CDR, che comprendono particolari sequenze di amminoacidi. Qui vengono forniti/e anticorpi isolati, metodi per produrre tali anticorpi, immunoconiugati e molecole bispecifiche che comprendono tali anticorpi, e composizioni farmaceutiche formulate per contenere gli anticorpi. Qui vengono anche forniti metodi di utilizzo degli anticorpi per potenziare una risposta immunitaria, da soli o in combinazione con altri agenti immunostimolanti (ad esempio anticorpi) e/o terapie per il cancro. Di conseguenza, gli anticorpi anti-GITR qui descritti possono essere usati per scopi di trattamento in un'ampia varietà di applicazioni terapeutiche, ad esempio per inibire la crescita di tumori e per trattare infezioni virali.

La presente invenzione riguarda un anticorpo monoclonale isolato che si lega al GITR umano e che comprende sequenze di CDR1, CDR2 e CDR3 di catena pesante rispettivamente comprendenti SEQ ID NO:20, 21 e 22 e sequenze di CDR1, CDR2 e CDR3 di catena leggera rispettivamente comprendenti SEQ ID NO:23, 24 e 25.

Definizioni

Verranno innanzitutto definiti certi termini che permetteranno di comprendere più facilmente la presente descrizione. Ulteriori definizioni sono riportate nel corso della descrizione dettagliata.

Nel presente contesto, il termine "recettore per TNF inducibile da glucocorticoidi", o "GITR", identifica un recettore che è un membro della superfamiglia di recettori per TNF e che si lega al ligando per GITR (GITR-L). GITR è anche identificato come membro 18 della superfamiglia di recettori per i fattori di necrosi tumorale (TNFRSF18), AITR e CD357. Il termine "GITR" comprende qualsiasi variante o isoforma di GITR che viene naturalmente espressa dalle cellule. Di conseguenza, gli anticorpi qui descritti possono cross-reagire con GITR di specie diverse da quella umana (ad esempio con il GITR di cynomolgus). In alternativa, gli anticorpi possono essere specifici per il GITR umano e possono non mostrare alcuna cross-reattività con altre specie. Un GITR, o qualsiasi sua variante o isoforma, può essere isolato/a da cellule o tessuti che esprimono naturalmente questo recettore, o può essere prodotto/a in modo ricombinante usando tecniche ben note nel ramo e/o quelle qui descritte.

Sono state identificate tre isoforme del GITR umano, tutte che condividono lo stesso dominio extracellulare fatta eccezione per la porzione C-terminale. La variante 1 (n° d'ingresso NP_004186; SEQ ID NO:1) è costituita da 241 amminoacidi, e rappresenta il trascritto più lungo. Essa contiene un segmento codificante supplementare che dà luogo ad una traslazione di cornice rispetto alla variante 2. La proteina risultante (isoforma 1) contiene un C-terminale distinto e più corto rispetto all'isoforma 2. La variante 2 (n° d'ingresso NP_683699; SEQ ID NO:2) codifica per la proteina più lunga (l'isoforma 2), che è costituita da 255 amminoacidi ed è solubile. La variante 3 (n° d'ingresso NP_683700; SEQ ID NO:3) contiene un segmento codificante supplementare che dà luogo ad una traslazione di cornice rispetto alla variante 2. La proteina risultante (isoforma 3) contiene un C-terminale distinto e più corto rispetto all'isoforma 2, ed è costituita da 234 amminoacidi.

Le seguenti sono le sequenze di amminoacidi delle tre isoforme note del GITR umano, del GITR di cyno e di GITR-L.

GITR umano, isoforma 1 (n° d'ingresso NP_004186; SEQ ID NO:1; codificata dalla sequenza di nucleotidi avente il n° d'ingresso NM_004195.2):

MAQHGAMGAFRALCGLALLCALSLGQRPTGGPGCGPGRLLLGTGTDARCCRVHTTRC
CRDYPGEECCSEWDCMCVQPEFHCGDPCCTTCRHHPCPPGQGVQSQGKFSFGFQCIDC
ASGTFSGGHEGHCKPWTDCTQFGFLTVFPGNKTHNAVCVPGSPPAEPLGWLTVVLLAV
AACVLLLTSAQLGLHIWQLRSQCMWPRETQLLLEVPPSTEDARSCQFPEEERGERSAEE
KGRLGDLWV

GITR umano, isoforma 2 (n° d'ingresso NP_683699.1; SEQ ID NO:2; codificata dalla sequenza di nucleotidi avente il n° d'ingresso NM_148901.1):

MAQHGAMGAFRALCGLALLCALSLGQRPTGGPGCGPGRLLLGTGTDARCCRVHTTRC
CRDYPGEECCSEWDCMCVQPEFHCGDPCCTTCRHHPCPPGQGVQSQGKFSFGFQCIDC
ASGTFSGGHEGHCKPWTDCCWRCRRRPKTPEAASSPRKSGASDRQRRRGGWETCGCEP
GRPPGPPTAASPSPGAPQAAGALRSALGRALLPWQQKWVQEGGSDQRPGPCSSAAAAG
PCRRERETQSWPPSSLAGPDGVGS

GITR umano, isoforma 3 (n° d'ingresso NP_683700.1; SEQ ID NO:3; codificata dalla sequenza di nucleotidi avente il n° d'ingresso NM_148902.1):

MAQHGAMGAFRALCGLALLCALSLGQRPTGGPGCGPGRLLLGTGTDARCCRVHTTRC
CRDYPGEECCSEWDCMCVQPEFHCGDPCCTTCRHHPCPPGQGVQSQGKFSFGFQCIDC
ASGTFSGGHEGHCKPWTDCTQFGFLTVFPGNKTHNAVCVPGSPPAEPLGWLTVVLLAV
AACVLLLTSAQLGLHIWQLRKTQLLLEVPPSTEDARSCQFPEEERGERSAEEKGRLGDL
WV

La sequenza segnale delle isoforme 1-3 corrisponde agli amminoacidi 1-25. Di conseguenza, le isoforme 1, 2 e 3 mature sono rispettivamente costituite dagli amminoacidi da 26 a 241, 255 o 234. Il dominio extracellulare del GITR maturo è costituito dagli amminoacidi 26-162, e ha la sequenza di amminoacidi:

QRPTGGPGCGPGRLLLGTGTDARCCRVHTTRCCRDYPGEECCSEWDCMCVQPEFHCGD
PCCTTCRHHPCPPGQGVQSQGKFSFGFQCIDCASGTFSGGHEGHCKPWTDCTQFGFLTV
FPGNKTHNAVCVPGSPPAEP (SEQ ID NO: 4)

GITR di cynomolgus, sequenza proteica (SEQ ID NO:5):

MCASGTLCCLALLCAASLGQRPTGGPGCGPGRLLLGTGKDARCCRVHPTRCCRDYQGE
ECCSEWDCVCVQPEFHCGNPCCTTCQHHPCPSGQGVQPQGKFSFGFRCVDCALGTFSR
GHDGHCKPWTDCTQFGFLTVFPGNKTHNAVCVPGSPPAEPPGWLTIILLAVAACVLLLT
SAQLGLHIWQLRSQPTGPRETQLLLEVPPSTEDASSCQFPEEERGERLAEEKGRLGDLWV

GITR-L umano, sequenza proteica (n° d'ingresso NP_005083.2; SEQ ID NO:6):

MTLHPSPITCEFLFSTALISPKMCLSHLENMPLSHSRTQGAQRSSWKLWLFCSIVMLLFLC
SFSWLIFIFLQLETAKEPCMAKFGPLPSKWQMASSEPPCVNKVSDWKLEILQNGLYLIYG
QVAPNANYNDVAPFEVRLYKNKDMIQTLTNKSKIQNVGGTYELHVGDTIDLIFNSEHQV
LKNNTYWGIILLANPQFIS

Nel presente contesto, il termine "anticorpo" comprende gli anticorpi interi e qualsiasi loro frammento legante l'antigene (ovvero la "porzione legante l'antigene") o catena singola. In una forma esecutiva, un "anticorpo" identifica una glicoproteina comprendente almeno due catene pesanti (H) e due catene leggere (L) che sono intercollegate per mezzo di ponti disolfuro, o una sua porzione legante l'antigene. Ogni catena pesante è costituita da una regione variabile di catena pesante (qui abbreviata V_H) e da una regione costante di catena pesante. In certi anticorpi esistenti in natura, la regione costante della catena pesante è costituita da tre domini, CH1, CH2 e CH3. In certi anticorpi esistenti in natura, ciascuna catena leggera è costituita da una regione variabile di catena leggera (qui abbreviata V_L) e da una regione costante di catena leggera. La regione costante della catena leggera è costituita da un singolo dominio, CL. Le regioni V_H e V_L possono essere ulteriormente suddivise in regioni di ipervariabilità, denominate regioni determinanti la complementarietà (CDR), inframmezzate da regioni più conservate che sono denominate regioni cornice (FR). Ciascuna delle catene V_H e V_L è costituita da tre CDR e quattro FR che sono disposte nel seguente ordine dall'ammino-terminale al carbossi-terminale: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Le regioni variabili delle catene pesanti e leggere contengono un dominio legante che interagisce con un antigene. Le regioni costanti degli anticorpi possono mediare il legame dell'immunoglobulina con tessuti o fattore dell'ospite, incluso con varie cellule del sistema immunitario (ad esempio le cellule effettrici) e con il primo componente (C1q) del sistema classico del complemento.

Tipicamente, gli anticorpi si legano specificatamente al loro antigene affine con un'alta affinità, riflessa da una costante di dissociazione (K_D) tra 10^{-5} e 10^{-11} M o meno. È opinione generale che qualsiasi K_D maggiore di circa 10^{-4} M indichi un legame aspecifico. Nel presente contesto, un anticorpo che "si lega specificatamente" ad un antigene identifica un anticorpo che si lega all'antigene e ad antigeni sostanzialmente identici con un'alta affinità, nel senso che ha una K_D di 10^{-7} M o meno, preferibilmente di 10^{-8} M o meno, ancora più preferibilmente di 5 x 10^{-9} M o meno e con preferenza assoluta tra 10^{-8} M e 10^{-10} M o meno, senza tuttavia legarsi ad antigeni non correlati con un'alta affinità. Un antigene è "sostanzialmente identico" ad un dato antigene se mostra un alto grado di identità di sequenza con il dato antigene, ad esempio se mostra un'identità di sequenza di almeno 80%, almeno 90%, preferibilmente almeno 95%, più preferibilmente almeno 97% o ancora più preferibilmente almeno 99% con la sequenza del dato antigene. A titolo d'esempio, un anticorpo che si lega specificatamente al GITR umano potrà anche cross-reagire con antigeni GITR di

certe specie di primati (ad esempio con il GITR di cynomolgus) ma non sarà in grado di cross-reagire con antigeni GITR di altre specie o con un antigene diverso da GITR.

Un'immunoglobulina può derivare da uno qualsiasi degli isotipi comunemente noti tra cui, ma senza limitazioni, IgA, IgA secretorie, IgG e IgM. In certe specie, l'isotipo delle IgG è suddiviso in sottoclassi: IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4 negli esseri umani, e IgG1, IgG2a, IgG2b e IgG3 nei topi. In certe forme esecutive, gli anticorpi anti-GITR qui descritti sono di sottotipo IgG1 o IgG2. Le immunoglobuline, ad esempio le IgG1, esistono in diversi allotipi che si differenziano l'uno dall'altro per al massimo una manciata di amminoacidi. A titolo d'esempio, un "anticorpo" comprende sia anticorpi esistenti in natura che anticorpi non esistenti in natura; anticorpi monoclonali e policlonali; anticorpi chimerici e umanizzati; anticorpi umani e non umani; anticorpi interamente sintetici; e anticorpi a catena singola.

Nel presente contesto, il termine "porzione legante l'antigene" di un anticorpo identifica uno o più frammenti di un anticorpo che mantengono la capacità di legarsi specificatamente ad un antigene (ad esempio al GITR umano). Tali "frammenti" hanno ad esempio una lunghezza tra circa 8 e circa 1500 amminoacidi, opportunamente una lunghezza tra circa 8 e circa 745 amminoacidi, opportunamente una lunghezza da circa 8 a circa 300 amminoacidi, ad esempio da circa 8 a circa 200 amminoacidi o da circa 10 a circa 50 o 100 amminoacidi. È stato mostrato che la funzione di legame all'antigene di un anticorpo può essere espletata da frammenti di un anticorpo a tutta lunghezza. Esempi di frammenti leganti che ricadono nel termine "porzione legante l'antigene" di un anticorpo, ad esempio di un anticorpo anti-GITR qui descritto, comprendono (i) un frammento Fab, che è un frammento monovalente costituito dai domini V_L, V_H, CL e CH1; (ii) un frammento $F(ab')_2$, che è un frammento bivalente comprendente due frammenti Fab collegati per mezzo di un ponte disolfuro nella regione cerniera; (iii) un frammento Fd, che è costituito dai domini V_H e CH1; (iv) un frammento Fv, che è costituito dai domini V_L e V_H di un singolo braccio di un anticorpo, (v) un frammento dAb (Ward et al., (1989) Nature 341:544-546), che è costituito da un dominio V_H; e (vi) una regione determinante la complementarità (CDR) isolata, o (vii) una combinazione di due o più CDR isolate che, opzionalmente, possono essere unite per mezzo di un raccordo sintetico. Inoltre, benché i due domini V_L e V_H del frammento Fv vengano codificati da geni separati, essi possono essere uniti, adoperando metodi ricombinanti, attraverso un raccordo sintetico che permette

di produrli come una singola catena proteica in cui le regioni V_L e V_H si appaiano per formare molecole monovalenti (note come Fv a catena singola (scFv); vedere ad esempio Bird et al., (1988) Science 242:423-426; e Huston et al., (1988) Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 85:5879-5883). Il termine "porzione legante l'antigene" di un anticorpo intende abbracciare anche tali anticorpi a catena singola. Questi frammenti di anticorpo vengono ottenuti usando tecniche convenzionali che sono note agli esperti nel ramo, e lo screening dell'utilità dei frammenti viene condotto allo stesso modo degli anticorpi intatti. Le porzioni leganti l'antigene possono essere prodotte attraverso tecniche di DNA ricombinante o mediante taglio enzimatico o chimico di immunoglobuline intatte.

Un "anticorpo bispecifico", o "bifunzionale", è un anticorpo ibrido artificiale che ha due coppie differenti di catene pesante/leggera e due siti di legame differenti. Gli anticorpi bispecifici possono essere prodotti attraverso una varietà di metodi, tra cui la fusione di ibridomi o il collegamento di frammenti Fab'. Vedere ad esempio Songsivilai e Lachmann, Clin. Exp. Immunol. 79:315-321 (1990); Kostelny et al., J. Immunol. 148, 1547-1553 (1992).

Nel presente contesto, il termine "anticorpo monoclonale" identifica un anticorpo che mostra una singola specificità di legame e una singola affinità di legame per un particolare epitopo, o identifica una composizione di anticorpi in cui tutti gli anticorpi mostrano una singola specificità di legame e una singola affinità di legame per un particolare epitopo. Di conseguenza, il termine "anticorpo monoclonale umano" identifica un anticorpo o una composizione di anticorpi che mostra/mostrano una singola specificità di legame e che ha/hanno regioni variabili e regioni costanti opzionali derivate da sequenze immunoglobuliniche della linea germinale umana. In una forma esecutiva, gli anticorpi monoclonali umani vengono prodotti da un ibridoma che comprende una cellula B ottenuta da un animale non umano transgenico, ad esempio un topo transgenico, avente un genoma comprendente un transgene di catena pesante umano e un transgene di catena leggera umano, detta cellula B essendo fusa ad una cellula immortalizzata.

Nel presente contesto, il termine "anticorpo umano ricombinante" comprende tutti gli anticorpi umani che vengono preparati, espressi, creati o isolati attraverso mezzi ricombinanti, come (a) anticorpi isolati da un animale (ad esempio un topo) che è transgenico o transcromosomico per geni immunoglobulinici umani, o isolati da un ibridoma preparato da tale animale, (b) anticorpi isolati da una cellula ospite che è stata trasformata per esprimere l'anticorpo, ad

esempio da un trasfettoma, (c) anticorpi isolati da una libreria combinatoriale di anticorpi umani ricombinanti, e (d) anticorpi preparati, espressi, creati o isolati attraverso qualsiasi altro mezzo che prevede di congiungere sequenze di geni immunoglobulinici umani con altre sequenze di DNA tramite splicing. Tali anticorpi umani ricombinanti comprendono regioni variabili e costanti che adoperano particolari sequenze immunoglobuliniche della linea germinale umana codificate da geni della linea germinale, ma comprendono anche successivi/e riarrangiamenti e mutazioni che, ad esempio, hanno luogo durante la maturazione degli anticorpi. Come noto nel ramo (vedere ad esempio Lonberg (2005) Nature Biotech. 23(9):1117-1125), la regione variabile contiene il dominio legante l'antigene, il quale viene codificato da vari geni che si riarrangiano per formare un anticorpo specifico per un antigene estraneo. Oltre che attraverso il riarrangiamento, la regione variabile può essere ulteriormente modificata tramite molteplici cambiamenti di amminoacido puntiformi (tale meccanismo essendo identificato come mutazione somatica o ipermutazione) che incrementano l'affinità dell'anticorpo per l'antigene estraneo. La regione costante cambierà in ulteriore risposta ad un antigene (ovvero mediante passaggio di isotipo). Pertanto, le molecole di acido nucleico riarrangiate e somaticamente mutate che codificano per i polipeptidi immunoglobulinici di catena leggera e catena pesante in risposta ad un antigene potranno non mostrare un'identità di sequenza con le molecole di acido nucleico originali ma, al contrario, saranno sostanzialmente identiche o simili (nel senso che avranno un'identità di almeno 80%).

Un anticorpo "umano" (HuMAb) identifica un anticorpo avente regioni variabili in cui sia le regioni cornice che le regioni CDR derivano da sequenze immunoglobuliniche della linea germinale umana. Inoltre, se l'anticorpo contiene una regione costante, anche la regione costante deriva da sequenze immunoglobuliniche della linea germinale umana. Gli anticorpi qui descritti possono comprendere residui di amminoacido che non vengono codificati da sequenze immunoglobuliniche della linea germinale umana (ad esempio mutazioni introdotte per mutagenesi casuale o sito-specifica in vitro o per mutazione somatica in vivo). Nel presente contesto, tuttavia, il termine "anticorpo umano" non intende comprendere anticorpi con sequenze cornice umane aventi innestate sequenze di CDR derivate dalla linea germinale di un'altra specie di mammifero, come un topo. I termini "anticorpi umani" e "anticorpi completamente umani" vengono usati come sinonimi.

Un anticorpo "umanizzato" identifica un anticorpo in cui alcuni di, la maggior parte di o tutti gli amminoacidi che si trovano all'esterno dei domini CDR di un anticorpo non umano sono sostituiti con corrispondenti amminoacidi derivati da immunoglobuline umane. In una forma umanizzata di un anticorpo, alcuni di, la maggior parte di o tutti gli amminoacidi che si trovano all'esterno dei domini CDR possono essere sostituiti con amminoacidi derivati da immunoglobuline umane, mentre alcuni di, la maggior parte di o tutti gli amminoacidi che si trovano all'interno di una o più regioni CDR possono rimanere invariati. È ammessa la presenza di piccole addizioni, delezioni, inserzioni, sostituzioni o modifiche degli amminoacidi, a patto che esse non abroghino la capacità dell'anticorpo di legarsi ad un particolare antigene. Un anticorpo "umanizzato" mantiene una specificità antigenica simile a quella dell'anticorpo originale.

Un "anticorpo chimerico" identifica un anticorpo in cui le regioni variabili derivano da una certa specie e le regioni costanti derivano da un'altra specie, come un anticorpo in cui le regioni variabili derivano da un anticorpo murino e le regioni costanti derivano da un anticorpo umano.

Nel presente contesto, il termine "isotipo" identifica la classe di un anticorpo (ad esempio un anticorpo IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgD e IgE) che viene codificato dai geni per le regioni costanti delle catene pesanti.

Il termine "allotipo" identifica le varianti esistenti in natura che ricadono all'interno del gruppo di uno specifico isotipo, le quali varianti differiscono per alcuni aminoacidi (vedere ad esempio Jefferis et al., (2009) mAbs 1:1). Gli anticorpi qui descritti possono essere di qualsiasi allotipo. Nel presente contesto, gli anticorpi identificati come anticorpi di isotipo "IgG1f" o "IgG1.1f" sono rispettivamente anticorpi IgG1 e IgG1.1 senza funzione effettrice di allotipo "f", ovvero aventi 214R, 356E e 358M in base all'indice EU secondo Kabat, ad esempio come mostrato in SEQ ID NO:7 (vedere i residui sottolineati in SEQ ID NO:7 della Tabella 11).

Le espressioni "un anticorpo che riconosce un antigene" e "un anticorpo specifico per un antigene" vengono qui usate in modo intercambiabile con il termine "un anticorpo che si lega specificatamente ad un antigene".

Nel presente contesto, un "anticorpo isolato" intende identificare un anticorpo che è sostanzialmente libero da altri anticorpi aventi specificità antigeniche differenti (ad esempio, un anticorpo isolato che si lega specificatamente a

GITR è sostanzialmente libero da anticorpi che si legano specificatamente ad antigeni diversi da GITR). Tuttavia, un anticorpo isolato che si lega specificatamente ad un epitopo di GITR può mostrare cross-reattività con altre proteine GITR di specie differenti.

Nel presente contesto, resta inteso che un anticorpo che "inibisce il legame di GITR-L a GITR" identifica un anticorpo che inibisce il legame di GITR-L a GITR, ad esempio in saggi di legame che adoperano cellule 3A9-hGITR, con una EC50 di circa 1 μg/mL o meno, come circa 0,9 μg/mL o meno, circa 0,85 μg/mL o meno, circa 0,8 μg/mL o meno, circa 0,75 μg/mL o meno, circa 0,7 μg/mL o meno, circa 0,65 μg/mL o meno, circa 0,6 μg/mL o meno, circa 0,55 μg/mL o meno, circa 0,5 μg/mL o meno, circa 0,45 μg/mL o meno, circa 0,4 μg/mL o meno, circa 0,35 μg/mL o meno, circa 0,3 μg/mL o meno, circa 0,25 μg/mL o meno, circa 0,2 μg/mL o meno, circa 0,15 μg/mL o meno, o circa 0,1 μg/mL o meno in metodi noti nel ramo, ad esempio nei saggi di legame basati su FACS qui descritti.

Una "funzione effettrice" identifica l'interazione tra la regione Fc di un anticorpo e un recettore o ligando per Fc, o un evento biochimico scaturente da tale interazione. Le "funzioni effettrici" esemplificative comprendono il legame a C1q, la citotossicità complemento-dipendente (CDC), il legame ad un recettore per Fc, le funzioni effettrici FcγR-mediate, come la ADCC e la fagocitosi cellulo-mediata anticorpo-dipendente (ADCP), e la sottoregolazione di un recettore di superficie cellulare (ad esempio il recettore delle cellule B; BCR). Generalmente, tali funzioni effettrici richiedono che la regione Fc si combini con un dominio legante (ad esempio il dominio variabile di un anticorpo).

Un "recettore per Fc", o "FcR", è un recettore che si lega alla regione Fc di un'immunoglobulina. Gli FcR che si legano ad un anticorpo IgG comprendono i recettori della famiglia FcγR, tra cui varianti alleliche e forme di splicing alternativo di questi recettori. La famiglia FcγR è costituita da tre recettori attivanti (FcγRI, FcγRIII ed FcγRIV nei topi; FcγRIA, FcγRIIA ed FcγRIIIA negli esseri umani) e un singolo recettore inibitorio (FcγRIIB). La Tabella 1 riepiloga varie proprietà degli FcγR umani. Nei topi e negli esseri umani, la maggior parte dei tipi di cellule effettrici innate co-esprime uno o più FcγR attivanti e il recettore inibitorio FcγRIIB, mentre le cellule natural killer (NK) esprimono selettivamente un recettore per Fc attivante (FcγRIII nei topi e FcγRIIIA negli esseri umani) ma non il recettore inibitorio FcγRIIB. La IgG1 umana si lega alla maggior parte dei recettori per Fc umani, ed è considerata equivalente alla IgG2a murina in termini di tipi di recettori per Fc attivanti a cui si lega.

Tabella 1. Proprietà degli FcγR umani

Fcγ	Varianti alleliche	Affinità per le IgG umane	Preferenza di isotipo	Distribuzione cellulare
FcγRI	nessuna descritta	alta (K_D ~10 nM)	IgG1=3>4>>2	monociti, macrofagi, neutrofili attivati, cellule dendritiche?
FcγRIIA	H131	tra bassa a media	IgG1>3>2>4	neutrofili, monociti, macrofagi, eosinofili, cellule dendritiche, piastrine
	R131	bassa	IgG1>3>4>2	
FcγRIIIA	V158	media	IgG1=3>>4>2	cellule NK, monociti, macrofagi, mastociti, eosinofili, cellule dendritiche?
	F158	bassa	IgG1=3>>4>2	
FcγRIIB	1232	bassa	IgG1=3=4>2	cellule B, monociti, macrofagi, cellule dendritiche, mastociti
	T232	bassa	IgG1=3=4>2	

Una "regione Fc" (regione del frammento cristallizzabile), o "dominio Fc" o "Fc", identifica la regione C-terminale della catena pesante di un anticorpo che media il legame dell'immunoglobulina a tessuti o fattori dell'ospite, tra cui il legame ai recettori per Fc che si trovano su varie cellule del sistema immunitario (ad esempio le cellule effettrici) o il legame al primo componente (C1q) del sistema classico del complemento. Segnatamente, una regione Fc comprende la regione costante di un anticorpo ad esclusione del primo dominio immunoglobulinico della regione costante (ad esempio CH1 o CL). Negli anticorpi IgG, IgA e IgD, la regione Fc comprende due frammenti proteici identici derivati dal secondo (C_{H2}) e dal terzo dominio costante (C_{H3}) delle due catene pesanti dell'anticorpo; le regioni Fc delle IgM e delle IgE comprendono tre domini costanti di catena pesante (domini C_H 2-4) in ciascuna catena polipeptidica. Nelle IgG, la regione Fc comprende i domini immunoglobulinici Cγ2 e Cγ3 e la cerniera tra Cγ1 e Cγ2. Benché i confini della regione Fc della catena pesante di un'immunoglobulina possano variare, la definizione abituale vuole che la regione Fc della catena pesante di una IgG umana si estenda da un residuo di amminoacido nella posizione C226 o P230 (o da un amminoacido tra questi due amminoacidi) fino al carbossi-terminale della catena pesante, la

numerazione essendo conforme all'indice EU secondo Kabat. Il dominio C_{H2} della regione Fc di una IgG umana si estende da circa l'amminoacido 231 a circa l'amminoacido 340, mentre il dominio C_{H3} si trova posizionato sul lato C-terminale di un dominio C_{H2} in una regione Fc, nel senso che si estende da circa l'amminoacido 341 a circa l'amminoacido 447 di una IgG. Nel presente contesto, la regione Fc può essere un Fc di sequenza nativa, inclusa qualsiasi variante allotipica, o un Fc variante (ad esempio un Fc non esistente in natura). Fc può anche identificare questa regione isolata da o inserita nel contesto di un polipeptide proteico comprendente Fc, come una "proteina legante comprendente una regione Fc", anche identificata come "proteina di fusione a Fc" (ad esempio un anticorpo o un'immunoadesina).

Una "regione Fc di sequenza nativa", o "Fc di sequenza nativa", comprende una sequenza di amminoacidi che è identica alla sequenza di amminoacidi di una regione Fc incontrata in natura. Le regioni Fc umane di sequenza nativa comprendono una regione Fc IgG1 umana di sequenza nativa; una regione Fc IgG2 umana di sequenza nativa; una regione Fc IgG3 umana di sequenza nativa; e una regione Fc IgG4 umana di sequenza nativa, e comprendono anche loro varianti esistenti in natura. Gli Fc di sequenza nativa comprendono i vari allotipi di Fc (vedere ad esempio Jefferis et al., (2009) mAbs 1:1).

I termini "cerniera", "dominio cerniera", "regione cerniera" o "regione cerniera di un anticorpo" identificano il dominio di una regione costante di catena pesante che unisce il dominio CH1 al dominio CH2 e che comprende la porzione superiore, quella intermedia e quella inferiore della cerniera (Roux et al., J. Immunol. 1998 161:4083). La cerniera conferisce livelli variabili di flessibilità tra la regione legante e la regione effettrice di un anticorpo e, inoltre, fornisce siti per la formazione di legami disolfuro intermolecolari tra le regioni costanti delle due catene pesanti. Nel presente contesto, una cerniera inizia con Glu216 e termina con Gly237 per tutti gli isotipi di IgG (Roux et al., 1998 J. Immunol. 161:4083). Le Tabelle 2 e 9 mostrano le sequenze delle cerniere IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4 di tipo selvatico.

Tabella 2.

Amminoacidi della regione cerniera

Tipo di Ig	C_H1 C-terminale*	Cerniera superiore	Cerniera intermedia	Cerniera inferiore

IgG1	VDKRV (SEQ ID NO:299)	EPKSCDKTHT (SEQ ID NO:301)	CPPCP (SEQ ID NO:305)	APELLGG (SEQ ID NO:313)
IgG2	VDKTV (SEQ ID NO:300)	ERK	CCVECPPCP (SEQ ID NO:306)	APPVAG (SEQ ID NO:314)
IgG3 (17-15-15-15)	VDKRV (SEQ ID NO:299)	ELKTPLGDTTHT (SEQ ID NO:302)	CPRCP $(EPKSCDTPPPCPRCP)_3$ (SEQ ID NO: 307)	APELLGG (SEQ ID NO:313)
IgG3 (17-15-15)	VDKRV (SEQ ID NO:299)	ELKTPLGDTTHT (SEQ ID NO:302)	CPRCP $(EPKSCDTPPPCPRCP)_2$ (SEQ ID NO: 308)	APELLGG (SEQ ID NO:313)
IgG3 (17-15)	VDKRV (SEQ ID NO:299)	ELKTPLGDTTHT (SEQ ID NO:302)	CPRCP $(EPKSCDTPPPCPRCP)_1$ (SEQ ID NO: 309)	APELLGG (SEQ ID NO:313)
IgG3 (15-15-15)	VDKRV (SEQ ID NO:299)	EPKS (SEQ ID NO:303)	CDTPPPCPRCP $(EPKSCDTPPPCPRCP)_2$ (SEQ ID NO: 310)	APELLGG (SEQ ID NO:313)
IgG3 (15)	VDKRV (SEQ ID NO:299)	EPKS (SEQ ID NO:303)	CDTPPPCPRCP (SEQ ID NO:311)	APELLGG (SEQ ID NO:313)
IgG4	VDKRV (SEQ ID NO:299)	ESKYGPP (SEQ ID NO:304)	CPSCP (SEQ ID NO:312)	APEFLGG (SEQ ID NO:313)

* Sequenze di amminoacidi C-terminali dei domini CH1.

Il termine "cerniera" comprende sia cerniere di tipo selvatico (come quelle riportate nella Tabella 11) che loro varianti (ad esempio cerniere non esistenti in natura o cerniere modificate). Ad esempio, il termine "cerniera IgG2" comprende una cerniera IgG2 di tipo selvatico, che è mostrata nella Tabella 11, e varianti aventi 1, 2, 3, 4, 5, 1-3, 1-5,

3-5 e/o al massimo 5, 4, 3, 2, o 1 mutazione, ad esempio sostituzione, delezione o addizione. Le cerniere IgG2 varianti esemplificative comprendono cerniere IgG2 in cui 1, 2, 3 o tutte e 4 le cisteine (C219, C220, C226 e C229) sono sostituite con un altro amminoacido. In una forma esecutiva specifica, una IgG2 comprende una sostituzione C219S. In certe forme esecutive, una cerniera è una cerniera ibrida che comprende sequenze di almeno due isotipi. Ad esempio, una cerniera potrà comprendere la cerniera superiore, intermedia o inferiore di un isotipo e il resto della cerniera di uno o più altri isotipi. Ad esempio, una cerniera può essere una cerniera IgG2/IgG1 e, ad esempio, può comprendere la cerniera superiore e quella intermedia di isotipo IgG2 e la cerniera inferiore di isotipo IgG1. Una cerniera può avere una funzione effettrice o può essere priva di funzione effettrice. Ad esempio, la cerniera inferiore di una IgG1 di tipo selvatico fornisce una funzione effettrice.

Il termine "dominio CH1" identifica la regione costante della catena pesante che collega il dominio variabile alla cerniera nel dominio costante di una catena pesante. Nel presente contesto, un dominio CH1 inizia con A118 e termina con V215. Il termine "dominio CH1" comprende sia domini CH1 di tipo selvatico (come quelli aventi SEQ ID NO:278 per IgG1 e SEQ ID NO:279 per IgG2; Tabella 11) che loro varianti (ad esempio domini CH1 non esistenti in natura o domini CH1 modificati). Ad esempio, il termine "dominio CH1" comprende domini CH1 di tipo selvatico e varianti aventi 1, 2, 3, 4, 5, 1-3, 1-5, 3-5 e/o al massimo 5, 4, 3, 2 o 1 mutazione, ad esempio sostituzione, delezione o addizione. I domini CH1 esemplificativi comprendono domini CH1 con mutazioni che modificano un'attività biologica di un anticorpo, come ADCC, CDC o emivita. Qui vengono fornite modifiche al dominio CH1 che influenzano un'attività biologica di un anticorpo.

Il termine "dominio CH2" identifica la regione costante della catena pesante che collega la cerniera al dominio CH3 nel dominio costante di una catena pesante. Nel presente contesto, un dominio CH2 inizia con P238 e termina con K340. Il termine "dominio CH2" comprende sia domini CH2 di tipo selvatico (come quelli aventi SEQ ID NO:280 per IgG1 e SEQ ID NO:297 per IgG2; Tabella 11) che loro varianti (ad esempio domini CH2 non esistenti in natura o domini CH2 modificati). Ad esempio, il termine "dominio CH2" comprende domini CH2 di tipo selvatico e varianti aventi 1, 2, 3, 4, 5, 1-3, 1-5, 3-5 e/o al massimo 5, 4, 3, 2 o 1 mutazione, ad esempio sostituzione, delezione o addizione. I domini CH2 esemplificativi comprendono domini CH2 con mutazioni che modificano un'attività biologica di un

anticorpo, come ADCC, CDC o emivita. In certe forme esecutive, un dominio CH2 comprende le sostituzioni A330S/P331S che riducono la funzione effettrice. Qui vengono fornite altre modifiche al dominio CH2 che influenzano un'attività biologica di un anticorpo.

Il termine "dominio CH3" identifica la regione costante della catena pesante che è C-terminale al dominio CH2 nel dominio costante di una catena pesante. Nel presente contesto, un dominio CH3 inizia con G341 e termina con K447. Il termine "dominio CH3" comprende sia domini CH3 di tipo selvatico (come quelli aventi SEQ ID NO:282 per IgG1 e SEQ ID NO:298 per IgG2; Tabella 11) che loro varianti (ad esempio domini CH3 non esistenti in natura o domini CH3 modificati). Ad esempio, il termine "dominio CH3" comprende domini CH3 di tipo selvatico e varianti aventi 1, 2, 3, 4, 5, 1-3, 1-5, 3-5 e/o al massimo 5, 4, 3, 2 o 1 mutazione, ad esempio sostituzione, delezione o addizione. I domini CH3 esemplificativi comprendono domini CH3 con mutazioni che modificano un'attività biologica di un anticorpo, come ADCC, CDC o emivita. Qui vengono fornite modifiche al dominio CH3 che influenzano un'attività biologica di un anticorpo.

Una "regione Fc di sequenza nativa", o "Fc di sequenza nativa", comprende una sequenza di amminoacidi che è identica alla sequenza di amminoacidi di una regione Fc incontrata in natura. Le regioni Fc umane di sequenza nativa comprendono una regione Fc IgG1 umana di sequenza nativa; una regione Fc IgG2 umana di sequenza nativa; una regione Fc IgG3 umana di sequenza nativa; e una regione Fc IgG4 umana di sequenza nativa, e comprendono anche loro varianti esistenti in natura. Gli Fc di sequenza nativa comprendono i vari allotipi di Fc (vedere ad esempio Jefferis et al., (2009) mAbs 1:1).

Il termine "epitopo", o "determinante antigenico", identifica un sito su un antigene (ad esempio GITR) a cui un'immunoglobulina o un anticorpo si lega specificatamente. Gli epitopi possono essere formati sia da amminoacidi contigui (normalmente un epitopo lineare) che da amminoacidi non contigui ma giustapposti a causa del ripiegamento terziario di una proteina (normalmente un epitopo conformazionale). Gli epitopi formati da amminoacidi contigui vengono tipicamente, ma non sempre, mantenuti quando esposti a solventi denaturanti, mentre gli epitopi formati dal ripiegamento terziario vengono tipicamente persi quando trattati con solventi denaturanti. Un epitopo comprende tipicamente almeno 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 o 15 amminoacidi in una conformazione spaziale peculiare. I

metodi per determinare gli epitopi che vengono legati da un dato anticorpo (ovvero per mappare gli epitopi) sono ben noti nel ramo e comprendono, ad esempio, saggi di immunoblot e immunoprecipitazione che esaminano la reattività di peptidi sovrapposti o contigui (ad esempio di GITR) con un dato anticorpo (ad esempio un anticorpo anti-GITR). I metodi per determinare la conformazione spaziale degli epitopi comprendono tecniche del ramo e quelle qui descritte, ad esempio la cristallografia ai raggi X, la risonanza magnetica nucleare 2-dimensionale e la HDX-MS (vedere ad esempio Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology, Vol. 66, redattore G. E. Morris (1996)).

Il termine "mappatura degli epitopi" identifica il processo di identificazione dei determinanti molecolari per il riconoscimento anticorpo-antigene.

Quando riferita a due o più anticorpi, l'espressione "si lega allo stesso epitopo" significa che gli anticorpi si legano allo stesso segmento di residui di amminoacido, come determinato attraverso un dato metodo. Le tecniche per determinare se un anticorpo si lega allo "stesso epitopo su GITR" a cui si legano gli anticorpi qui descritti comprendono, ad esempio, metodi di mappatura degli epitopi come le analisi ai raggi X di cristalli dei complessi antigene:anticorpo, che forniscono una risoluzione atomica dell'epitopo, e la spettrometria di massa con scambio idrogeno/deuterio (HDX-MS). Altri metodi monitorano il legame dell'anticorpo a frammenti di un antigene o a varianti mutate dell'antigene, in cui una perdita di legame dovuta alla modifica di un residuo di amminoacido all'interno della sequenza dell'antigene è spesso considerata un'indicazione di un componente epitopico. In aggiunta, la mappatura degli epitopi può anche essere ottenuta adoperando metodi combinatoriali computazionali. Questi metodi sono basati sulla capacità dell'anticorpo d'interesse di isolare per affinità specifici peptidi corti da librerie combinatoriali di peptidi con esposizione su fago. Ci si aspetta che gli anticorpi aventi le stesse VH e VL, o le stesse sequenze di CDR1, 2 e 3, si legheranno allo stesso epitopo.

Gli anticorpi che "competono con un altro anticorpo per il legame ad un bersaglio" identificano anticorpi che inibiscono (parzialmente o completamente) il legame dell'altro anticorpo al bersaglio. Per determinare se due anticorpi competono tra loro per il legame ad un bersaglio, ovvero per determinare se e in che misura un anticorpo inibisce il legame dell'altro anticorpo ad un bersaglio, è possibile adoperare esperimenti di competizione noti. In certe forme esecutive, un anticorpo compete con e inibisce il legame di un altro anticorpo ad un bersaglio di almeno 10%, 20%,

30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% o 100%. Il livello di inibizione o competizione può variare a seconda di quale anticorpo è l'"anticorpo bloccante" (ovvero l'anticorpo "freddo" che viene incubato per primo con il bersaglio). I saggi di competizione possono essere condotti come descritto, ad esempio, in Ed Harlow e David Lane, Cold Spring Harb. Protoc.; 2006; doi:10.1101/pdb.prot4277, o nel capitolo 11 di "Using Antibodies" di Ed Harlow e David Lane, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, USA 1999. Gli anticorpi competitivi si legano allo stesso epitopo, ad un epitopo sovrapposto o ad epitopi adiacenti (ad esempio come evidenziato dall'ingombro sterico).

Altri saggi di legame competitivo comprendono: il radioimmunosaggio (RIA) diretto o indiretto in fase solida, l'immunosaggio enzimatico (EIA) diretto o indiretto in fase solida, il saggio di competizione sandwich (vedere Stahli et al., Methods in Enzymology 9:242 (1983)); l'EIA diretto in fase solida con biotina-avidina (vedere Kirkland et al., J. Immunol. 137:3614 (1986)); il saggio marcato diretto in fase solida, il saggio sandwich marcato diretto in fase solida (vedere Harlow e Lane, Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Press (1988)); il RIA marcato diretto in fase solida che adopera I-125 come marcatore (vedere Morel et al., Mol. Immunol. 25(1):7 (1988)); l'EIA diretto in fase solida con biotina-avidina (Cheung et al., Virology 176:546 (1990)); e il RIA marcato diretto (Moldenhauer et al., Scand. J. Immunol. 32:77 (1990)).

Nel presente contesto, le espressioni "legame specifico", "legame selettivo", "si lega selettivamente" e "si lega specificatamente" identificano il legame di un anticorpo ad un epitopo su un antigene predeterminato. Tipicamente, l'anticorpo (i) si lega con una costante di dissociazione all'equilibrio (K_D) di circa meno di 10^{-7} M, come circa meno di 10^{-8} M, 10^{-9} M o 10^{-10} M o anche meno, ad esempio quando determinata attraverso la tecnologia della risonanza plasmonica di superficie (SPR) su uno strumento Biacore 2000 usando l'antigene predeterminato, ad esempio un GITR umano ricombinante, come analita, e l'anticorpo come ligando, o quando determinata tramite analisi Scatchard del legame dell'anticorpo a cellule antigene-positive, e (ii) si lega all'antigene predeterminato con un'affinità che è almeno due volte più alta della sua affinità di legame per un antigene aspecifico (ad esempio BSA, caseina) che è diverso dall'antigene predeterminato o da un antigene strettamente correlato. Di conseguenza, un anticorpo che "si lega specificatamente al GITR umano" identifica un anticorpo che si lega ad un GITR umano solubile o legato ad una cellula con una K_D di 10^{-7} M o meno, come circa meno di 10^{-8} M, 10^{-9} M o 10^{-10} M o anche meno. Un anticorpo che "cross-

reagisce con il GITR cynomolgus" identifica un anticorpo che si lega al GITR di cynomolgus con una K_D di 10^{-7} M o meno, come approssimativamente meno di 10^{-8} M, 10^{-9} M o 10^{-10} M o anche meno. In certe forme esecutive, tali anticorpi che non cross-reagiscono con il GITR di una specie non umana mostrano essenzialmente un legame non rilevabile contro queste proteine in saggi di legame standard.

Nel presente contesto, i termini "k_{assoc}" o "k_a" intendono identificare la velocità di associazione di una particolare interazione anticorpo-antigene mentre, sempre nel presente contesto, i termini "k_{dis}" o "k_d" intendono identificare la velocità di dissociazione di una particolare interazione anticorpo-antigene. Nel presente contesto, il termine "K_D" intende identificare la costante di dissociazione ottenuta dal rapporto tra k_d e k_a (ovvero k_d/k_a) ed espressa in termini di concentrazione molare (M). I valori di K_D per gli anticorpi possono essere determinati attraverso metodi ben consolidati nel ramo. Un metodo preferito per determinare la K_D di un anticorpo è l'uso della risonanza plasmonica di superficie, preferibilmente adoperando un sistema biosensore, come un sistema Biacore®, o un flussocitometro e l'analisi di Scatchard.

Nel presente contesto, il termine "alta affinità" di un anticorpo IgG identifica un anticorpo avente una K_D di 10^{-8} M o meno, più preferibilmente di 10^{-9} M o meno, e ancora più preferibilmente di 10^{-10} M o meno per un antigene bersaglio. Tuttavia, il legame ad "alta affinità" può variare per altri isotipi dell'anticorpo. Ad esempio, un legame di "alta affinità" per un isotipo IgM fa riferimento ad un anticorpo avente una K_D di 10^{-7} M o meno, più preferibilmente di 10^{-8} M o meno.

Nel contesto di un saggio in vitro o in vivo che adopera un anticorpo o un suo frammento legante l'antigene, il termine "EC50" identifica la concentrazione di un anticorpo o di una sua porzione legante l'antigene che induce una risposta che è il 50% della risposta massimale, ovvero che si trova a metà strada tra la risposta massimale e la risposta basale.

L'espressione "si lega ad un GITR immobilizzato" identifica la capacità di un anticorpo qui descritto di legarsi ad un GITR che, ad esempio, viene espresso sulla superficie di una cellula o che è attaccato ad un supporto solido.

Nel presente contesto, l'espressione "cross-reagisce" identifica la capacità di un anticorpo qui descritto di legarsi al GITR di una specie differente. Ad esempio, l'anticorpo qui descritto che lega il GITR umano può anche legare

il GITR di un'altra specie (ad esempio il GITR di cynomolgus). Nel presente contesto, la cross-reattività può essere misurata rilevando una reattività specifica con un antigene purificato in saggi di legame (ad esempio SPR, ELISA) o rilevando il legame, o comunque un'interazione funzionale, con cellule che esprimono fisiologicamente un GITR. I metodi per determinare la cross-reattività comprendono saggi di legame standard come qui descritti, ad esempio l'analisi per risonanza plasmonica di superficie (SPR) Biacore™ che adopera uno strumento SPR Biacore™ 2000 (Biacore AB, Uppsala, Svezia), o tecniche di flussocitometria.

Nel presente contesto, quando applicata ad un oggetto, l'espressione "esistente in natura" identifica il fatto che l'oggetto può essere incontrato in natura. Ad esempio, una sequenza polipeptidica o polinucleotidica che è presente in un organismo (virus inclusi) è una sequenza esistente in natura se può essere isolata da una fonte naturale e se non è stata intenzionalmente modificata dalla mano dell'uomo in laboratorio.

Un "polipeptide" identifica una catena che comprende almeno due residui di amminoacido collegati consecutivamente, senza limiti superiori sulla lunghezza della catena. Uno o più residui di amminoacido della proteina possono contenere un modifica come, ma senza limitazioni, una glicosilazione, una fosforilazione o la formazione di un legame disolfuro. Una "proteina" può comprendere uno o più polipeptidi.

Nel presente contesto, il termine "molecola di acido nucleico" intende comprendere le molecole di DNA e le molecole di RNA. Una molecola di acido nucleico può essere un DNA a filamento singolo o a filamento doppio, e può essere un cDNA.

Qui vengono anche fornite "modifiche di sequenza conservative" delle sequenze qui esposte, ad esempio nella Tabella 11, come in SEQ ID NO:13-191, ovvero modifiche in una sequenza di nucleotidi o di amminoacidi che non abrogano il legame tra l'antigene e l'anticorpo codificato dalla sequenza di nucleotidi o contenente la sequenza di amminoacidi. Tale modifiche di sequenza conservative comprendono sia sostituzioni di nucleotide e amminoacido conservative che addizioni e delezioni di nucleotide e amminoacido. Ad esempio, le modifiche possono essere introdotte in una sequenza della Tabella 11, ad esempio in SEQ ID NO:13-191, attraverso tecniche standard note nel ramo, ad esempio tramite mutagenesi sito-diretta e mutagenesi PCR-mediata. Le sostituzioni di amminoacido conservative comprendono quelle in cui il residuo di amminoacido viene sostituito con un residuo di amminoacido

avente una catena laterale simile. Le famiglie di residui di amminoacido aventi catene laterali simili sono state definite nel ramo. Queste famiglie comprendono amminoacidi con catene laterali basiche (ad esempio lisina, arginina, istidina), con catene laterali acide (ad esempio acido aspartico, acido glutammico), con catene laterali polari non cariche (ad esempio glicina, asparagina, glutammina, serina, treonina, tirosina, cisteina, triptofano), con catene laterali non polari (ad esempio alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenilalanina, metionina), con catene laterali beta-ramificate (ad esempio treonina, valina, isoleucina), e con catene laterali aromatiche (ad esempio tirosina, fenilalanina, triptofano, istidina). Segnatamente, un residuo di amminoacido in un anticorpo anti-GITR che è in predicato di non essere essenziale viene preferibilmente sostituito con un altro residuo di amminoacido della stessa famiglia di catene laterali. I metodi per identificare le sostituzioni di nucleotide e amminoacido conservative che non abrogano il legame all'antigene sono ben noti nel ramo (vedere ad esempio Brummell et al., Biochem. 32:1180-1187 (1993); Kobayashi et al., Protein Eng. 12(10):879-884 (1999); e Burks et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 94:412-417 (1997)). In alternativa, un'altra forma esecutiva può prevedere di introdurre mutazioni lungo tutta o parte della sequenza codificante per un anticorpo anti-GITR in maniera randomizzata, ad esempio tramite mutagenesi a saturazione, e sottoporre a screening l'attività di legame degli anticorpi anti-GITR modificati risultanti.

Per gli acidi nucleici, l'espressione "omologia sostanziale" indica che, quando allineati in maniera ottimale e confrontati, due acidi nucleici, o loro sequenze designate, sono identici, con opportune inserzioni o delezioni di nucleotide, in almeno circa 80% dei nucleotidi, normalmente in almeno circa 90% - 95% dei nucleotidi, e più preferibilmente in almeno circa 98% - 99,5% dei nucleotidi. In alternativa, è possibile parlare di omologia sostanziale quando i segmenti si ibridano al complemento del filamento in condizioni di ibridazione selettiva.

Per i polipeptidi, l'espressione "omologia sostanziale" indica che, quando allineati in maniera ottimale e confrontati, due polipeptidi, o loro sequenze designate, sono identici, con opportune inserzioni o delezioni di amminoacido, in almeno circa 80% degli amminoacidi, normalmente in almeno circa 90% - 95% degli amminoacidi, e più preferibilmente in almeno circa 98% - 99,5% degli amminoacidi.

La percentuale di identità tra due sequenze è una funzione del numero di posizioni identiche condivise dalle sequenze (ovvero % di omologia = n° di posizioni identiche/n° totale di posizioni x 100) tenendo conto del numero di

lacune e della lunghezza di ciascuna lacuna che deve essere introdotta per ottenere un allineamento ottimale tra le due sequenze. I confronti tra le sequenze e la determinazione della percentuale di identità tra due sequenze possono essere condotti adoperando un algoritmo matematico, come descritto negli esempi non limitativi sottostanti.

La percentuale di identità tra due sequenze di nucleotidi può essere determinata adoperando il programma GAP del pacchetto software GCG (disponibile all'indirizzo http://www.gcg.com) e adoperando una matrice NWSgapdna.CMP, un peso per le lacune di 40, 50, 60, 70 o 80, e un peso per le lunghezze di 1, 2, 3, 4, 5 o 6. La percentuale di identità tra due sequenze di nucleotidi o di amminoacidi può anche essere determinata adoperando l'algoritmo di E. Meyers e W. Miller (CABIOS, 4:11-17 (1989)), che è stato incorporato nel programma ALIGN (versione 2.0) e usando la tabella PAM120 per i pesi dei residui, una penalità per la lunghezza delle lacune di 12, e una penalità per l'introduzione delle lacune di 4. Inoltre, la percentuale di identità tra due sequenze di amminoacidi può essere determinata impiegando l'algoritmo di Needleman e Wunsch (J. Mol. Biol. (48):444-453 (1970)), che è stato incorporato nel programma GAP del pacchetto software GCG (disponibile all'indirizzo http://www.gcg.com), e usando una matrice Blossum 62 o una matrice PAM250, un peso per l'introduzione delle lacune di 16, 14, 12, 10, 8, 6 o 4, e un peso per la lunghezza di 1, 2, 3, 4, 5 o 6.

Le sequenze degli acidi nucleici e delle proteine qui descritti/e possono essere inoltre usate come "sequenze di interrogazione" per eseguire una ricerca in banche dati pubbliche, ad esempio per identificare sequenze correlate. Tali ricerche possono essere condotte usando i programmi NBLAST e XBLAST (versione 2.0) di Altschul et al., (1990) J. Mol. Biol. 215:403-10. Le ricerche BLAST a livello di nucleotidi possono essere condotte con il programma NBLAST, punteggio=100, lunghezza parola=12, allo scopo di ottenere sequenze di nucleotidi che sono omologhe alle molecole di acido nucleico qui descritte. Le ricerche sulle proteine di BLAST possono essere condotte con il programma XBLAST, punteggio=50, lunghezza parola=3, allo scopo di ottenere sequenze di amminoacidi che sono omologhe alle molecole proteiche qui descritte. Per ottenere allineamenti con lacune per scopi di confronto, è possibile adoperare Gapped BLAST come descritto in Altschul et al., (1997) Nucleic Acids Res. 25(17):3389-3402. Usando i programmi BLAST e Gapped BLAST, è possibile impiegare i parametri predefiniti dei rispettivi programmi (ad esempio XBLAST ed NBLAST). Vedere www.ncbi.nlm.nih.gov.

Gli acidi nucleici possono essere presenti in cellule intere, in un lisato cellulare, o in una forma parzialmente purificata o sostanzialmente pura. Un acido nucleico è "isolato" o "reso sostanzialmente puro" quando viene purificato da altri componenti cellulari o altri contaminanti, ad esempio altri acidi nucleici cellulari (ad esempio altre parti del cromosoma) o altre proteine cellulari, attraverso tecniche standard tra cui trattamento con agenti alcalini/SDS, separazione delle bande in CsCl, cromatografia in colonna, elettroforesi su gel di agarosio e altre tecniche ben note nel ramo. Vedere Current Protocols in Molecular Biology, redattore F. Ausubel, et al., Greene Publishing & Wiley Interscience, New York (1987).

Gli acidi nucleici, ad esempio i cDNA, possono essere mutati secondo tecniche standard per fornire sequenze geniche. Se le sequenze sono sequenze codificanti, queste mutazioni possono influenzare la sequenza di amminoacidi come desiderato. In particolare, qui sono contemplate sequenze di DNA che sono sostanzialmente omologhe a o che derivano da sequenze native di V, D, J, regione costante, regione di switch e altre di tali sequenze qui descritte (in cui "derivano" indica che è una sequenza è identica ad un'altra sequenza o modificata rispetto a tale altra sequenza).

Nel presente contesto, il termine "vettore" intende identificare una molecola di acido nucleico capace di trasportare un altro acido nucleico a cui essa è stata collegata. Un tipo di vettore è un "plasmide", che identifica un anello di DNA circolare a doppio filamento in cui è possibile ligare ulteriori segmenti di DNA. Un altro tipo di vettore è un vettore virale, in cui gli ulteriori segmenti di DNA possono essere ligati nel genoma virale. Certi vettori sono capaci di replicazione autonoma in una cellula ospite in cui vengono introdotti (ad esempio i vettori batterici aventi un'origine di replicazione batterica e i vettori episomali di mammifero). Altri vettori (ad esempio i vettori non episomali di mammifero) possono integrarsi nel genoma di una cellula ospite dopo essere stati introdotti nella cellula ospite, venendo dunque replicati insieme al genoma dell'ospite. Inoltre, certi vettori sono in grado di controllare l'espressione dei geni a cui sono operativamente collegati. Tali vettori sono qui identificati come "vettori di espressione ricombinanti" (o, semplicemente, "vettori di espressione"). In generale, i vettori di espressione che trovano utilità nelle tecniche di DNA ricombinante assumono spesso la forma di plasmidi. Nella presente divulgazione, i termini "plasmide" e "vettore" possono essere usati in modo intercambiabile, dato che il plasmide è la forma più comunemente usata di vettore.

Tuttavia, sono anche incluse altre forme di tali vettori di espressione, come vettori virali (ad esempio retrovirus difettivi per la replicazione, adenovirus e virus adeno-associati) che svolgono funzioni equivalenti.

Nel presente contesto, il termine "cellula ospite ricombinante" (o, semplicemente, "cellula ospite") intende identificare una cellula che comprende un acido nucleico non naturalmente presente nella cellule e, possibilmente, una cellula in cui è stato introdotto un vettore di espressione ricombinante. Resterà inteso che tali termini intendono identificare non solo la particolare cellula in questione, ma anche la progenie di tale cellula. Poiché le generazioni successive possono mostrare certe modifiche dovute a mutazioni o influssi ambientali, tale progenie può non essere effettivamente identica alla cellula genitrice ma rimarrà comunque inclusa nell'ambito del termine "cellula ospite" come usato nel presente contesto.

Nel presente contesto, il termine "antigene" identifica qualsiasi sostanza immunogenica naturale o sintetica, come una proteina, un peptide o un aptene. Un antigene può essere GITR o un suo frammento. Un antigene può essere un antigene tumorale contro cui si desidera sviluppare risposte immunitarie protettive o terapeutiche, ad esempio un antigene espresso da una cellula tumorale (ad esempio in un vaccino in combinazione con una anticorpo anti-GITR). Gli antigeni comprendono antigeni tumore-associati per la prevenzione o il trattamento di cancri. Esempi di antigeni tumore-associati comprendono, ma senza limitazioni, sequenze comprendenti la totalità o parte delle sequenze degli antigeni βhCG, gp100 o Pmel17, HER2/neu, WT1, mesotelina, CEA, gp100, MART1, TRP-2, melan-A, NY-ESO-1, NY-BR-1, NY-CO-58, MN (gp250), idiotipo, MAGE-1, MAGE-3, MAGE-A3, tirosinasi, telomerasi, SSX2 e MUC-1, e antigeni tumorali derivati da cellule germinali. Gli antigeni tumore-associati comprendono anche gli antigeni dei gruppi sanguigni, ad esempio gli antigeni Le^a, Le^b, LeX, LeY, H-2, B-1, B-2. In alternativa, un costrutto può comprendere più di un antigene. Un esempio può prevedere di combinare un antigene MAGE con altri antigeni, come melanina A, tirosinasi e gp100, insieme ad adiuvanti, come GM-CSF o IL-12, e di collegarlo ad un anticorpo anti-APC.

Le sequenze degli antigeni di sopra sono ben note nel ramo. Ad esempio, un esempio di sequenza di cDNA per MAGE-3 è fornito in US 6.235.525 (Ludwig Institute for Cancer Research); esempi di sequenze di acido nucleico e proteina per NY-ESO-1 sono forniti in US 5.804.381 e US 6.069.233 (Ludwig Institute for Cancer Research); esempi di sequenze di acido nucleico e proteina per Melan-A sono forniti in US 5.620.886 e US 5.854.203 (Ludwig Institute for

Cancer Research); esempi di sequenze di acido nucleico e proteina per NY-BR-1 sono forniti in US 6.774.226 e US 6.911.529 (Ludwig Institute for Cancer Research) ed esempi di sequenze di acido nucleico e proteina per NY-CO-58 sono forniti in WO 02090986 (Ludwig Institute for Cancer Research); Un esempio di sequenza di amminoacidi per la proteina HER-2/neu è disponibile al n° d'ingresso GENBANK® AAA58637; e una sequenza di nucleotidi (mRNA) per l'antigene carcinoembrionale-simile 1 (CEA-1) umano è disponibile al n° d'ingresso GENBANK® NM020219.

Una "risposta immunitaria" identifica una risposta biologica contro agenti estranei in un vertebrato, la quale risposta protegge l'organismo contro questi agenti e contro le malattie da essi causate. Una risposta immunitaria viene mediata dall'azione di una cellula del sistema immunitario (ad esempio un linfocita T, un linfocita B, una cellula natural killer (NK), un macrofago, un eosinofilo, una mastcellula, una cellula dendritica o un neutrofilo) e dall'azione di macromolecole solubili prodotte da una qualsiasi di queste cellule o dal fegato (anticorpi, citochine e complemento inclusi), e prende a bersaglio, lega, danneggia, distrugge e/o elimina selettivamente dal corpo del vertebrato i patogeni invasori, le cellule o i tessuti infettate/i dai patogeni, le cellule cancerose o altre cellule anormali o, nei casi di autoimmunità o infiammazione patologica, le cellule o i tessuti umane/i normali. Una reazione immunitaria comprende, ad esempio, l'attivazione o l'inibizione di una cellula T, ad esempio una cellula T effettrice o una cellula Th, come una cellula T CD4+ o CD8+, o l'inibizione di una cellula Treg.

Un "immunomodulatore", o "immunoregolatore", identifica un agente, ad esempio un componente di una via di segnalazione, che può essere coinvolto nella modulazione, regolazione o modifica di una risposta immunitaria. "Modulare", "regolare" o "modificare" una risposta immunitaria significa alterare in qualsiasi modo una cellula del sistema immunitario o l'attività di tale cellula (ad esempio una cellula T effettrice). Tale modulazione comprende una stimolazione o una soppressione del sistema immunitario che può manifestarsi come un aumento o una diminuzione del numero di vari tipi di cellule, un aumento o una diminuzione dell'attività di queste cellule, o qualsiasi altro cambiamento che può avere luogo all'interno del sistema immunitario. Sono stati identificati immunomodulatori sia stimolatori che inibitori, alcuni dei quali possono avere una funzione potenziata nel microambiente di un tumore. In forme esecutive preferite, l'immunomodulatore si trova sulla superficie di una cellula T. Un "bersaglio immunomodulatore" o "bersaglio immunoregolatore" è un immunomodulatore che viene preso a bersaglio per il legame

da parte di, e la cui attività viene alterata dal legame di, una sostanza, un agente, una porzione, un composto o una molecola. I bersagli immunomodulatori comprendono, ad esempio, recettori sulla superficie di una cellula ("recettori immunomodulatori") e ligandi per recettori ("ligandi immunomodulatori").

Una "immunoterapia" identifica il trattamento di un soggetto afflitto da una malattia, o a rischio di contrarre la malattia o di incorrere in una recidiva della malattia, attraverso un metodo che prevede di indurre, potenziare, sopprimere o comunque modificare una risposta immunitaria.

I termini "terapia immunostimolante" e "terapia immunostimolatoria" identificano una terapia che aumenta (induce o potenzia) una risposta immunitaria in un soggetto, ad esempio nel trattamento di un cancro.

"Potenziare una risposta immunitaria endogena" significa aumentare l'efficacia o la potenza di una risposta immunitaria esistente in un soggetto. Questo aumento di efficacia e potenza può essere ottenuto, ad esempio, superando i meccanismi che sopprimono la risposta immunitaria endogena dell'ospite o stimolando meccanismi che potenziano la risposta immunitaria endogena dell'ospite.

Le cellule "T effettrici" ("T_{eff}") identificano cellule T (ad esempio cellule T CD4+ e CD8+) con attività citolitiche, e identificano anche cellule T helper (Th) che secernono citochine e attivano e orchestrano altre cellule immunitarie, ma non comprendono le cellule T regolatorie (cellule Treg). Gli anticorpi anti-GITR qui descritti attivano le cellule T_{eff}, ad esempio le cellule T_{eff} CD4+ e CD8+.

Una capacità aumentata di stimolare una risposta immunitaria o il sistema immunitario può essere il risultato di un'attività da agonista potenziata dei recettori co-stimolatori delle cellule T e/o di un'attività da antagonista potenziata dei recettori inibitori. Una capacità aumentata di stimolare una risposta immunitaria o il sistema immunitario può essere riflessa da un aumento relativo della EC_{50} o del livello massimale di attività in un saggio che misura una risposta immunitaria, ad esempio un saggio che misura i cambiamenti nel rilascio delle citochine o chemochine, nell'attività citolitica (determinata direttamente sulle cellule bersaglio o indirettamente, attraverso il rilevamento di CD107a o granzimi) e nella proliferazione. La capacità di stimolare una risposta immunitaria o l'attività del sistema immunitario può essere potenziata di almeno 10%, 30%, 50%, 75%, 2 volte, 3 volte, 5 volte o più.

In certe forme esecutive, un anticorpo comprendente una regione costante di catena pesante modificata ha un'attività da agonista che è più potente rispetto a quella dello stesso anticorpo che non comprende una regione costante di catena pesante modificata. L'attività da agonista potenziata di un anticorpo può essere ad esempio misurata come mostrato negli Esempi, ad esempio misurando il livello di secrezione di IFN-γ o IL-2 da cellule T che vengono messe in contatto con l'anticorpo. L'attività da agonista può essere potenziata di almeno 10%, 30%, 50%, 75%, 2 volte, 3 volte, 5 volte o più, il potenziamento essendo definito da un rilascio aumentato di citochine o da una proliferazione aumentata delle cellule T effettrici; da un'attività ridotta delle cellule T regolatorie se l'impegno delle Treg riduce la funzione delle Treg; o da una deplezione aumentata delle Treg. Ad esempio, la quantità di IFN-γ o IL-2 che viene secreta da cellule T stimolate con un anticorpo comprendente una regione costante di catena pesante modificata può essere almeno 10%, 30%, 50%, 75%, 2 volte, 3 volte, 5 volte o più maggiore rispetto a quella secreta da cellule T stimolate con lo stesso anticorpo che non comprende una regione costante di catena pesante modificata.

Nel presente contesto, il termine "collegato" identifica l'associazione di due o più molecole. Il collegamento può essere covalente o non covalente. Il collegamento può anche essere genetico (nel senso che le due molecole sono fuse in modo ricombinante). Tali collegamenti possono essere ottenuti usando un'ampia varietà di tecniche riconosciute nel ramo, ad esempio la coniugazione chimica e la produzione ricombinante di proteine.

Nel presente contesto, "somministrare" significa introdurre fisicamente una composizione comprendente un agente terapeutico in un soggetto usando uno qualsiasi dei vari metodi e sistemi di distribuzione che sono noti agli esperti nel ramo. Le vie di somministrazione preferite per gli anticorpi qui descritti comprendono quella endovenosa, quella intraperitoneale, quella intramuscolare, quella sottocutanea, quella spinale o altre vie di somministrazione parenterale, ad esempio per iniezione o infusione. Nel presente contesto, l'espressione "somministrazione parenterale" identifica modalità di somministrazione diverse dalla somministrazione enterale o topica, normalmente per iniezione, e comprende, senza limitazioni, iniezioni e infusioni endovenose, intraperitoneali, intramuscolari, intrarteriali, intratecali, intralinfatiche, intralesionali, intracapsulari, intraorbitali, intracardiache, intradermiche, transtracheali, sottocutanee, subcuticulari, intrarticolari, subcapsulari, subaracnoidali, intraspinali, epidurali e intrasternali, ma anche l'elettroporazione in vivo. In alternativa, un anticorpo qui descritto può essere somministrato attraverso una via non

parenterale, come attraverso una via di somministrazione topica, epidermica o mucosale, ad esempio intranasale, orale, vaginale, rettale, sublinguale o topica. Inoltre, a titolo esemplificativo, la somministrazione può anche condotta una volta, una pluralità di volte e/o durante uno o più periodi di tempo prolungati.

Nel presente contesto, il termine "risposta cellulo T-mediata" identifica una risposta che viene mediata dalle cellule T, tra cui le cellule T effettrici (ad esempio le cellule $CD8^+$) e le cellule T helper (ad esempio le cellule $CD4^+$). Le risposte cellulo T-mediate comprendono, ad esempio, la citotossicità e la proliferazione delle cellule T.

Nel presente contesto, il termine "risposta dei linfociti T citotossici (CTL)" identifica una risposta immunitaria indotta dalle cellule T citotossiche. Le risposte CTL vengono principalmente mediate dalle cellule T $CD8^+$.

Nel presente contesto, le espressioni "inibisce" o "blocca" (ad esempio riferite all'inibizione/blocco del legame di GITR-L a GITR su cellule) vengono usate come sinonimi e comprendono un'inibizione/un blocco sia parziale che completa/o. In alcune forme esecutive, l'anticorpo anti-GITR inibisce il legame di GITR-L a GITR di almeno circa 50%, ad esempio di circa 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 99% o 100%, tale inibizione essendo ad esempio determinata come qui descritto ulteriormente. In alcune forme esecutive, l'anticorpo anti-GITR inibisce il legame di GITR-L a GITR di non più di 50%, ad esempi di circa 40%, 30%, 20%, 10%, 5% o 1%, tale inibizione essendo ad esempio determinata come qui descritto ulteriormente.

Nel presente contesto, l'espressione "inibisce la crescita" di un tumore comprende qualsiasi diminuzione misurabile della crescita di un tumore, ad esempio un'inibizione della crescita di un tumore di almeno circa 10%, ad esempio di almeno circa 20%, almeno circa 30%, almeno circa 40%, almeno circa 50%, almeno circa 60%, almeno circa 70%, almeno circa 80%, almeno circa 90%, almeno circa 99%, o di 100%.

Nel presente contesto, il termine "cancro" identifica un vasto gruppo di malattie che sono caratterizzate dalla crescita incontrollata di cellule anormali nel corpo. La divisione incontrollata delle cellule può causare la formazione di tumori maligni o cellule maligne che invadono i tessuti vicini e che, attraverso il sistema linfatico o la circolazione sanguigna, possono metastatizzare in siti distanti del corpo.

Le espressioni "trattare", "trattando" e "trattamento" identificano qualsiasi tipo di intervento o processo condotto sul soggetto, o la somministrazione di un agente attivo al soggetto, che ha lo scopo di invertire, alleviare,

migliorare, inibire, rallentare o prevenire la progressione, lo sviluppo, la severità o la recidiva di un sintomo, una complicanza, una condizione o un parametro biochimico che è associato ad una malattia. Il trattamento può essere applicato ad un soggetto affetto da una malattia o ad un soggetto non affetto da una malattia (ad esempio per scopi di profilassi).

Una "neoplasia maligna ematologica" comprende non solo un linfoma, una leucemia, un mieloma o una malignità linfoide, ma anche un cancro della milza e dei linfonodi. I linfomi esemplificativi comprendono sia linfomi a cellule B (cancri ematologici a cellule B) che linfomi a cellule T. I linfomi a cellule B comprendono sia i linfomi di Hodgkin che la maggior parte dei linfomi non-Hodgkin. Esempi non limitativi di linfomi a cellule B comprendono linfoma diffuso a grandi cellule B, linfoma follicolare, linfoma del tessuto linfatico mucosa-associato, linfoma linfocitico a piccole cellule (che si sovrappone alla leucemia linfocitica cronica), linfoma a cellule mantellari (MCL), linfoma di Burkitt, linfoma del mediastino a grandi cellule B, macroglobulinemia di Waldenström, linfoma a cellule B della zona marginale nodale, linfoma splenico della zona marginale, linfoma intravascolare a grandi cellule B, linfoma primitivo effusivo e granulomatosi linfomatoide. Esempi non limitativi di linfomi a cellule T comprendono linfoma extranodale a cellule T, linfoma cutaneo a cellule T, linfoma anaplastico a grandi cellule e linfoma angioimmunoblastico a cellule T. Le neoplasie maligne ematologiche comprendono anche leucemie come, ma senza limitazioni, leucemia secondaria, leucemia linfocitica cronica e leucemia mielogena acuta, leucemia mielogena cronica e leucemia linfoblastica acuta. Le neoplasie maligne ematologiche comprendono inoltre mielomi come, ma senza limitazioni, mieloma multiplo e mieloma multiplo asintomatico. Il termine neoplasia maligna ematologica abbraccia altri cancri ematologici e/o cancri associati alle cellule B o alle cellule T.

Il termine "dose efficace", o "dosaggio efficace", è definito come una quantità sufficiente per raggiungere, o raggiungere almeno parzialmente, un effetto desiderato. Una "quantità terapeuticamente efficace" o un "dosaggio terapeuticamente efficace" di un farmaco o di un agente terapeutico è qualsiasi quantità del farmaco che, quando il farmaco viene usato da solo o in combinazione con un altro agente terapeutico, promuove la regressione di una malattia, come testimoniato da una diminuzione della severità dei sintomi della malattia, un aumento dei periodi senza sintomi della malattia in termini di frequenza e durata, o la prevenzione di una menomazione o disabilità causata dall'afflizione

patologica. Una quantità o un dosaggio terapeuticamente efficace di un farmaco comprende una "quantità profilatticamente efficace" o un "dosaggio profilatticamente efficace", che è qualsiasi quantità del farmaco che, quando il farmaco viene somministrato da solo o in combinazione con un altro agente terapeutico ad un soggetto a rischio di sviluppare una malattia o incorrere in una recidiva della malattia, inibisce lo sviluppo o la recidiva della malattia. La capacità di un agente terapeutico di promuovere la regressione di una malattia o inibire lo sviluppo o la recidiva della malattia può essere valutata usando una varietà di metodi noti al professionista esperto, ad esempio in soggetti umani durante studi clinici, in sistemi animali modello che sono predittivi dell'efficacia negli esseri umani, o saggiando l'attività dell'agente in saggi in vitro.

A titolo d'esempio, un agente anti-cancro è un farmaco che promuove la regressione di un cancro in un soggetto. In forme esecutive preferite, una quantità terapeuticamente efficace del farmaco promuove la regressione di un cancro fino al punto di eliminare il cancro. L'espressione "promuovere la regressione di un cancro" significa che la somministrazione di una quantità efficace del farmaco, da solo o in combinazione con un agente anti-neoplastico, riduce la crescita o la dimensione del tumore, necrotizza il tumore, diminuisce la severità di almeno un sintomo della malattia, aumenta la frequenza e la durata dei periodi senza sintomi della malattia, previene una menomazione o disabilità causata dall'afflizione patologica, o comunque migliora i sintomi della malattia nel paziente. Inoltre, quando riferiti ad un trattamento, i termini "efficace" ed "efficacia" comprendono sia l'efficacia farmacologica che la sicurezza fisiologica. L'efficacia farmacologica identifica la capacità del farmaco di promuovere la regressione di un cancro nel paziente. La sicurezza fisiologica identifica il livello di tossicità, o altri effetti fisiologici avversi a livello di cellule, organi e/od organismo (effetti avversi), che possono essere addebitati alla somministrazione del farmaco.

A titolo d'esempio, nel trattamento dei tumori, una quantità o un dosaggio terapeuticamente efficace del farmaco inibisce la crescita cellulare o la crescita tumorale preferibilmente di almeno 20%, più preferibilmente di almeno 40%, ancora più preferibilmente di almeno 60%, e più preferibilmente ancora di almeno 80% rispetto a soggetti non trattati. Nelle forme esecutive più preferite, una quantità o un dosaggio terapeuticamente efficace del farmaco inibisce completamente la crescita cellulare o la crescita tumorale, nel senso che inibisce la crescita cellulare o la crescita tumorale preferibilmente del 100%. La capacità di un composto di inibire la crescita di un tumore può essere

valutata usando i saggi descritti infra. In alternativa, questa proprietà di una composizione può essere valutata esaminando la capacità del composto di inibire la crescita delle cellule, tale inibizione potendo essere misurata in vitro attraverso saggi noti al professionista esperto. In altre forme esecutive preferite qui descritte, la regressione di un tumore può essere osservata e può proseguire per un periodo di almeno circa 20 giorni, più preferibilmente di almeno circa 40 giorni, o ancora più preferibilmente di almeno circa 60 giorni.

Il termine "paziente" comprende soggetti umani e altri soggetti mammiferi che ricevono un trattamento profilattico o terapeutico.

Nel presente contesto, il termine "soggetto" comprende qualsiasi animale umano o non umano. Ad esempio, i metodi e le composizioni qui descritti/e possono essere usati/e per trattare un soggetto avente un cancro. L'espressione "animale non umano" comprende tutti i vertebrati, ad esempio mammiferi e non mammiferi come primati non umani, pecore, cani, vacche, polli, anfibi, rettili, ecc.

Nel presente contesto, i termini "ug" e "uM" vengono usati come sinonimi di "µg" e "µM".

Le seguenti sottosezioni descrivono in ulteriore dettaglio vari aspetti qui descritti.

I. Anticorpi anti-GITR

Qui vengono descritti anticorpi, ad esempio anticorpi completamente umani, che sono caratterizzati da particolari caratteristiche o proprietà funzionali. Ad esempio, gli anticorpi si legano specificatamente al GITR umano. Inoltre, gli anticorpi possono cross-reagire con i GITR di uno o più primati non umani, come il GITR di cynomolgus.

Oltre a legarsi specificatamente al GITR umano solubile e/o legato a membrana, gli anticorpi qui descritti mostrano una o più delle seguenti proprietà funzionali:

(a) si legano al GITR di cynomolgus;

(b) stimolano o potenziano una risposta immunitaria;

(c) attivano le cellule T (come ad esempio testimoniato da una secrezione potenziata di citochine e/o da una proliferazione potenziata);

(d) inibiscono il legame di GITRL a GITR su cellule 3A9-hGITR;

(e) inibiscono al massimo parzialmente il legame di un ligando per GITR a GITR su cellule T attivate;

(f) si legano ad un epitopo conformazionale nella porzione N-terminale del GITR umano;

(g) si legano al GITR umano sia glicosilato che non glicosilato; e

(h) mostrano un'attività da agonista senza legarsi ad un recettore per Fc, ma in cui il legame ad un recettore per Fc potenzia ulteriormente l'attività da agonista.

Preferibilmente, gli anticorpi anti-GITR si legano a GITR con un'alta affinità, ad esempio con una K_D di 10^{-7} M o meno, di 10^{-8} M o meno, di 10^{-9} M o meno, di 10^{-10} M o meno, di 10^{-11} M o meno, di 10^{-12} M o meno, da 10^{-12} M a 10^{-7} M, da 10^{-11} M a 10^{-7} M, da 10^{-10} M a 10^{-7} M o da 10^{-9} M a 10^{-7} M. In certe forme esecutive, un anticorpo anti-GITR si lega ad un GITR umano solubile, ad esempio come determinato in Biacore, con una K_D di 10^{-7} M o meno, di 10^{-8} M o meno, di 10^{-9} M (1 nM) o meno, di 10^{-10} M o meno, da 10^{-12} M a 10^{-7} M, da 10^{-11} M a 10^{-7} M, da 10^{-10} M a 10^{-7} M, da 10^{-9} M a 10^{-7} M o da 10^{-8} M a 10^{-7} M. In certe forme esecutive, un anticorpo anti-GITR si lega ad un GITR umano legato (ad esempio legato alla membrana di una cellula), come su cellule T umane attivate, ad esempio come determinato via flussocitometria e grafico di Scatchard, con una K_D di 10^{-7} M o meno, di 10^{-8} M o meno, di 10^{-9} M (1 nM) o meno, di 10^{-10} M o meno, da 10^{-12} M a 10^{-7} M, da 10^{-11} M a 10^{-8} M, da 10^{-10} M a 10^{-8} M, da 10^{-9} M a 10^{-8} M, da 10^{-11} M a 10^{-9} M o da 10^{-10} M a 10^{-9} M. In certe forme esecutive, un anticorpo anti-GITR si lega ad un GITR umano legato (ad esempio legato alla membrana di una cellula), come su cellule T umane attivate, ad esempio come determinato via FACS, con una EC_{50} di 10^{-7} M o meno, di 10^{-8} M o meno, di 10^{-9} M (1 nM) o meno, di 10^{-10} M o meno, da 10^{-12} M a 10^{-7} M, da 10^{-11} M a 10^{-8} M, da 10^{-10} M a 10^{-8} M, da 10^{-9} M a 10^{-8} M, da 10^{-11} M a 10^{-9} M o da 10^{-10} M a 10^{-9} M. In certe forme esecutive, un anticorpo anti-GITR si lega ad un GITR umano solubile con una K_D di 10^{-7} M o meno, di 10^{-8} M o meno, di 10^{-9} M (1 nM) o meno, di 10^{-10} M o meno, da 10^{-12} M a 10^{-7} M, da 10^{-11} M a 10- 7 M, da 10^{-10} M a 10^{-7} M, da 10^{-9} M a 10^{-7} M o da 10^{-8} M a 10^{-7} M, e si lega ad un GITR umano legato a membrana con una K_D o EC_{50} di 10^{-7} M o meno, di 10^{-8} M o meno, di 10^{-9} M (1 nM) o meno, di 10^{-10} M o meno, da 10^{-12} M a 10^{-7} M, da 10^{-11} M a 10^{-8} M, da 10^{-10} M a 10^{-8} M, da 10^{-9} M a 10^{-8} M, da 10^{-11} M a 10^{-9} M o da 10^{-10} M a 10^{-9} M.

Gli anticorpi anti-GITR possono legarsi ad un GITR di cynomolgus, ad esempio si legano ad un GITR di cynomolgus legato a membrana, ad esempio con una EC_{50} di 100 nM o meno, di 10 nM o meno, da 100 nM a 0,01 nM,

da 100 nM a 0,1 nM, da 100 nM a 1 nM o da 10 nM a 1 nM, ad esempio come misurata via FACS (ad esempio come descritto negli Esempi).

Gli anticorpi anti-GITR possono stimolare o potenziare una risposta immunitaria, ad esempio attivando le cellule T_{eff}, limitando la soppressione delle cellule T effettrici da parte delle cellule Treg, depletando e/o inibendo le cellule Treg in un tumore, e/o attivando le cellule NK, ad esempio in un tumore. Ad esempio, gli anticorpi anti-GITR possono attivare o co-stimolare le cellule T_{eff}, ad esempio come testimoniato da una secrezione potenziata di citochine (ad esempio IL-2 e IFN-γ) e/o da una proliferazione potenziata. In certe forme esecutive, viene anche fornita una stimolazione di CD3. In certe forme esecutive, un anticorpo anti-GITR aumenta la secrezione di IL-2 di un fattore di 50%, 100% (ovvero 2 volte), 3 volte, 4 volte, 5 volte o più, opzionalmente fino ad un massimo di 10 volte, 30 volte o 100 volte, ad esempio come misurato su cellule T umane primarie o su cellule T che esprimono il GITR umano (ad esempio come ulteriormente descritto negli Esempi). In certe forme esecutive, un anticorpo anti-GITR aumenta la secrezione di IFN-γ di un fattore di 50%, 100% (ovvero 2 volte), 3 volte, 4 volte, 5 volte o più, opzionalmente fino ad un massimo di 10 volte, 30 volte o 100 volte, ad esempio come misurato su cellule T umane primarie o su cellule T che esprimono il GITR umano (ad esempio come ulteriormente descritto negli Esempi).

Gli anticorpi anti-GITR possono inibire il legame del GITRL umano al GITR umano su cellule, ad esempio su cellule 3A9 che esprimono il GITR umano, ad esempio con una EC_{50} di 10 μg/ml o meno, di 1 μg/ml o meno, da 0,01 μg/ml a 10 μg/ml, da 0,1 μg/ml a 10 μg/ml o da 0,1 μg/ml a 1 μg/ml (vedere l'Esempio 5).

In certe forme esecutive, gli anticorpi anti-GITR inibiscono al massimo solo parzialmente il legame del GITRL umano al GITR umano su cellule, ad esempio su cellule T attivate (vedere l'Esempio 5).

Gli anticorpi anti-GITR possono legarsi ad un epitopo, ad esempio ad un epitopo conformazionale nella porzione N-terminale del GITR umano, ad esempio ad un epitopo situato all'interno degli amminoacidi da 1 a 39 del GITR umano maturo (vedere l'Esempio 9), ad esempio come determinato in base al legame degli anticorpi a frammenti del GITR umano, ad esempio a frammenti nativi (ovvero non denaturati) del GITR umano. Gli anticorpi anti-GITR possono legarsi a, o possono legarsi ad un epitopo situato all'interno di, gli amminoacidi da 1 a 20 del GITR umano maturo, ad esempio come determinato via taglio enzimatico o HDX (vedere rispettivamente gli Esempi 11 e 12) dopo il

legame degli anticorpi a frammenti del GITR umano, ad esempio a frammenti nativi (ovvero non denaturati) del GITR umano. Gli anticorpi anti-GITR possono legarsi a, o possono legarsi ad un epitopo situato all'interno di, gli amminoacidi da 3 a 20 del GITR umano maturo (PTGGPGCGPGRLLLGTGT, SEQ ID NO:217). Gli anticorpi anti-GITR possono legarsi a, o possono legarsi ad un epitopo situato all'interno di, gli amminoacidi da 3 a 20 e gli amminoacidi da 33 a 40 del GITR umano maturo, ovvero le sequenze di amminoacidi PTGGPGCGPGRLLLGTGT (SEQ ID NO:217) e CRDYPGEE (SEQ ID NO:218). In certe forme esecutive, gli anticorpi anti-GITR si legano ad un GITR umano sia glicosilato che non glicosilato. In certe forme esecutive, gli anticorpi anti-GITR si legano alle sequenze di amminoacidi PTGGPGCGPGRLLLGTGT (SEQ ID NO:217) e CRDYPGEE (SEQ ID NO:218) come determinato via HDX, ad esempio usando il protocollo esposto negli Esempi.

Gli anticorpi anti-GITR possono competere per il legame a GITR con (o inibire il legame di) anticorpi anti-GITR che comprendono le CDR o le regioni variabili qui descritte, ad esempio 28F3, 3C3-1, 3C3-2, 2G6, 8A6, 9G7-1, 9G7-2, 14E3, 19H8-1, 19H8-2, 19D3, 18E10 e/o 6G10. Gli anticorpi anti-GITR qui divulgati possono inibire il legame di 28F3, 3C3, 2G6, 8A6, 9G7, 14E3, 19H8, 19D3, 18E10 e/o 6G10 al GITR umano di almeno 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% o di 100%. 28F3, 3C3-1, 3C3-2, 2G6, 8A6, 9G7-1, 9G7-2, 14E3, 19H8-1, 19H8-2, 19D3, 18E10 e/o 6G10 possono inibire il legame degli anticorpi anti-GITR al GITR umano di almeno 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% o di 100%. Gli anticorpi anti-GITR qui divulgati possono inibire il legame di 28F3, 3C3-1, 3C3-2, 2G6, 8A6, 9G7-1, 9G7-2, 14E3, 19H8-1, 19H8-2, 19D3, 18E10 e/o 6G10 al GITR umano di almeno 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% o di 100%, e 28F3, 3C3-1, 3C3-2, 2G6, 8A6, 9G7-1, 9G7-2, 14E3, 19H8-1, 19H8-2, 19D3, 18E10 e/o 6G10 inibiscono il legame degli anticorpi anti-GITR al GITR umano di almeno 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% o di 100% (ad esempio competono in entrambe le direzioni).

In certe forme esecutive, gli anticorpi anti-GITR inducono o potenziano l'attivazione delle cellule T senza richiedere una reticolazione multivalente, ad esempio come determinato dalla non necessità di legarsi ad un FcR. In certe forme esecutive, gli anticorpi anti-GITR sono multivalenti, ad esempio bivalenti. In certe forme esecutive, gli anticorpi anti-GITR non sono monovalenti. Qui è stato mostrato che i frammenti F(ab)2 sono più efficaci dei frammenti Fab in termini di attivazione delle cellule T (vedere gli Esempi).

In certe forme esecutive, l'attività da agonista degli anticorpi anti-GITR non richiede una reticolazione mediata da recettori per Fc, ma la reticolazione a recettori per Fc potenzia la loro attività da agonista rispetto allo stesso anticorpo che non si lega a recettori per Fc.

Gli anticorpi anti-GITR qui divulgati possono avere 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 12 delle seguenti caratteristiche:

(1) la capacità di legarsi al GITR umano solubile, ad esempio con una K_D di 10 nM o meno (ad esempio da 0,01 nM a 10 nM), ad esempio come misurata via Biacore;

(2) la capacità di legarsi al GITR umano legato a membrana, ad esempio con una K_D di 1 nM o meno (ad esempio da 0,01 nM a 1 nM), ad esempio come misurata via Scatchard;

(3) la capacità di legarsi al GITR umano legato a membrana, ad esempio con una EC_{50} di 1 nM o meno (ad esempio da 0,01 nM a 1 nM), ad esempio come misurata via FACS;

(4) la capacità di legarsi al GITR di cynomolgus, ad esempio la capacità di legarsi al GITR di cynomolgus legato a membrana, ad esempio con una EC_{50} di 10 nM o meno (ad esempio da 0,01 nM a 10 nM), ad esempio come misurata via FACS;

(5) la capacità di indurre o potenziare l'attivazione delle cellule T, come in presenza di un CD3 impegnato (ad esempio in presenza di concentrazioni subottimali di un anti-CD3), come testimoniata da (i) una produzione aumentata di IL-2 e/o IFN-γ in cellule T che esprimono GITR, e/o (ii) una proliferazione potenziata delle cellule T;

(6) la capacità di indurre o potenziare l'attivazione delle cellule T senza richiedere una reticolazione multivalente;

(7) la capacità di mostrare un'attività da agonista senza legarsi ad un recettore per Fc, ma in cui il legame ad un recettore per Fc potenzia ulteriormente l'attività da agonista;

(8) la capacità di inibire il legame di un ligando per GITR a GITR, ad esempio con una EC_{50} di 1 μg/mL o meno come misurata via FACS, ad esempio in un saggio con cellule 3A9-hGITR;

(9) la capacità di inibire al massimo parzialmente il legame di un ligando per GITR a GITR su cellule T attivate;

(10) la capacità di legarsi ad un epitopo conformazionale sul GITR umano maturo (SEQ ID NO:4), ad esempio ad un epitopo discontinuo all'interno delle sequenze di amminoacidi PTGGPGCGPGRLLLGTGT (SEQ ID NO:217) e CRDYPGEE (SEQ ID NO:218);

(11) la capacità di legarsi sia ad un GITR umano non glicosilato che ad un GITR umano glicosilato con glicosilazione O-collegata o N-collegata; e

(12) la capacità di competere per il legame al GITR umano, in una delle due direzioni o in entrambe le direzioni, con 28F3, 3C3-1, 3C3-2, 2G6, 8A6, 9G7-1, 9G7-2, 14E3, 19H8-1, 19H8-2, 19D3, 18E10 e/o 6G10.

Gli anticorpi anti-GITR possono anche indurre l'internalizzazione di GITR nelle cellule T attivate, ad esempio nelle cellule T CD4+ e CD8+, ad esempio entro 10, 30 o 60 minuti, e la successiva trasduzione del segnale, ad esempio attivazione (ovvero fosforilazione), del complesso NF-kB p65 e della MAP chinasi p38.

Di conseguenza, resterà inteso che un anticorpo che mostra una o più di queste proprietà funzionali (ad esempio biochimiche, immunochimiche, cellulari, fisiologiche, altre attività biologiche o simili), come determinato secondo metodologie note nel ramo e qui descritte, è un anticorpo la cui presenza è associata ad una differenza statisticamente significativa nella particolare attività rispetto a quella osservata in assenza dell'anticorpo (o, ad esempio, in presenza di un anticorpo di controllo di specificità irrilevante). Preferibilmente, gli aumenti indotti da un anticorpo anti-GITR in un parametro misurato (ad esempio proliferazione delle cellule T, produzione di citochine) indicano un aumento statisticamente significativo di almeno 10% del parametro misurato, più preferibilmente di almeno 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 100% (ovvero 2 volte), 3 volte, 5 volte o 10 volte e, in certe forme esecutive preferite, un anticorpo qui descritto può aumentare il parametro misurato di più di 92%, 94%, 95%, 97%, 98%, 99%, 100% (ovvero 2 volte), 3 volte, 5 volte o 10 volte. Al contrario, le diminuzioni indotte da un anticorpo anti-GITR in un parametro misurato (ad esempio volume di un tumore, legame di GITR-L a GITR, quantità di cellule T regolatorie in tumori) indicano una diminuzione statisticamente significativa di almeno 10% del parametro misurato, più preferibilmente di almeno 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% o 90% e, in certe forme esecutive preferite, un anticorpo qui descritto può diminuire il parametro misurato di più di 92%, 94%, 95%, 97%, 98% o 99%.

Nel ramo sono noti saggi standard per valutare la capacità di legame degli anticorpi diretti contro i GITR di varie specie, tra cui ad esempio ELISA, Western blot e RIA. Gli Esempi descrivono i saggi adatti nel dettaglio. Anche la cinetica di legame (ad esempio l'affinità di legame) degli anticorpi può essere valutata attraverso saggi standard noti nel ramo, ad esempio mediante analisi su Biacore. I saggi per valutare gli effetti degli anticorpi sulla proprietà funzionali di GITR (ad esempio il legame al ligando, la proliferazione delle cellule T, la produzione di citochine) sono descritti in ulteriore dettaglio infra e negli Esempi.

In certe forme esecutive, gli anticorpi anti-GITR non sono anticorpi nativi o non sono anticorpi esistenti in natura. Ad esempio, gli anticorpi anti-GITR hanno modifiche post-traduzionali che sono differenti da quelle presenti negli anticorpi esistenti in natura, ad esempio hanno più modifiche post-traduzionali, meno modifiche post-traduzionali o un tipo differente di modifiche post-traduzionali.

II. Anticorpi anti-GITR esemplificativi

Certi anticorpi particolari qui descritti sono anticorpi, ad esempio anticorpi monoclonali, che hanno le sequenze di CDR e/o di regione variabile degli anticorpi 28F3, 19D3, 18E10, 3C3, 2G6, 8A6, 9G7, 14E3, 19H8 e 6G10 isolati e strutturalmente caratterizzati come descritto nell'Esempio 1, e sono anche anticorpi aventi un'identità di almeno 80% (ad esempio un'identità di almeno 85%, almeno 90%, almeno 95% o almeno 99%) con le sequenze di regione variabile e CDR di tali anticorpi. L'anticorpo monoclonale isolato dell'invenzione comprende le sequenze di CDR1, CDR2 e CDR3 di catena pesante e catena leggera dell'anticorpo 28F3. Le sequenze di amminoacidi di V_H di 28F3, 19D3, 18E10, 3C3 (3C3-1 e 3C3-2), 2G6, 8A6, 9G7 (9G7-1 e 9G7-2), 14E3, 19H8 (19H8-1 e 19H8-2) e 6G10 sono rispettivamente riportate in SEQ ID NO:13, 26, 39, 52, 71, 84, 97, 115, 128 e 335. Le sequenze di amminoacidi di V_L di 28F3, 19D3, 18E10, 3C3-1, 3C3-2, 2G6, 8A6, 9G7-1, 9G7-2, 14E3, 19H8-1, 19H8-2 e 6G10 sono rispettivamente mostrate in SEQ ID NO:14, 27, 40, 53, 54, 72, 85, 98, 99, 116, 129, 130 e 336.

Di conseguenza, qui vengono forniti anticorpi isolati, o loro porzioni leganti l'antigene, che comprendono regioni variabili di catena pesante e catena leggera, in cui la regione variabile di catena pesante comprende una sequenza di amminoacidi selezionata dal gruppo costituito da SEQ ID NO:13, 26, 39, 52, 71, 84, 97, 115, 128 e 335.

Vengono anche forniti anticorpi isolati, o loro porzioni leganti l'antigene, che comprendono regioni variabili di catena pesante e catena leggera, in cui la regione variabile di catena leggera comprende una sequenza di amminoacidi selezionata dal gruppo costituito da SEQ ID NO:14, 27, 40, 53, 54, 72, 85, 98, 99, 116, 129, 130 e 336.

Qui vengono forniti anticorpi isolati, o loro porzioni leganti l'antigene, che comprendono:

(a) sequenze di regione variabile di catena leggera e di catena pesante rispettivamente comprendenti SEQ ID NO:13 e 14;

(b) sequenze di regione variabile di catena leggera e di catena pesante rispettivamente comprendenti SEQ ID NO:26 e 27;

(c) sequenze di regione variabile di catena leggera e di catena pesante rispettivamente comprendenti SEQ ID NO:39 e 40;

(d) sequenze di regione variabile di catena leggera e di catena pesante rispettivamente comprendenti SEQ ID NO:52 e 53;

(e) sequenze di regione variabile di catena leggera e di catena pesante rispettivamente comprendenti SEQ ID NO:52 e 54;

(f) sequenze di regione variabile di catena leggera e di catena pesante rispettivamente comprendenti SEQ ID NO:71 e 72;

(g) sequenze di regione variabile di catena leggera e di catena pesante rispettivamente comprendenti SEQ ID NO:84 e 85;

(h) sequenze di regione variabile di catena leggera e di catena pesante rispettivamente comprendenti SEQ ID NO:97 e 98;

(i) sequenze di regione variabile di catena leggera e di catena pesante rispettivamente comprendenti SEQ ID NO:97 e 99;

(j) sequenze di regione variabile di catena leggera e di catena pesante rispettivamente comprendenti SEQ ID NO:115 e 116;

(k) sequenze di regione variabile di catena leggera e di catena pesante rispettivamente comprendenti SEQ ID NO:128 e 129;

(l) sequenze di regione variabile di catena leggera e di catena pesante rispettivamente comprendenti SEQ ID NO:128 e 130; o

(m) sequenze di regione variabile di catena leggera e di catena pesante rispettivamente comprendenti SEQ ID NO:335 e 336.

Gli anticorpi anti-GITR possono comprendere le CDR1, CDR2 e CDR3 di catena pesante e di catena leggera di 28F3, 19D3, 18E10, 3C3-1, 3C3-2, 2G6, 8A6, 9G7-1, 9G7-2, 14E3, 19H8-1, 19H8-2 e 6G10, o loro combinazioni. Le sequenze di amminoacidi delle CDR1 di V_H di 28F3, 19D3, 18E10, 3C3 (3C3-1 e 3C3-2), 2G6, 8A6, 9G7 (9G7-1 e 9G7-2), 14E3, 19H8 (19H8-1 e 19H8-2) e 6G10 sono rispettivamente riportate in SEQ ID NO:20, 33, 46, 62, 78, 91, 106, 122, 138 e 342. Le sequenze di amminoacidi delle CDR2 di V_H di 28F3, 19D3, 18E10, 3C3 (3C3-1 e 3C3-2), 2G6, 8A6, 9G7 (9G7-1 e 9G7-2), 14E3, 19H8 (19H8-1 e 19H8-2) e 6G10 sono rispettivamente riportate in SEQ ID NO:21, 34, 47, 63, 79, 92, 107, 123, 139 e 343. Le sequenze di amminoacidi delle CDR3 di V_H di 28F3, 19D3, 18E10, 3C3 (3C3-1 e 3C3-2), 2G6, 8A6, 9G7 (9G7-1 e 9G7-2), 14E3, 19H8 (19H8-1 e 19H8-2) e 6G10 sono riportate in SEQ ID NO:22, 35, 48, 64, 80, 93, 108, 124, 140 e 344. Le sequenze di amminoacidi delle CDR1 di V_L di 28F3, 19D3, 18E10, 3C3-1, 3C3-2, 2G6, 8A6, 9G7-1, 9G7-2, 14E3, 19H8-1, 19H8-2 e 6G10 sono rispettivamente riportate in SEQ ID NO:23, 36, 49, 65, 68, 81, 94, 109, 112, 125, 141, 144 e 345. Le sequenze di amminoacidi delle CDR2 di V_L di 28F3, 19D3, 18E10, 3C3-1, 3C3-2, 2G6, 8A6, 9G7-1, 9G7-2, 14E3, 19H8-1, 19H8-2 e 6G10 sono rispettivamente riportate in SEQ ID NO:24, 37, 50, 66, 69, 82, 95, 110, 113, 126, 142, 145 e 346. Le sequenze di amminoacidi delle CDR3 di V_L di 28F3, 19D3, 18E10, 3C3-1, 3C3-2, 2G6, 8A6, 9G7-1, 9G7-2, 14E3, 19H8-1, 19H8-2 e 6G10 sono rispettivamente riportate in SEQ ID NO:25, 38, 51, 67, 70, 83, 96, 111, 114, 127, 143, 146 e 347. Le regioni CDR sono riportate adoperando il sistema di Kabat (Kabat E. A. et al., (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Quinta Edizione, Dipartimento della salute e dei servizi umani degli Stati Uniti, pubblicazione NIH n° 91-3242).

Poiché ciascuno di questi anticorpi si lega a GITR, e poiché la specificità di legame all'antigene viene principalmente conferita dalle regioni CDR1, 2 e 3, le sequenze di CDR1, 2 e 3 della V_H e le sequenze di CDR1, 2 e 3

della V_L possono essere "miscelate e abbinate" (nel senso che le CDR di differenti anticorpi possono essere miscelate e abbinate, benché ogni anticorpo debba contenere le CDR1, 2 e 3 di una V_H e le CDR1, 2 e 3 di una V_L) allo scopo di creare altre molecole leganti anti-GITR qui descritte. Il legame di tali anticorpi "miscelati e abbinati" a GITR può essere esaminato usando i saggi di legame descritti sopra e negli Esempi (ad esempio via ELISA). Preferibilmente, quando le sequenze miscelate e abbinate sono sequenze CDR di V_H, la sequenza di CDR1, CDR2 e/o CDR3 di una particolare sequenza di V_H viene sostituita con una o più sequenze di CDR che sono strutturalmente simili. Analogamente, quando le sequenze miscelate e abbinate sono sequenze CDR di V_L, la sequenza di CDR1, CDR2 e/o CDR3 di una particolare sequenza di V_L viene preferibilmente sostituita con una o più sequenze di CDR che sono strutturalmente simili. Per il tecnico di competenza ordinaria sarà facilmente evidente la possibilità di creare nuove sequenze di V_H e V_L sostituendo le sequenze di una o più regioni CDR di V_H e/o V_L con sequenze strutturalmente simili prese dalle sequenze di CDR qui divulgate per gli anticorpi monoclonali 28F3, 19D3, 18E10, 3C3-1, 3C3-2, 2G6, 8A6, 9G7-1, 9G7-2, 14E3, 19H8-1, 19H8-2 e 6G10.

Qui vengono forniti anticorpi isolati, o loro porzioni leganti l'antigene, che comprendono:

(a) una CDR1 di regione variabile di catena pesante comprendente una sequenza di amminoacidi selezionata dal gruppo costituito da SEQ ID NO:20, 33, 46, 62, 78, 91, 106, 122, 138 e 342;

(b) una CDR2 di regione variabile di catena pesante comprendente una sequenza di amminoacidi selezionata dal gruppo costituito da SEQ ID NO:21, 34, 47, 63, 79, 92, 107, 123, 139 e 343;

(c) una CDR3 di regione variabile di catena pesante comprendente una sequenza di amminoacidi selezionata dal gruppo costituito da SEQ ID NO:22, 35, 48, 64, 80, 93, 108, 124, 140 e 344;

(d) una CDR1 di regione variabile di catena leggera comprendente una sequenza di amminoacidi selezionata dal gruppo costituito da SEQ ID NO:23, 36, 49, 65, 68, 81, 94, 109, 112, 125, 141, 144 e 345;

(e) una CDR2 di regione variabile di catena leggera comprendente una sequenza di amminoacidi selezionata dal gruppo costituito da SEQ ID NO:24, 37, 50, 66, 69, 82, 95, 110, 113, 126, 142, 145 e 346; e

(f) una CDR3 di regione variabile di catena leggera comprendente una sequenza di amminoacidi selezionata dal gruppo costituito da SEQ ID NO:25, 38, 51, 67, 70, 83, 96, 111, 114, 127, 143, 146 e 347;

in cui l'anticorpo si lega specificatamente al GITR umano.

In un aspetto qui divulgato, l'anticorpo comprende regioni variabili di catena pesante e catena leggera, in cui le regioni CDR1, CDR2 e CDR3 della regione variabile della catena pesante comprendono:

(a) SEQ ID NO:33-35;

(b) SEQ ID NO:46-48;

(c) SEQ ID NO:62-64;

(d) SEQ ID NO:78-80;

(e) SEQ ID NO:91-93;

(f) SEQ ID NO:106-108;

(g) SEQ ID NO:122-124;

(h) SEQ ID NO:138-140; o

(i) SEQ ID NO:342-344;

in cui l'anticorpo si lega specificatamente al GITR umano.

L'anticorpo dell'invenzione comprende regioni variabili di catena pesante e catena leggera, in cui le regioni CDR1, CDR2 e CDR3 della regione variabile della catena pesante comprendono SEQ ID NO:20-22.

In un altro aspetto qui divulgato, l'anticorpo comprende regioni variabili di catena pesante e catena leggera, in cui le regioni CDR1, CDR2 e CDR3 della regione variabile della catena leggera comprendono:

(a) SEQ ID NO:36-38;

(b) SEQ ID NO:49-51;

(c) SEQ ID NO:65-67;

(d) SEQ ID NO:68-70;

(e) SEQ ID NO:81-83;

(f) SEQ ID NO:94-96;

(g) SEQ ID NO:109-111;

(h) SEQ ID NO:112-114;

(i) SEQ ID NO:125-127;

(j) SEQ ID NO:141-143;

(k) SEQ ID NO:144-146; o

(l) SEQ ID NO:345-347;

in cui l'anticorpo si lega specificatamente al GITR umano.

L'anticorpo dell'invenzione comprende regioni variabili di catena pesante e catena leggera, in cui le regioni CDR1, CDR2 e CDR3 della regione variabile della catena leggera comprendono SEQ ID NO:23-25.

In un aspetto particolare qui descritto, l'anticorpo comprende regioni variabili di catena pesante e catena leggera, in cui:

(a) la CDR1, la CDR2 e la CDR3 di regione variabile di catena pesante comprendono rispettivamente SEQ ID NO:33-35, e la CDR1, la CDR2 e la CDR3 di regione variabile di catena leggera comprendono rispettivamente SEQ ID NO:36-38;

(b) la CDR1, la CDR2 e la CDR3 di regione variabile di catena pesante comprendono rispettivamente SEQ ID NO:46-48, e la CDR1, la CDR2 e la CDR3 di regione variabile di catena leggera comprendono rispettivamente SEQ ID NO:49-51;

(c) la CDR1, la CDR2 e la CDR3 di regione variabile di catena pesante comprendono rispettivamente SEQ ID NO:62-64, e la CDR1, la CDR2 e la CDR3 di regione variabile di catena leggera comprendono rispettivamente SEQ ID NO:65-67;

(d) la CDR1, la CDR2 e la CDR3 di regione variabile di catena pesante comprendono rispettivamente SEQ ID NO:62-64, e la CDR1, la CDR2 e la CDR3 di regione variabile di catena leggera comprendono rispettivamente SEQ ID NO:68-70;

(e) la CDR1, la CDR2 e la CDR3 di regione variabile di catena pesante comprendono rispettivamente SEQ ID NO:78-80, e la CDR1, la CDR2 e la CDR3 di regione variabile di catena leggera comprendono rispettivamente SEQ ID NO:81-83;

(f) la CDR1, la CDR2 e la CDR3 di regione variabile di catena pesante comprendono rispettivamente SEQ ID NO:91-93, e la CDR1, la CDR2 e la CDR3 di regione variabile di catena leggera comprendono rispettivamente SEQ ID NO:94-96;

(g) la CDR1, la CDR2 e la CDR3 di regione variabile di catena pesante comprendono rispettivamente SEQ ID NO:106-108, e la CDR1, la CDR2 e la CDR3 di regione variabile di catena leggera comprendono rispettivamente SEQ ID NO:109-111;

(h) la CDR1, la CDR2 e la CDR3 di regione variabile di catena pesante comprendono rispettivamente SEQ ID NO:106-108, e la CDR1, la CDR2 e la CDR3 di regione variabile di catena leggera comprendono rispettivamente SEQ ID NO:112-114;

(i) la CDR1, la CDR2 e la CDR3 di regione variabile di catena pesante comprendono rispettivamente SEQ ID NO:122-124, e la CDR1, la CDR2 e la CDR3 di regione variabile di catena leggera comprendono rispettivamente SEQ ID NO:125-127;

(j) la CDR1, la CDR2 e la CDR3 di regione variabile di catena pesante comprendono rispettivamente SEQ ID NO:138-140, e la CDR1, la CDR2 e la CDR3 di regione variabile di catena leggera comprendono rispettivamente SEQ ID NO:141-143;

(k) la CDR1, la CDR2 e la CDR3 di regione variabile di catena pesante comprendono rispettivamente SEQ ID NO:138-140, e la CDR1, la CDR2 e la CDR3 di regione variabile di catena leggera comprendono rispettivamente SEQ ID NO:144-146; o

(l) la CDR1, la CDR2 e la CDR3 di regione variabile di catena pesante comprendono rispettivamente SEQ ID NO:342-344, e la CDR1, la CDR2 e la CDR3 di regione variabile di catena leggera comprendono rispettivamente SEQ ID NO:345-347;

in cui l'anticorpo si lega specificatamente al GITR umano.

L'anticorpo dell'invenzione comprende regioni variabili di catena pesante e catena leggera, in cui la CDR1, la CDR2 e la CDR3 di regione variabile di catena pesante comprendono rispettivamente SEQ ID NO:20-22, e la CDR1, la CDR2 e la CDR3 di regione variabile di catena leggera comprendono rispettivamente SEQ ID NO:23-25.

Per formare una catena pesante, ad esempio una catena pesante a tutta lunghezza, è possibile collegare un dominio VH qui descritto, o una o più delle sue CDR, ad un dominio costante. Analogamente, per formare una catena leggera, ad esempio una catena leggera a tutta lunghezza, è possibile collegare un dominio VL qui descritto, o una o più delle sue CDR, ad un dominio costante. Una catena pesante a tutta lunghezza (ad eccezione della lisina C-terminale (K) o ad eccezione della glicina e della serina C-terminali (GK), che può/possono essere assente/i) e una catena leggera a tutta lunghezza si combinano per formare un anticorpo a tutta lunghezza.

Un dominio VH qui descritto può essere fuso al dominio costante di una IgG umana, ad esempio di una IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4, che è una IgG esistente in natura o modificata, ad esempio come qui descritto ulteriormente. Ad esempio, un dominio VH può comprendere la sequenza di amminoacidi di qualsiasi dominio VH qui descritto fusa alla seguente sequenza di amminoacidi di una IgG1 umana:

ASTKGP SVFPLAPSSK STSGGTAALG CLVKDYFPEP VTVSWNSGAL TSGVHTFPAV
LQSSGLYSLS SVVTVPSSSL GTQTYICNVN HKPSNTKVDK RVEPKSCDKT HTCPPCPAPE
LLGGPSVFLF PPKPKDTLMI SRTPEVTCVV VDVSHEDPEV KFNWYVDGVE VHNAKTKPRE
EQYNSTYRVV SVLTVLHQDW LNGKEYKCKV SNKALPAPIE KTISKAKGQP REPQVYTLPP
SREEMTKNQV SLTCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSDGS FFLYSKLTVD
KSRWQQGNVF SCSVMHEALH NHYTQKSLSL SPG (SEQ ID NO: 7)

Il dominio costante della IgG1 umana può anche essere quello di una variante allotipica. Ad esempio, una variante allotipica di IgG1 comprende le mutazioni R107K, E189D ed M191L (sottolineate sopra e numerate come in SEQ ID NO:7). All'interno della regione pesante a tutta lunghezza, queste sostituzioni di amminoacido sono numerate R214K, E356D ed M358L.

Un dominio VL qui descritto può essere fuso al dominio costante di una catena leggera kappa o lambda umana. Ad esempio, un dominio VL può comprendere la sequenza di amminoacidi di qualsiasi dominio VL qui descritto fusa alla seguente sequenza di amminoacidi di una catena leggera kappa di IgG1 umana:

RTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ
ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC(SEQ ID NO:
12)

In certe forme esecutive, la regione costante della catena pesante comprende una lisina o un altro amminoacido sul C-terminale, ad esempio comprende i seguenti ultimi amminoacidi: LSPGK (SEQ ID NO:220) per la catena pesante. In certe forme esecutive, la regione costante della catena pesante è priva di uno o più amminoacidi sul C-terminale e, ad esempio, ha la sequenza C-terminale LSPG (SEQ ID NO:276) o LSP.

La Tabella 11 riporta sequenze di amminoacidi di catene pesanti e leggere esemplificative che corrispondono a SEQ ID NO:15, 17, 18, 28, 30, 31, 41, 43, 44, 55, 58, 59, 73, 75, 76, 86, 88, 89, 100, 102, 103, 117, 119, 120, 131, 134, 135, 227-275, 337, 339, 340, 348-352, 361 e 362 per le catene pesanti e a SEQ ID NO:16, 19, 29, 32, 42, 45, 56, 57, 60, 61, 74, 87, 90, 101, 104, 105, 118, 121, 132, 133, 136, 137, 338, 341 e 371 per le catene leggere.

Le catene pesanti e leggere comprendenti una sequenza di amminoacidi che è almeno 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 80%, 75% o 70% identica ad una qualsiasi delle catene pesanti o leggere riportate nella Tabella 11 (o delle loro regioni variabili), ad esempio SEQ ID NO:13-19, 26-32, 40-45, 52-61, 71-77, 84-90, 97-105, 116-121, 128-137, 227-275, 337-341, 348-352, 361, 362 e 371, possono essere usate per formare anticorpi anti-GITR umano aventi le caratteristiche desiderate, ad esempio quelle qui descritte ulteriormente. Esempi di varianti sono quelle comprendenti una variazione allotipica, ad esempio nel dominio costante, e/o una mutazione nelle regioni variabili o costanti, come le mutazioni qui divulgate. Gli anticorpi anti-GITR umano aventi le caratteristiche desiderate, ad esempio quelle qui ulteriormente descritte, possono essere formati usando catene pesanti e leggeri comprendenti una sequenza di amminoacidi che differisce da una qualsiasi delle catene pesanti e leggere riportate nella Tabella 11 (o delle loro regioni variabili) per al massimo 1-30, 1-25, 1-20, 1-15, 1-10, 1-5, 1-4, 1-3, 1-2 o 1 amminoacido (per sostituzione, addizione o delezione).

In varie forme esecutive, gli anticorpi descritti sopra mostrano una o più, due o più, tre o più, quattro o più, cinque o più, sei o più, sette o più, otto o più, nove o più, dieci o più, undici o tutte le seguenti proprietà funzionali:

(1) la capacità di legarsi al GITR umano solubile, ad esempio con una K_D di 10 nM o meno (ad esempio da 0,01 nM a 10 nM), ad esempio come misurata via Biacore;

(2) la capacità di legarsi al GITR umano legato a membrana, ad esempio con una K_D di 1 nM o meno (ad esempio da 0,01 nM a 1 nM), ad esempio come misurata via Scatchard;

(3) la capacità di legarsi al GITR umano legato a membrana, ad esempio con una EC_{50} di 1 nM o meno (ad esempio da 0,01 nM a 1 nM), ad esempio come misurata via FACS;

(4) la capacità di legarsi al GITR di cynomolgus, ad esempio la capacità di legarsi al GITR di cynomolgus legato a membrana, ad esempio con una EC_{50} di 10 nM o meno (ad esempio da 0,01 nM a 10 nM), ad esempio come misurata via FACS;

(5) la capacità di indurre o potenziare l'attivazione delle cellule T, come in presenza di un CD3 impegnato (ad esempio in presenza di concentrazioni subottimali di un anti-CD3), come testimoniata da (i) una produzione aumentata di IL-2 e/o IFN-γ in cellule T che esprimono GITR, e/o (ii) una proliferazione potenziata delle cellule T;

(6) la capacità di indurre o potenziare l'attivazione delle cellule T senza richiedere una reticolazione multivalente;

(7) la capacità di inibire il legame di un ligando per GITR a GITR su cellule 3A9-hGITR, ad esempio con una EC_{50} di 1 μg/mL o meno come misurata via FACS;

(8) la capacità di inibire al massimo parzialmente il legame di un ligando per GITR a GITR su cellule T attivate;

(9) la capacità di legarsi ad un epitopo conformazionale sul GITR umano maturo (SEQ ID NO:4), ad esempio ad un epitopo discontinuo all'interno delle sequenze di amminoacidi PTGGPGCGPGRLLLGTGT (SEQ ID NO:217) e CRDYPGEE (SEQ ID NO:218);

(10) la capacità di legarsi sia ad un GITR umano non glicosilato che ad un GITR umano glicosilato con glicosilazione O-collegata o N-collegata;

(11) la capacità di mostrare un'attività da agonista senza legarsi ad un recettore per Fc, ma in cui il legame ad un recettore per Fc potenzia ulteriormente l'attività da agonista; e

(12) la capacità di competere per il legame al GITR umano, in una delle due direzioni o in entrambe le direzioni, con 28F3, 3C3-1, 3C3-2, 2G6, 8A6, 9G7-1, 9G7-2, 14E3, 19H8-1, 19H8-2, 19D3, 18E10 e/o 6G10.

Tali anticorpi comprendono, ad esempio, anticorpi umani, anticorpi umanizzati o anticorpi chimerici.

In una forma esecutiva, gli anticorpi anti-GITR qui descritti si legano sia ad un GITR umano glicosilato (ad esempio con glicosilazione N-collegata od O-collegata) che non glicosilato.

In una forma esecutiva, gli anticorpi anti-GITR qui descritti si legano ad un epitopo conformazionale.

In una forma esecutiva, gli anticorpi anti-GITR qui descritti si legano a residui di amminoacido che si trovano all'interno della seguente regione del GITR umano maturo (SEQ ID NO:4):
QRPTGGPGCGPGRLLLGTGTDARCCRVHTTRCCRDYPGE (SEQ ID NO:215),
che corrisponde ai residui di amminoacido 1-39 delle isoforme GITR 1, 2 e 3 del GITR umano maturo (SEQ ID NO:4).

In una forma esecutiva, l'anticorpo anti-GITR qui descritto si lega a residui di amminoacido che si trovano all'interno della seguente regione del GITR umano maturo (SEQ ID NO:4):
QRPTGGPGCGPGRLLLGTGT (SEQ ID NO:216),
che corrisponde ai residui di amminoacido 1-20 delle isoforme GITR 1, 2 e 3 del GITR umano maturo (SEQ ID NO:4).

In una forma esecutiva, l'anticorpo anti-GITR qui descritto si lega a residui di amminoacido che si trovano all'interno delle seguenti regioni del GITR umano maturo (SEQ ID NO:4):
PTGGPGCGPGRLLLGTGT (SEQ ID NO:217) e CRDYPGEE (SEQ ID NO:218).

Domini costanti di catena pesante modificati

Come qui discusso ulteriormente, la regione costante della catena pesante degli anticorpi anti-GITR qui descritti può essere di qualsiasi isotipo, ad esempio IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4, o loro combinazioni e/o loro modifiche. Un anticorpo anti-GITR può avere funzione effettrice, può avere una funzione effettrice ridotta, o può non avere una funzione effettrice. In certe forme esecutive, gli anticorpi anti-GITR comprendono una regione costante di catena pesante modificata che conferisce proprietà potenziate all'anticorpo. Come mostrato negli Esempi, gli anticorpi anti-GITR aventi una regione costante di catena pesante modificata che comprende una cerniera IgG2 sono agonisti più potenti rispetto ad anticorpi aventi la stessa regione variabile ma una cerniera non IgG2. Ad esempio, un anticorpo che comprende una cerniera IgG2, che comprende un dominio CH2 e un dominio CH3 di isotipo IgG1 e che ha o non ha una funzione effettrice avrà un'attività da agonista potenziata, come misurata in base ad una secrezione aumentata di IFN-γ e IL-2 da cellule T incubate con l'anticorpo. Senza volersi limitare ad uno specifico meccanismo d'azione, si ipotizza che gli anticorpi anti-GITR aventi cerniere IgG2 formino complessi anticorpo/antigene più grandi e vengano internalizzati più efficacemente, producendo così un'attività da agonista aumentata. Si ritiene che la formazione di grandi complessi sia la conseguenza di una maggiore rigidità della cerniera IgG2 rispetto alle cerniere di altri isotipi (ad

esempio IgG1, IgG3 e IgG4). Come descritto ulteriormente negli Esempi, sembra non esistere un'associazione tra un'attività da agonista potenziata e un'affinità più alta o più bassa dell'anticorpo. Di conseguenza, qui vengono forniti anticorpi anti-GITR aventi una regione costante di catena pesante modificata in cui gli anticorpi anti-GITR hanno un'attività da agonista potenziata, e in cui l'anticorpo con la regione costante di catena pesante modificata si lega a GITR con un'affinità simile a quella di un anticorpo avente le stesse regioni variabili ma una regione costante di catena pesante differente.

Di conseguenza, qui vengono anche forniti metodi per potenziare l'attività da agonista di anticorpi anti-GITR, i metodi prevedendo di fornire un anticorpo anti-GITR che ha una cerniera non IgG2, e sostituire la cerniera non IgG2 con una cerniera IgG2. Gli anticorpi che possono trarre vantaggio da tale modifica comprendono qualsiasi anticorpo anti-GITR, come quelli noti nel ramo, ad esempio l'anticorpo 6C8 o un anticorpo umanizzato che ha le CDR di 6C8, ad esempio come descritto in WO2006/105021; o un anticorpo descritto in WO2011/028683, JP2008278814, KR20080105674, US20040072566, US2001472565, US20140065152 o WO2015/031667.

In certe forme esecutive, una regione costante di catena pesante modificata comprende una cerniera di isotipo IgG2 (una "cerniera IgG2") e domini CH1, CH2 e CH3. In certe forme esecutive, una regione costante di catena pesante modificata comprende una cerniera IgG2 e domini CH1, CH2 e CH3, in cui almeno uno dei domini CH1, CH2 e CH3 non è di isotipo IgG2. La cerniera IgG2 può essere una cerniera IgG2 di tipo selvatico, ad esempio una cerniera IgG2 umana di tipo selvatico (ad esempio ERKCCVECPPCPAPPVAG; SEQ ID NO:291) o una sua variante, a condizione che la cerniera IgG2 mantenga la capacità di conferire all'anticorpo un'attività potenziata rispetto allo stesso anticorpo che comprende una cerniera non IgG2. In certe forme esecutive, una cerniera IgG2 variante mantiene una rigidità o inflessibilità simile a quella di una cerniera IgG2 di tipo selvatico. La rigidità di una cerniera può essere determinata, ad esempio, tramite modellazione al computer, microscopia elettronica, spettroscopia, come risonanza magnetica nucleare (RMN), cristallografia ai raggi X (fattori B) o ultracentrifugazione analitica (AUC) basata sulla velocità di sedimentazione, che misura o confronta il raggio di girazione di anticorpi che comprendono le cerniera. Una cerniera può avere una rigidità simile o più alta rispetto a quella di un'altra cerniera se un anticorpo comprendente la cerniera ha un valore che differisce dal valore dello stesso anticorpo con una cerniera differente, ad esempio una cerniera IgG1, per

meno di 5%, 10%, 25%, 50%, 75% o 100%, detti valori essendo ottenuti attraverso uno dei test descritti nella frase precedente. Basandosi su questi test, una persona esperta nel ramo sarà in grado di determinare se una cerniera ha una rigidità almeno simile a quella di un'altra cerniera interpretando i risultati dei test. Una cerniera IgG2 umana variante esemplificativa è una cerniera IgG2 in cui uno o più dei quattro residui di cisteina (ovvero C219, C220, C226 e C229) sono sostituiti. Una cisteina può essere sostituita con una serina. Una cerniera IgG2 esemplificativa è una cerniera IgG2 umana che comprende una mutazione C219S (ad esempio ERKSCVECPPCPAPPVAG; SEQ ID NO:292). Altre cerniere IgG2 varianti che possono essere usate comprendono cerniere IgG2 umane che comprendono una sostituzione in C220, C226 e/o C229, ad esempio una mutazione C220S, C226S o C229S (che può essere combinata con una mutazione C219S). Una cerniera IgG2 può anche essere una cerniera IgG2 in cui una porzione della cerniera è quella di un altro isotipo (nel senso che è una cerniera chimerica), a condizione che la rigidità della cerniera chimerica sia almeno simile a quella di una cerniera IgG2 di tipo selvatico. Ad esempio, una cerniera IgG2 può essere una cerniera IgG2 in cui la cerniera inferiore (come definita nella Tabella 2) è di isotipo IgG1 e, ad esempio, è una cerniera inferiore IgG1 di tipo selvatico. Ulteriori mutazioni di cerniera IgG2 che possono essere usate in una cerniera IgG2 comprendono le mutazioni SE (S267E), SELF (S267E/L328F), SDIE (S239D/I332E), SEFF e GASDALIE (G236A/S239D/A330L/I332E).

Una cerniera "ibrida" o "chimerica" viene identificata come una cerniera di uno specifico isotipo se più della metà degli amminoacidi consecutivi della cerniera sono di quell'isotipo. Ad esempio, una cerniera avente una cerniera superiore e una cerniera intermedia di isotipo IgG2 e una cerniera inferiore di isotipo IgG1 è considerata una cerniera IgG2.

In certe forme esecutive, una regione costante di catena pesante modificata comprende un dominio CH1 che è un dominio CH1 di tipo selvatico di isotipo IgG1 o IgG2 (rispettivamente "dominio CH1 IgG1" o "dominio CH1 IgG2"). È anche possibile adoperare domini CH1 di isotipi IgG3 e IgG4 (rispettivamente "dominio CH1 IgG3" o "dominio CH1 IgG4"). Un dominio CH1 può anche essere una variante di un dominio CH1 di tipo selvatico, ad esempio una variante di un dominio CH1 IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4 di tipo selvatico. Le varianti esemplificative dei domini CH1 comprendono A114C e T173C.

In certe forme esecutive, una regione costante di catena pesante modificata comprende un dominio CH2 che è un dominio CH2 di tipo selvatico di isotipo IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4 (rispettivamente "dominio CH2 IgG1", "dominio CH2 IgG2", "dominio CH2 IgG3" o "dominio CH2 IgG4"). Un dominio CH2 può anche essere una variante di un dominio CH2 di tipo selvatico, ad esempio un variante di un dominio CH2 IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4 di tipo selvatico. Le varianti esemplificative dei domini CH2 comprendono varianti che modulano un'attività biologica della regione Fc di un anticorpo, come ADCC o CDC, o che modulano l'emivita dell'anticorpo o la sua stabilità. In una forma esecutiva, il dominio CH2 è un dominio CH2 IgG1 umano con le mutazioni A330S e P331S, in cui il dominio CH2 ha una funzione effettrice ridotta rispetto allo stesso dominio CH2 senza le mutazioni. Altre mutazioni sono qui ulteriormente esposte altrove.

In certe forme esecutive, una regione costante di catena pesante modificata comprende un dominio CH3 che è un dominio CH3 di tipo selvatico di isotipo IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4 (rispettivamente "dominio CH3 IgG1", "dominio CH3 IgG2", "dominio CH3 IgG3" o "dominio CH3 IgG4"). Un dominio CH3 può anche essere una variante di un dominio CH3 di tipo selvatico, ad esempio un variante di un dominio CH3 IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4 di tipo selvatico. Le varianti esemplificative dei domini CH3 comprendono varianti che modulano un'attività biologica della regione Fc di un anticorpo, come ADCC o CDC, o che modulano l'emivita dell'anticorpo o la sua stabilità.

Generalmente, le varianti dei domini CH1, cerniera, CH2 e CH3 possono comprendere 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o più mutazioni, e/o al massimo 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 o 1 mutazione, o 1-10 o 1-5 mutazioni, o possono comprendere una sequenza di amminoacidi che è almeno circa 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% identica a quella del corrispondente dominio di tipo selvatico (rispettivamente dominio CH1, cerniera, CH2 o CH3), a condizione che la regione costante di catena pesante comprendente la specifica variante mantenga l'attività biologica necessaria.

La Tabella 3 riporta regioni costanti di catena pesante umane esemplificative che comprendono domini CH1, cerniera, CH2 e/o CH3 umani, in cui ciascun dominio è un dominio di tipo selvatico o una sua variante che conferisce l'attività biologica desiderata alla regione costante di catena pesante. Nella Tabella 3, una cella vuota indica che il dominio è presente o assente e, se presente, può essere di qualsiasi isotipo, ad esempio IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4. Ad

esempio, un anticorpo comprendente la regione costante di catena pesante 1 della Tabella 3 è un anticorpo comprendente una regione costante di catena pesante che comprende almeno una cerniera IgG2 e che può anche comprendere un dominio CH1, CH2 e/o CH3, il quale dominio CH1, CH2 e/o CH3, se presente, è di isotipo IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4. Come altro esempio per comprendere la Tabella 3, un anticorpo comprendente una regione costante di catena pesante 8 è un anticorpo comprendente una regione costante di catena pesante che comprende un dominio CH1 IgG1, una cerniera IgG2 e un dominio CH2 IgG1 e che può o no anche comprendere un dominio CH3 che, se presente, può essere di isotipo IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4.

Tabella 3. Configurazioni esemplificative delle regioni costanti di catena pesante umane

MHCCR*	CH1	Cerniera	CH2	CH3
1		IgG2		
2	IgG1	IgG2		
3	IgG2	IgG2		
4		IgG2	IgG1	
5		IgG2	IgG2	
6		IgG2		IgG1
7		IgG2		IgG2
8	IgG1	IgG2	IgG1	
9	IgG1	IgG2	IgG2	
10	IgG2	IgG2	IgG1	
11	IgG2	IgG2	IgG2	
12	IgG1	IgG2		IgG1
13	IgG1	IgG2		IgG2
14	IgG2	IgG2		IgG1
15	IgG2	IgG2		IgG2

16		IgG2	IgG1	IgG1
17		IgG2	IgG1	IgG2
18		IgG2	IgG2	IgG1
19		IgG2	IgG2	IgG2
20	IgG1	IgG2	IgG1	IgG1
21	IgG1	IgG2	IgG1	IgG2
22	IgG1	IgG2	IgG2	IgG1
23	IgG1	IgG2	IgG2	IgG2
24	IgG2	IgG2	IgG1	IgG1
25	IgG2	IgG2	IgG1	IgG2
26	IgG2	IgG2	IgG2	IgG1
27	IgG2	IgG2	IgG2	IgG2
* Regione costante di catena pesante modificata				

In certe forme esecutive, un anticorpo anti-GITR comprende una regione costante di catena pesante mostrata nella Tabella 3 e ha un'attività da agonista potenziata rispetto a quella dello stesso anticorpo comprendente una regione costante di catena pesante che non comprende quella specifica regione costante di catena pesante. In certe forme esecutive, un anticorpo comprendente una regione costante di catena pesante mostrata nella Tabella 3 ha un'attività da agonista potenziata rispetto a quella dello stesso anticorpo comprendente una regione costante di catena pesante che non comprende una cerniera IgG2 o la stessa cerniera IgG2. In certe forme esecutive, un anticorpo comprendente una regione costante di catena pesante mostrata nella Tabella 3 ha un'attività da agonista potenziata rispetto a quella dello stesso anticorpo comprendente una regione costante di catena pesante che comprende un cerniera non IgG2 e che, ad esempio, comprende una cerniera IgG1, IgG3 o IgG4. In certe forme esecutive, un anticorpo comprendente una regione costante di catena pesante mostrata nella Tabella 3 ha un'attività da agonista potenziata rispetto a quella dello stesso anticorpo comprendente una regione costante di catena pesante che non comprende uno o più degli stessi domini CH1,

cerniera, CH2 o CH3. Ad esempio, in certe forme esecutive, un anticorpo comprendente una regione costante di catena pesante mostrata nella Tabella 3 ha un'attività da agonista potenziata rispetto a quella dello stesso anticorpo comprendente una regione costante di catena pesante che non comprende una cerniera IgG2 e un dominio CH1, CH2 e/o CH3 dello specifico isotipo. Ad esempio, un anticorpo comprendente una regione costante di catena pesante 22 mostrata nella Tabella 3 può avere un'attività da agonista potenziata rispetto a (i) lo stesso anticorpo comprendente una regione costante di catena pesante che non comprende una cerniera IgG2 e che, ad esempio, comprende una cerniera non IgG2 (ad esempio una cerniera IgG1, IgG3 o IgG4); (ii) lo stesso anticorpo comprendente una regione costante di catena pesante che non comprende una cerniera IgG2 e un CH1 IgG1 e che, ad esempio, comprende una cerniera non IgG2 e/o un CH1 non IgG1; (iii) lo stesso anticorpo comprendente una regione costante di catena pesante che non comprende una cerniera IgG2 e un CH2 IgG2 e che, ad esempio, comprende una cerniera non IgG2 e/o un CH2 non IgG2; (iv) lo stesso anticorpo comprendente una regione costante di catena pesante che non comprende una cerniera IgG2 e un CH3 IgG1 e che, ad esempio, comprende una cerniera non IgG2 e/o un CH3 non IgG1; (v) lo stesso anticorpo comprendente una regione costante di catena pesante che non comprende una cerniera IgG2, un CH1 IgG1 e un CH2 IgG2 e che, ad esempio, comprende una cerniera non IgG2 e/o un CH1 non IgG1 e/o un CH2 non IgG2; (vi) lo stesso anticorpo comprendente una regione costante di catena pesante che non comprende una cerniera IgG2, un CH1 IgG1 e un CH3 IgG1 e che, ad esempio, comprende una cerniera non IgG2 e/o un CH1 non IgG1 e/o un CH3 non IgG1; (vii) lo stesso anticorpo comprendente una regione costante di catena pesante che non comprende una cerniera IgG2, un CH2 IgG2 e un CH3 IgG1 e che, ad esempio, comprende una cerniera non IgG2 e/o un CH non IgG2 e/o un CH3 non IgG1; (viii) o lo stesso anticorpo comprendente una regione costante di catena pesante che non comprende una cerniera IgG2, un CH1 IgG1, un CH2 IgG2 e un CH3 IgG1 e che, ad esempio, comprende una cerniera non IgG2 e/o un CH1 non IgG1 e/o un CH2 non IgG2 e/o un CH3 non IgG1.

La Tabella 4 fornisce regioni costanti di catena pesante modificate esemplificative che possono essere collegate a regioni variabili anti-GITR, ad esempio quelle qui descritte, la Tabella riportando l'identità di ciascuno dei domini.

Tabella 4: Regioni costanti di catena pesante modificate esemplificative

Regione costante di catena pesante modificata	CH1	Cerniera	CH2	CH3	SEQ ID NO della MHCCR intera
IgG1-IgG2-IgG1f	IgG1 di tipo selvatico, SEQ ID NO:278	IgG2/IgG1, SEQ ID NO:293	IgG1 di tipo selvatico, SEQ ID NO:280	IgG1 di tipo selvatico, SEQ ID NO:282	SEQ ID NO:283
IgG1-IgG2-IgG1f2	IgG1 di tipo selvatico, SEQ ID NO:278	IgG2 di tipo selvatico, SEQ ID NO:291	IgG1 di tipo selvatico, SEQ ID NO:280	IgG1 di tipo selvatico, SEQ ID NO:282	SEQ ID NO:287
IgG1-IgG2CS-IgG1f	IgG1 di tipo selvatico, SEQ ID NO:278	IgG2C219S/IgG1, SEQ ID NO:294	IgG1 di tipo selvatico, SEQ ID NO:280	IgG1 di tipo selvatico, SEQ ID NO:282	SEQ ID NO:284
IgG1-IgG2CS-IgG1f2	IgG1 di tipo selvatico, SEQ ID NO:278	IgG2 C219S, SEQ ID NO:292	IgG1 di tipo selvatico, SEQ ID NO:280	IgG1 di tipo selvatico, SEQ ID NO:282	SEQ ID NO:288
IgG2-IgG1f	IgG2 di tipo selvatico, SEQ ID NO:279	IgG2/IgG1, SEQ ID NO:293	IgG1 di tipo selvatico, SEQ ID NO:280	IgG1 di tipo selvatico, SEQ ID NO:282	SEQ ID NO:223
IgG2-IgG1f2	IgG2 di tipo selvatico, SEQ ID NO:279	IgG2 di tipo selvatico, SEQ ID NO:291	IgG1 di tipo selvatico, SEQ ID NO:280	IgG1 di tipo selvatico, SEQ ID NO:282	SEQ ID NO:289
IgG2CS-IgG1f	IgG2 di tipo selvatico, SEQ ID NO:279	IgG2C219S/IgG1, SEQ ID NO:294	IgG1 di tipo selvatico, SEQ ID NO:280	IgG1 di tipo selvatico, SEQ ID NO:282	SEQ ID NO:225
IgG2CS-IgG1f2	IgG2 di tipo selvatico, SEQ ID NO:279	IgG2 C219S, SEQ ID NO:292	IgG1 di tipo selvatico, SEQ ID NO:280	IgG1 di tipo selvatico, SEQ ID NO:282	SEQ ID NO:290
IgG1-IgG2-IgG1.1f	IgG1 di tipo selvatico, SEQ ID NO:278	IgG2 di tipo selvatico, SEQ ID NO:291	IgG1 A330S/P331S, SEQ ID NO:281	IgG1 di tipo selvatico, SEQ ID NO:282	SEQ ID NO:285
IgG1-IgG2CS-IgG1.1f	IgG1 di tipo selvatico, SEQ ID NO:278	IgG2 C219S, SEQ ID NO:292	IgG1 A330S/P331S, SEQ ID NO:281	IgG1 di tipo selvatico, SEQ ID NO:282	SEQ ID NO:286
IgG2-IgG1.1f	IgG2 di tipo selvatico, SEQ ID NO:279	IgG2 di tipo selvatico, SEQ ID NO:291	IgG1 A330S/P331S, SEQ ID NO:281	IgG1 di tipo selvatico, SEQ ID NO:282	SEQ ID NO:224
IgG2CS-IgG1.1f	IgG2 di tipo selvatico, SEQ ID NO:279	IgG2 C219S, SEQ ID NO:292	IgG1 A330S/P331S, SEQ ID NO:281	IgG1 di tipo selvatico, SEQ ID NO:282	SEQ ID NO:226

Dott.ssa Tiziana SANTORO (USBM-CPI-072 BM)

In certe forme esecutive, un anticorpo anti-GITR comprende una regione costante di catena pesante modificata che comprende una cerniera IgG2 comprendente SEQ ID NO:291, 292, 293 o 294 o una sua variante, come una cerniera IgG2 comprendente una sequenza di amminoacidi che (i) differisce da SEQ ID NO:291, 292, 293 o 294 per 1, 2, 3, 4 o 5 sostituzioni, addizioni o delezioni di amminoacido; (ii) differisce da SEQ ID NO:291, 292, 293 o 294 per al massimo 5, 4, 3, 2 o 1 sostituzione, addizione o delezione di amminoacido; (iii) differisce da SEQ ID NO:291, 292, 293 o 294 per 1-5, 1-3, 1-2, 2-5 o 3-5 sostituzioni, addizioni o delezioni di amminoacido, e/o (iv) comprende una sequenza di amminoacidi che è almeno circa 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% identica a SEQ ID NO:291, 292, 293 o 294, in cui, in uno qualsiasi di (i)-(iv), una sostituzione di amminoacido può essere una sostituzione di amminoacido conservativa o una sostituzione di amminoacido non conservativa; e in cui la regione costante di catena pesante modificata conferisce un'attività da agonista potenziata ad un anticorpo anti-GITR rispetto ad un'altra regione costante di catena pesante, ad esempio rispetto ad una regione costante di catena pesante che comprende una cerniera non IgG2, o rispetto alla stessa regione di catena pesante modificata che comprende una cerniera non IgG2.

In certe forme esecutive, un anticorpo anti-GITR comprende una regione costante di catena pesante modificata che comprende un dominio CH1 IgG1 comprendente SEQ ID NO:278 o un dominio CH1 IgG2 comprendente SEQ ID NO:279, o una variante di SEQ ID NO:278 o 279, la quale variante (i) differisce da SEQ ID NO:278 o 279 per 1, 2, 3, 4 o 5 sostituzioni, addizioni o delezioni di amminoacido; (ii) differisce da SEQ ID NO:278 o 279 per al massimo 5, 4, 3, 2 o 1 sostituzione, addizione o delezione di amminoacido; (iii) differisce da SEQ ID NO:278 o 279 per 1-5, 1-3, 1-2, 2-5 o 3-5 sostituzioni, addizioni o delezioni di amminoacido, e/o (iv) comprende una sequenza di amminoacidi che è almeno circa 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% identica a SEQ ID NO:278 o 279, in cui, in uno qualsiasi di (i)-(iv), una sostituzione di amminoacido può essere una sostituzione di amminoacido conservativa o una sostituzione di amminoacido non conservativa; e in cui l'anticorpo anti-GITR comprendente una regione costante di catena pesante modificata ha un'attività da agonista potenziata rispetto a quella di un anticorpo anti-GITR che ha però un'altra regione costante di catena pesante, ad esempio una regione costante di catena pesante che comprende una cerniera non IgG2, o la stessa regione di catena pesante modificata che comprende una cerniera non IgG2.

In certe forme esecutive, un anticorpo anti-GITR comprende una regione costante di catena pesante modificata che comprende un dominio CH2 IgG1 comprendente SEQ ID NO:280 o 281, o una variante di SEQ ID NO:280 o 281, la quale variante (i) differisce da SEQ ID NO:280 o 281 per 1, 2, 3, 4 o 5 sostituzioni, addizioni o delezioni di amminoacido; (ii) differisce da SEQ ID NO:280 o 281 per al massimo 5, 4, 3, 2 o 1 sostituzione, addizione o delezione di amminoacido; (iii) differisce da SEQ ID NO:280 o 281 per 1-5, 1-3, 1-2, 2-5 o 3-5 sostituzioni, addizioni o delezioni di amminoacido, e/o (iv) comprende una sequenza di amminoacidi che è almeno circa 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% identica a SEQ ID NO:280 o 281, in cui, in uno qualsiasi di (i)-(iv), una sostituzione di amminoacido può essere una sostituzione di amminoacido conservativa o una sostituzione di amminoacido non conservativa; e in cui la regione costante di catena pesante modificata conferisce un'attività da agonista potenziata ad un anticorpo anti-GITR rispetto a quella conferita da un'altra regione costante di catena pesante, ad esempio rispetto a quella conferita da una regione costante di catena pesante che comprende una cerniera non IgG2, o rispetto a quella conferita dalla stessa regione di catena pesante modificata che comprende una cerniera non IgG2.

In certe forme esecutive, un anticorpo anti-GITR comprende una regione costante di catena pesante modificata che comprende un dominio CH3 IgG1 comprendente SEQ ID NO:282, o una variante di SEQ ID NO:282, la quale variante (i) differisce da SEQ ID NO:282 per 1, 2, 3, 4 o 5 sostituzioni, addizioni o delezioni di amminoacido; (ii) differisce da SEQ ID NO:282 per al massimo 5, 4, 3, 2 o 1 sostituzione, addizione o delezione di amminoacido; (iii) differisce da SEQ ID NO:282 per 1-5, 1-3, 1-2, 2-5 o 3-5 sostituzioni, addizioni o delezioni di amminoacido, e/o (iv) comprende una sequenza di amminoacidi che è almeno circa 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% identica a SEQ ID NO:282, in cui, in uno qualsiasi di (i)-(iv), una sostituzione di amminoacido può essere una sostituzione di amminoacido conservativa o una sostituzione di amminoacido non conservativa; e in cui la regione costante di catena pesante modificata conferisce un'attività da agonista potenziata rispetto a quella conferita da un'altra regione costante di catena pesante, ad esempio rispetto a quella conferita da una regione costante di catena pesante che comprende una cerniera non IgG2, o rispetto a quella conferita dalla stessa regione di catena pesante modificata che comprende una cerniera non IgG2.

Le regioni costanti di catena pesante modificate possono anche comprendere una combinazione dei domini CH1, cerniera, CH2 e CH3 descritti sopra.

In certe forme esecutive, un anticorpo anti-GITR comprende una regione costante di catena pesante modificata comprendente SEQ ID NO:223, 224, 225, 226, 283, 284, 285 286, 287, 288, 289 o 290, o una variante di SEQ ID NO:223, 224, 225, 226, 283, 284, 285 286, 287, 288, 289 o 290, la quale variante (i) differisce da SEQ ID NO:223, 224, 225, 226, 283, 284, 285 286, 287, 288, 289 o 290 per 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o più sostituzioni, addizioni o delezioni di amminoacido; (ii) differisce da SEQ ID NO:223, 224, 225, 226, 283, 284, 285 286, 287, 288, 289 o 290 per al massimo 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 o 1 sostituzione, addizione o delezione di amminoacido; (iii) differisce da SEQ ID NO:223, 224, 225, 226, 283, 284, 285 286, 287, 288, 289 o 290 per 1-5, 1-3, 1-2, 2-5, 3-5, 1-10 o 5-10 sostituzioni, addizioni o delezioni di amminoacido, e/o (iv) comprende una sequenza di amminoacidi che è almeno circa 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% identica a SEQ ID NO:223, 224, 225, 226, 283, 284, 285 286, 287, 288, 289 o 290, in cui, in uno qualsiasi di (i)-(iv), una sostituzione di amminoacido può essere una sostituzione di amminoacido conservativa o una sostituzione di amminoacido non conservativa; e in cui la regione costante di catena pesante modificata conferisce un'attività da agonista potenziata rispetto a quella conferita da un'altra regione costante di catena pesante, ad esempio rispetto a quella conferita da una regione costante di catena pesante che comprende una cerniera non IgG2, o rispetto a quella conferita dalla stessa regione di catena pesante modificata che comprende una cerniera non IgG2.

Le regioni costanti di catena pesante modificate possono avere (i) una funzione effettrice (ad esempio una capacità di legame a FcγR) che è simile, ridotta o aumentata rispetto a quella di una regione costante di catena pesante di tipo selvatico, e/o (ii) un'emivita (o una capacità di legame al recettore FcRn) che è simile, ridotta o aumentata rispetto a quella di una regione costante di catena pesante di tipo selvatico.

III. Anticorpi aventi particolari sequenze della linea germinale

In certe forme esecutive, un anticorpo anti-GITR comprende una regione variabile di catena pesante di un particolare gene immunoglobulinico di catena pesante della linea germinale e/o una regione variabile di catena leggera di un particolare gene immunoglobulinico di catena leggera della linea germinale.

Come qui dimostrato, sono stati preparati anticorpi umani specifici per GITR comprendenti una regione variabile di catena pesante che è il prodotto di o che deriva da un gene VH 3-33, un gene VH 3-10, un gene VH 3-15, un gene VH 3-16, un gene VH JH6b, un gene VH 6-19, un gene VH 4-34 e/o un gene VH JH3b della linea germinale. Di conseguenza, qui vengono forniti anticorpi monoclonali isolati, o loro porzioni leganti l'antigene, comprendenti un regione variabile di catena pesante che è il prodotto di o che deriva da un gene VH della linea germinale umana selezionato dal gruppo costituito da: VH 3-33, VH 3-10, VH 3-15, VH 3-16, VH JH6b, VH 6-19, VH 4-34 e/o VH JH3b.

Sono stati preparati anticorpi umani specifici per GITR comprendenti una regione variabile di catena leggera che è il prodotto di o che deriva da un gene VK L6, un gene VK L18, un gene VK L15, un gene VK L20, un gene VK A27, un gene VK JK5, un gene VK JK4, un gene VK JK2 e un gene VK JK1 della linea germinale. Di conseguenza, qui vengono forniti anticorpi monoclonali isolati, o loro porzioni leganti l'antigene, comprendenti un regione variabile di catena leggera che è il prodotto di o che deriva da un gene VK della linea germinale umana selezionato dal gruppo costituito da: VK L6, VK L18, VK L15, VK L20, VK A27, VK JK5, VK JK4, VK JK2 e VK JK1.

Gli anticorpi preferiti qui descritti sono quelli comprendenti una regione variabile di catena pesante che è il prodotto di o che deriva da uno dei geni VH della linea germinale umana elencati sopra e comprendenti inoltre una regione variabile di catena leggera che è il prodotto di o che deriva da uno dei geni VK della linea germinale umana elencati sopra, come mostrato nella Figure 2-11.

Nel presente contesto, un anticorpo umano comprende regioni variabili di catena pesante o leggera che sono "il prodotto di" o che "derivano da" una particolare sequenza della linea germinale se le regioni variabili dell'anticorpo vengono ottenute da un sistema che adopera geni immunoglobulinici della linea germinale umana. Tali sistemi prevedono di immunizzare un topo transgenico portatore di geni immunoglobulinici umani con l'antigene d'interesse, o prevedono di usare l'antigene d'interesse per eseguire lo screening di una libreria di geni immunoglobulinici umani esposti su fago. Un anticorpo umano che è "il prodotto di" o che "deriva da" una sequenza di un'immunoglobulina della linea germinale umana può essere identificato come tale confrontando la sequenza di amminoacidi dell'anticorpo umano con le sequenze di amminoacidi di immunoglobuline della linea germinale umana, e selezionando la sequenza

dell'immunoglobulina della linea germinale umana che più si avvicina alla sequenza dell'anticorpo umano in termini di sequenza (ad esempio, quella che mostra la più alta % di identità). Un anticorpo umano che è "il prodotto di" o che "deriva da" una sequenza di una particolare immunoglobulina della linea germinale umana può contenere differenze di amminoacido rispetto alla sequenza della linea germinale, ad esempio dovute a mutazioni somatiche naturali o all'introduzione intenzionale di mutazioni sito-dirette. Tuttavia, un anticorpo umano selezionato mostra tipicamente un'identità di almeno 90%, in termini di sequenza di amminoacidi, con una sequenza di amminoacidi codificata da un gene immunoglobulinico della linea germinale umana, e contiene residui di amminoacido che identificano l'anticorpo umano come umano rispetto alle sequenze di amminoacidi di immunoglobuline delle linee germinali di altre specie (ad esempio rispetto a sequenze della linea germinale del topo). In certi casi, un anticorpo umano può avere un'identità di almeno 95%, o anche di almeno 96%, 97%, 98% o 99%, in termini di sequenza di amminoacidi, con la sequenza di amminoacidi codificata dal gene immunoglobulinico della linea germinale. Tipicamente, un anticorpo umano derivato da una particolare sequenza della linea germinale umana mostrerà differenze di non più di 10 amminoacidi rispetto alla sequenza di amminoacidi codificata dal gene immunoglobulinico della linea germinale umana. In certi casi, l'anticorpo umano può mostrare non più di 5, o addirittura non più di 4, 3, 2 o 1 differenza di amminoacido rispetto alla sequenza di amminoacidi codificata dal gene immunoglobulinico della linea germinale.

IV. Anticorpi omologhi

Qui sono inclusi anticorpi aventi regioni variabili di catena pesante e leggera comprendenti sequenze di amminoacidi che sono omologhe alle sequenze di amminoacidi degli anticorpi preferiti qui descritti, e in cui gli anticorpi mantengono le proprietà funzionali desiderate degli anticorpi anti-GITR qui descritti.

Ad esempio, un anticorpo anti-GITR isolato, o una sua porzione legante l'antigene, può comprendere una regione variabile di catena pesante e una regione variabile di catena leggera, in cui:

(a) la regione variabile di catena pesante comprende una sequenza di amminoacidi che è almeno 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% identica ad una sequenza di amminoacidi selezionata dal gruppo costituito da SEQ ID NO:13, 26, 39, 52, 71, 84, 97, 115, 128 e 335, o comprende 1, 2, 3, 4, 5, 1-2, 1-3, 1-4, 1-5, 1-10, 1-15, 1-20, 1-25 o 1-50 cambiamenti di amminoacido (ovvero sostituzioni, addizioni o delezioni di amminoacido)

rispetto ad una sequenza di amminoacidi selezionata dal gruppo costituito da SEQ ID NO:13, 26, 39, 52, 71, 84, 97, 115, 128 e 335;

(b) la regione variabile di catena leggera comprende una sequenza di amminoacidi che è almeno 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% identica ad una sequenza di amminoacidi selezionata dal gruppo costituito da SEQ ID NO:14, 27, 40, 53, 54, 72, 85, 98, 99, 116, 129, 130 e 336, o comprende 1, 2, 3, 4, 5, 1-2, 1-3, 1-4, 1-5, 1-10, 1-15, 1-20, 1-25 o 1-50 cambiamenti di amminoacido (ovvero sostituzioni, addizioni o delezioni di amminoacido) rispetto ad una sequenza di amminoacidi selezionata dal gruppo costituito da SEQ ID NO:14, 27, 40, 53, 54, 72, 85, 98, 99, 116, 129, 130 e 336;

(c) l'anticorpo si lega specificatamente a GITR, e

(d) l'anticorpo mostra 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 o tutte le seguenti proprietà funzionali:

(1) la capacità di legarsi al GITR umano solubile, ad esempio con una K_D di 10 nM o meno (ad esempio da 0,01 nM a 10 nM), ad esempio come misurata via Biacore;

(2) la capacità di legarsi al GITR umano legato a membrana, ad esempio con una K_D di 1 nM o meno (ad esempio da 0,01 nM a 1 nM), ad esempio come misurata via Scatchard;

(3) la capacità di legarsi al GITR umano legato a membrana, ad esempio con una EC_{50} di 1 nM o meno (ad esempio da 0,01 nM a 1 nM), ad esempio come misurata via FACS;

(4) la capacità di legarsi al GITR di cynomolgus, ad esempio la capacità di legarsi al GITR di cynomolgus legato a membrana, ad esempio con una EC_{50} di 10 nM o meno (ad esempio da 0,01 nM a 10 nM), ad esempio come misurata via FACS;

(5) la capacità di indurre o potenziare l'attivazione delle cellule T, come in presenza di un CD3 impegnato (ad esempio in presenza di concentrazioni subottimali di un anti-CD3), come testimoniata da (i) una produzione aumentata di IL-2 e/o IFN-γ in cellule T che esprimono GITR, e/o (ii) una proliferazione potenziata delle cellule T;

(6) la capacità di indurre o potenziare l'attivazione delle cellule T senza richiedere una reticolazione multivalente;

(7) la capacità di inibire il legame di un ligando per GITR a GITR su cellule 3A9-hGITR, ad esempio con una EC_{50} di 1 μg/mL o meno come misurata via FACS;

(8) la capacità di inibire al massimo parzialmente il legame di un ligando per GITR a GITR su cellule T attivate;

(9) la capacità di legarsi ad un epitopo conformazionale sul GITR umano maturo (SEQ ID NO:4), ad esempio ad un epitopo discontinuo all'interno delle sequenze di amminoacidi PTGGPGCGPGRLLLGTGT (SEQ ID NO:217) e CRDYPGEE (SEQ ID NO:218);

(10) la capacità di legarsi sia ad un GITR umano non glicosilato che ad un GITR umano glicosilato con glicosilazione O-collegata o N-collegata;

(11) la capacità di mostrare un'attività da agonista senza legarsi ad un recettore per Fc, ma in cui il legame ad un recettore per Fc potenzia ulteriormente l'attività da agonista;

(12) la capacità di competere per il legame al GITR umano, in una delle due direzioni o in entrambe le direzioni, con 28F3, 3C3-1, 3C3-2, 2G6, 8A6, 9G7-1, 9G7-2, 14E3, 19H8-1, 19H8-2, 19D3, 18E10 e 6G10.

In varie forme esecutive, l'anticorpo può mostrare una o più, due o più, tre o più, quattro o più, cinque o più, sei o più, sette o più, otto o più, nove, dieci, undici o tutte le proprietà funzionali elencate sopra nei punti da (1) a (12). L'anticorpo può essere, ad esempio, un anticorpo umano, un anticorpo umanizzato o un anticorpo chimerico.

Un anticorpo anti-GITR isolato, o una sua porzione legante l'antigene, può comprendere una catena pesante e una catena leggera, in cui:

(a) la catena pesante comprende una sequenza di amminoacidi che è almeno 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% identica ad una sequenza di amminoacidi selezionata dal gruppo costituito da SEQ ID NO:15, 17, 18, 28, 30, 31, 41, 43, 44, 55, 58, 59, 73, 75, 76, 86, 88, 89, 100, 102, 103, 117, 119, 120, 131, 134, 135, 227-275, 337, 339, 340, 348-352, 361 e 362, o comprende 1, 2, 3, 4, 5, 1-2, 1-3, 1-4, 1-5, 1-10, 1-15, 1-20, 1-25 o 1-50 cambiamenti di amminoacido (ovvero sostituzioni, addizioni o delezioni di amminoacido) rispetto ad una sequenza di amminoacidi selezionata dal gruppo costituito da SEQ ID NO:15, 17, 18, 28, 30, 31, 41, 43, 44, 55,

58, 59, 73, 75, 76, 86, 88, 89, 100, 102, 103, 117, 119, 120, 131, 134, 135, 227-275, 337, 339, 340, 348-352, 361 e 362, posto che, in certe forme esecutive, se la sequenza è quella di una catena pesante senza funzione effettrice, le mutazioni che abrogano la funzione effettrice della catena pesante rimangono inalterate (nel senso che gli amminoacidi A234, E235, A237, S330 e S331 rimangono inalterati);

(b) la catena leggera comprende una sequenza di amminoacidi che è almeno 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% identica ad una sequenza di amminoacidi selezionata dal gruppo costituito da SEQ ID NO:16, 19, 29, 32, 42, 45, 56, 57, 60, 61, 74, 87, 90, 101, 104, 105, 118, 121, 132, 133, 136, 137, 338, 341 e 371, o comprende 1, 2, 3, 4, 5, 1-2, 1-3, 1-4, 1-5, 1-10, 1-15, 1-20, 1-25 o 1-50 cambiamenti di amminoacido (ovvero sostituzioni, addizioni o delezioni di amminoacido) rispetto ad una sequenza di amminoacidi selezionata dal gruppo costituito da SEQ ID NO:16, 19, 29, 32, 42, 45, 56, 57, 60, 61, 74, 87, 90, 101, 104, 105, 118, 121, 132, 133, 136, 137, 338, 341 e 371;

(c) l'anticorpo si lega specificatamente a GITR, e

(d) l'anticorpo mostra 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 o tutte le seguenti proprietà funzionali:

(1) la capacità di legarsi al GITR umano solubile, ad esempio con una K_D di 10 nM o meno (ad esempio da 0,01 nM a 10 nM), ad esempio come misurata via Biacore;

(2) la capacità di legarsi al GITR umano legato a membrana, ad esempio con una K_D di 1 nM o meno (ad esempio da 0,01 nM a 1 nM), ad esempio come misurata via Scatchard;

(3) la capacità di legarsi al GITR umano legato a membrana, ad esempio con una EC_{50} di 1 nM o meno (ad esempio da 0,01 nM a 1 nM), ad esempio come misurata via FACS;

(4) la capacità di legarsi al GITR di cynomolgus, ad esempio la capacità di legarsi al GITR di cynomolgus legato a membrana, ad esempio con una EC_{50} di 10 nM o meno (ad esempio da 0,01 nM a 10 nM), ad esempio come misurata via FACS;

(5) la capacità di indurre o potenziare l'attivazione delle cellule T, come in presenza di un CD3 impegnato (ad esempio in presenza di concentrazioni subottimali di un anti-CD3), come testimoniata da (i) una

produzione aumentata di IL-2 e/o IFN-γ in cellule T che esprimono GITR, e/o (ii) una proliferazione potenziata delle cellule T;

(6) la capacità di indurre o potenziare l'attivazione delle cellule T senza richiedere una reticolazione multivalente;

(7) la capacità di inibire il legame di un ligando per GITR a GITR su cellule 3A9-hGITR, ad esempio con una EC_{50} di 1 μg/mL o meno come misurata via FACS;

(8) la capacità di inibire al massimo parzialmente il legame di un ligando per GITR a GITR su cellule T attivate

(9) la capacità di legarsi ad un epitopo conformazionale sul GITR umano maturo (SEQ ID NO:4), ad esempio ad un epitopo discontinuo all'interno delle sequenze di amminoacidi PTGGPGCGPGRLLLGTGT (SEQ ID NO:217) e CRDYPGEE (SEQ ID NO:218);

(10) la capacità di legarsi sia ad un GITR umano non glicosilato che ad un GITR umano glicosilato con glicosilazione O-collegata o N-collegata

(11) la capacità di mostrare un'attività da agonista senza legarsi ad un recettore per Fc, ma in cui il legame ad un recettore per Fc potenzia ulteriormente l'attività da agonista; e

(12) la capacità di competere per il legame al GITR umano, in una delle due direzioni o in entrambe le direzioni, con 28F3, 3C3-1, 3C3-2, 2G6, 8A6, 9G7-1, 9G7-2, 14E3, 19H8-1, 19H8-2, 19D3, 18E10 e 6G10.

Vengono anche forniti anticorpi anti-GITR comprendenti una VHCDR1, VHCDR2, VHCDR3, VLCDR1, VLCDR2 e/o VLCDR3 che differisce dalla corrispondente CDR di 28F3, 3C3-1, 3C3-2, 2G6, 8A6, 9G7-1, 9G7-2, 14E3, 19H8-1, 19H8-2, 19D3, 18E10 e/o 6G10 per 1, 2, 3, 4, 5, 1-2, 1-3, 1-4 o 1-5 cambiamenti di amminoacido (ovvero sostituzioni, addizioni o delezioni di amminoacido). Un anticorpo anti-GITR qui divulgato può comprendere 1-5 cambiamenti di amminoacido in ciascuna di 1, 2, 3, 4, 5 o 6 CDR rispetto alla corrispondente sequenza in 28F3, 3C3-1, 3C3-2, 2G6, 8A6, 9G7-1, 9G7-2, 14E3, 19H8-1, 19H8-2, 19D3, 18E10 e/o 6G10. Un anticorpo anti-GITR qui

divulgato può comprendere un totale di 1-5 cambiamenti di amminoacido attraverso tutte le CDR rispetto alle CDR nella 28F3, 3C3-1, 3C3-2, 2G6, 8A6, 9G7-1, 9G7-2, 14E3, 19H8-1, 19H8-2, 19D3, 18E10 e/o 6G10.

Un anticorpo anti-GITR qui divulgato può comprendere CDR di VH e VL che sono costituite da quelle di 28F3, in cui uno o più degli amminoacidi in una o più CDR sono quelli di uno degli altri anticorpi anti-GITR qui divulgati.

Ad esempio, un anticorpo anti-GITR comprende una VHCDR1 comprendente una o più modifiche di amminoacido rispetto a SYGMH (SEQ ID NO:20) e, ad esempio, può comprendere una delle seguenti sequenze degenerate:

SYGXH (SEQ ID NO:372), in cui X è un amminoacido qualsiasi, ad esempio M o F;

X_1YGX_2H, in cui X_1 è un amminoacido qualsiasi, ad esempio S, N o D; e X_2 è un amminoacido qualsiasi, ad esempio M o F; e

$X_1YGX_2X_3$, in cui X_1 è un amminoacido qualsiasi, ad esempio S, N o D; X_2 è un amminoacido qualsiasi, ad esempio M o F, e X_3 è un amminoacido qualsiasi, ad esempio H o Q.

In certe forme esecutive, un anticorpo anti-GITR comprende una VHCDR2 comprendente una o più modifiche di amminoacido rispetto a VIWYEGSNKYYADSVKG (SEQ ID NO:21) e può comprendere una delle seguenti sequenze degenerate:

$VIWYX_1GSNKX_2YADSVKG$ (SEQ ID NO:373), in cui X_1 è un amminoacido qualsiasi, ad esempio E o A; e X_2 è un amminoacido qualsiasi, ad esempio Y o F; e

$VIWYX_1GSNKX_2YX_3DSVKG$ (SEQ ID NO:374), in cui X_1 è un amminoacido qualsiasi, ad esempio E, A, G o D; X_2 è un amminoacido qualsiasi, ad esempio Y o F; e X_3 è un amminoacido qualsiasi, ad esempio A o V.

In certe forme esecutive, un anticorpo anti-GITR comprende una VHCDR3 comprendente una o più modifiche di amminoacido rispetto a GGSMVRGDYYYGMDV (SEQ ID NO:22) e, ad esempio, può comprendere una delle seguenti sequenze degenerate:

$GGSX_1VRGDYYYGMDV$ (SEQ ID NO:375), in cui X_1 è un amminoacido qualsiasi, ad esempio M o V, L, I o A.

GGSX$_1$VRGX$_2$YYYGMDV (SEQ ID NO:376), in cui X$_1$ è un amminoacido qualsiasi, ad esempio M o V, L, I o A; e X$_2$ è un amminoacido qualsiasi, ad esempio D o E. Gli Esempi riportano particolari combinazioni di X$_1$ e X$_2$.

GG (6-7aa) MDVWYYX$_1$MDVW (SEQ ID NO:377), in cui X$_1$ è un amminoacido qualsiasi, ad esempio G, S o V. In certe forme esecutive, i 6-7 amminoacidi corrispondono agli amminoacidi in quelle posizioni in una sequenza di VHCDR3 di un anticorpo anti-GITR qui divulgato.

In certe forme esecutive, un anticorpo anti-GITR comprende una VLCDR1 comprendente una o più modifiche di amminoacido rispetto a RASQGISSALA (SEQ ID NO:23) e, ad esempio, può comprendere una delle seguenti sequenze degenerate:

RASQGISSXLA (SEQ ID NO:378), in cui X è un amminoacido qualsiasi, ad esempio A o W (o A, W o Y); e

RASQG (2-3 aa) SX$_1$LA (SEQ ID NO:379), in cui X$_1$ è un amminoacido qualsiasi, ad esempio W, Y o A, e i 2-3 amminoacidi sono amminoacidi qualsiasi, ad esempio GI, SVS o SVT.

In certe forme esecutive, un anticorpo anti-GITR comprende una VLCDR2 comprendente una o più modifiche di amminoacido rispetto a DASSLES (SEQ ID NO:24) e, ad esempio, può comprendere una delle seguenti sequenze degenerate:

DASSLXS (SEQ ID NO:380), in cui X è un amminoacido qualsiasi, ad esempio E o Q; e

X$_1$ASSX$_2$X$_3$X$_4$, in cui X$_1$ è un amminoacido qualsiasi, ad esempio A, D o G; X$_4$ è un amminoacido qualsiasi, ad esempio L o R; X$_3$ è un amminoacido qualsiasi, ad esempio Q, E o A; e X$_4$ è un amminoacido qualsiasi, ad esempio S o T.

In certe forme esecutive, un anticorpo anti-GITR comprende una VLCDR3 comprendente una o più modifiche di amminoacido rispetto a QQFNSYPYT (SEQ ID NO:25) e, ad esempio, può comprendere una delle seguenti sequenze degenerate:

QQXNSYPYT (SEQ ID NO:381), in cui X è un amminoacido qualsiasi, ad esempio F o Y; e

$QQX_1X_2SX_3PX_4T$ (SEQ ID NO:382), in cui X_1 è un amminoacido qualsiasi, ad esempio F o Y; X_2 è un amminoacido qualsiasi, ad esempio N o G; X_3 è un amminoacido qualsiasi, ad esempio Y o S; e X_4 è un amminoacido qualsiasi, ad esempio Y, W, I, P o Q.

Gli anticorpi aventi sequenze con omologia a quelle di 28F3, 3C3, 2G6, 8A6, 9G7, 14E3, 19H8, 19D3, 18E10 e/o 6G10, ad esempio con le regioni V_H e V_L rispettivamente di SEQ ID NO:13, 26, 39, 52, 71, 84, 97, 115, 128 e 335 e rispettivamente di SEQ ID NO:14, 27, 40, 53, 54, 72, 85, 98, 99, 116, 129, 130 e 336, o con le catene pesanti e leggere rispettivamente di SEQ ID NO:15, 17, 18, 28, 30, 31, 41, 43, 44, 55, 58, 59, 73, 75, 76, 86, 88, 89, 100, 102, 103, 117, 119, 120, 131, 134, 135 e 337 e di SEQ ID NO:16, 19, 29, 32, 42, 45, 56, 60, 61, 74, 87, 90, 101, 104, 105, 118, 121, 132, 133, 136, 137 e 338, o con le CDR, possono essere ottenuti tramite mutagenesi (ad esempio mutagenesi sito-diretta o PCR-mediata) di molecole di acido nucleico codificanti per SEQ ID NO:147, 154, 158, 162, 168, 172, 176, 182, 186, 353 e/o SEQ ID NO:148, 155, 159, 163, 164, 169, 173, 177, 178, 183, 187, 188, 354 o SEQ ID NO:149, 151, 152, 156, 160, 165, 170, 174, 179, 184, 189, 355 e/o SEQ ID NO:150, 153, 157, 161, 166, 171, 175, 180, 185, 190, 191, 356, con tali anticorpi alterati codificati che possono essere poi esaminati usando i saggi funzionali qui descritti per determinare se essi mantengono certe funzioni (ad esempio le funzioni riportate sopra nei punti da (1) a (12)).

V. Anticorpi con modifiche conservative

Un anticorpo anti-GITR qui divulgato può comprendere una regione variabile di catena pesante comprendente sequenze di CDR1, CDR2 e CDR3 e una regione variabile di catena leggera comprendente sequenze di CDR1, CDR2 e CDR3, in cui una o più di queste sequenze di CDR comprendono sequenze di amminoacidi specificate che sono basate sugli anticorpi preferiti qui descritti (ad esempio 28F3, 19D3, 18E10, 3C3, 2G6, 8A6, 9G7, 14E3, 19H8 e 6G10), o loro modifiche conservative, e in cui gli anticorpi mantengono le proprietà funzionali desiderate degli anticorpi anti-GITR qui descritti. Pertanto, un anticorpo anti-GITR isolato, o una sua porzione legante l'antigene, può comprendere una regione variabile di catena pesante comprendente sequenze di CDR1, CDR2 e CDR3 e una regione variabile di catena leggera comprendente sequenze di CDR1, CDR2 e CDR3, in cui:

(a) la sequenza di CDR3 di regione variabile di catena pesante comprende una sequenza di amminoacidi selezionata dal gruppo costituito dalle sequenze di amminoacidi di SEQ ID NO:22, 35, 48, 64, 80, 93, 108, 124,

140 e 344, e loro modifiche conservative, ad esempio 1, 2, 3, 4, 5, 1-2, 1-3, 1-4 o 1-5 sostituzioni di amminoacido conservative;

(b) la sequenza di CDR3 di regione variabile di catena leggera comprende una sequenza di amminoacidi selezionata dal gruppo costituito dalla sequenza di amminoacidi di SEQ ID NO:25, 38, 51, 67, 70, 83, 96, 111, 114, 127, 143, 146 e 347, e loro modifiche conservative, ad esempio 1, 2, 3, 4, 5, 1-2, 1-3, 1-4 o 1-5 sostituzioni di amminoacido conservative;

(c) l'anticorpo si lega specificatamente a GITR, e

(d) l'anticorpo mostra 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 o tutte le seguenti proprietà funzionali:

(1) la capacità di legarsi al GITR umano solubile, ad esempio con una K_D di 10 nM o meno (ad esempio da 0,01 nM a 10 nM), ad esempio come misurata via Biacore;

(2) la capacità di legarsi al GITR umano legato a membrana, ad esempio con una K_D di 1 nM o meno (ad esempio da 0,01 nM a 1 nM), ad esempio come misurata via Scatchard;

(3) la capacità di legarsi al GITR umano legato a membrana, ad esempio con una EC_{50} di 1 nM o meno (ad esempio da 0,01 nM a 1 nM), ad esempio come misurata via FACS;

(4) la capacità di legarsi al GITR di cynomolgus, ad esempio la capacità di legarsi al GITR di cynomolgus legato a membrana, ad esempio con una EC_{50} di 10 nM o meno (ad esempio da 0,01 nM a 10 nM), ad esempio come misurata via FACS;

(5) la capacità di indurre o potenziare l'attivazione delle cellule T, come in presenza di un CD3 impegnato (ad esempio in presenza di concentrazioni subottimali di un anti-CD3), come testimoniata da (i) una produzione aumentata di IL-2 e/o IFN-γ in cellule T che esprimono GITR, e/o (ii) una proliferazione potenziata delle cellule T;

(6) la capacità di indurre o potenziare l'attivazione delle cellule T senza richiedere una reticolazione multivalente;

(7) la capacità di inibire il legame di un ligando per GITR a GITR su cellule 3A9-hGITR, ad esempio con una EC_{50} di 1 μg/mL o meno come misurata via FACS;

(8) la capacità di inibire al massimo parzialmente il legame di un ligando per GITR a GITR su cellule T attivate;

(9) la capacità di legarsi ad un epitopo conformazionale sul GITR umano maturo (SEQ ID NO:4), ad esempio ad un epitopo discontinuo all'interno delle sequenze di amminoacidi PTGGPGCGPGRLLLGTGT (SEQ ID NO:217) e CRDYPGEE (SEQ ID NO:218);

(10) la capacità di legarsi sia ad un GITR umano non glicosilato che ad un GITR umano glicosilato con glicosilazione O-collegata o N-collegata;

(11) la capacità di mostrare un'attività da agonista senza legarsi ad un recettore per Fc, ma in cui il legame ad un recettore per Fc potenzia ulteriormente l'attività da agonista; e

(12) la capacità di competere per il legame al GITR umano, in una delle due direzioni o in entrambe le direzioni, con 28F3, 3C3-1, 3C3-2, 2G6, 8A6, 9G7-1, 9G7-2, 14E3, 19H8-1, 19H8-2, 19D3, 18E10 e/o 6G10.

In un aspetto qui divulgato, la sequenza di CDR2 di regione variabile di catena pesante comprende una sequenza di amminoacidi selezionata dal gruppo costituito dalle sequenze di amminoacidi di SEQ ID NO:21, 34, 47, 63, 79, 92, 107, 123, 139 e 343, e loro modifiche conservative, ad esempio 1, 2, 3, 4, 5, 1-2, 1-3, 1-4 o 1-5 sostituzioni di amminoacido conservative; e la sequenza di CDR2 di regione variabile di catena leggera comprende una sequenza di amminoacidi selezionata dal gruppo costituito dalle sequenze di amminoacidi di SEQ ID NO:24, 37, 50, 66, 69, 82, 95, 110, 113, 126, 142, 145 e 346, e loro modifiche conservative, ad esempio 1, 2, 3, 4, 5, 1-2, 1-3, 1-4 o 1-5 sostituzioni di amminoacido conservative. In un altro aspetto qui divulgato, la sequenza di CDR1 di regione variabile di catena pesante comprende una sequenza di amminoacidi selezionata dal gruppo costituito dalle sequenze di amminoacidi di SEQ ID NO:20, 33, 46, 62, 78, 91, 106, 122, 138 e 342, e loro modifiche conservative, ad esempio 1, 2, 3, 4, 5, 1-2, 1-3, 1-4 o 1-5 sostituzioni di amminoacido conservative; e la sequenza di CDR1 di regione variabile di catena leggera comprende una sequenza di amminoacidi selezionata dal gruppo costituito dalle sequenze di amminoacidi di SEQ ID NO:23, 36, 49, 65, 68, 81, 94, 109, 112, 125, 141, 144 e 345, e loro modifiche conservative, ad esempio 1, 2, 3, 4, 5, 1-2, 1-3, 1-4 o 1-5 sostituzioni di amminoacido conservative.

L'anticorpo può mostrare una o più, due o più, tre o più, quattro o più, cinque o più, sei o più, sette o più, otto o più, nove o tutte le proprietà funzionali elencate sopra nei punti da (1) a (12). Tali anticorpi possono comprendere, ad esempio, anticorpi umani, anticorpi umanizzati o anticorpi chimerici.

Le sostituzioni di amminoacido conservative possono anche essere realizzate in porzioni degli anticorpi diverse dalle CDR o in aggiunta alle CDR. Ad esempio, le modifiche di amminoacido conservative possono essere realizzate in una regione cornice o nella regione Fc. Una regione variabile o una catena pesante o leggera può comprendere 1, 2, 3, 4, 5, 1-2, 1-3, 1-4, 1-5, 1-10, 1-15, 1-20, 1-25 o 1-50 sostituzioni di amminoacido conservative rispetto alle sequenze qui fornite per gli anticorpi anti-GITR. In certe forme esecutive, un anticorpo anti-GITR comprende una combinazione di modifiche di amminoacido conservative e non conservative.

VI. Anticorpi che si legano allo stesso epitopo su GITR a cui si legano gli anticorpi qui descritti o che competono per il legame a GITR con gli anticorpi qui descritti

Vengono anche forniti anticorpi che competono per il legame a GITR con i particolari anticorpi anti-GITR qui descritti (ad esempio gli anticorpi 28F3, 19D3, 18E10, 3C3, 2G6, 8A6, 9G7, 14E3, 19H8 e 6G10). Tali anticorpi competitivi possono essere identificati in base alla loro capacità di inibire competitivamente il legame a GITR di uno o più degli anticorpi monoclonali 28F3, 19D3, 18E10, 3C3-1, 3C3-2, 2G6, 8A6, 9G7-1, 9G7-2, 14E3, 19H8-1, 19H8-2 e 6G10 in saggi di legame a GITR standard. Ad esempio, è possibile usare saggi ELISA standard o saggi ELISA competitivi che prevedono di immobilizzare una proteina GITR umana ricombinante sulla piastra, aggiungere varie concentrazioni di un primo anticorpo non marcato, lavare la piastra, aggiungere un secondo anticorpo marcato, e misurare la quantità di marcatore. Se la concentrazione crescente dell'anticorpo non marcato (primo anticorpo) (anche identificato come "anticorpo bloccante") inibisce il legame dell'anticorpo marcato (secondo anticorpo), si dice che il primo anticorpo inibisce il legame del secondo anticorpo al bersaglio sulla piastra, o si dice che il primo anticorpo compete con il secondo anticorpo per il legame. In aggiunta o in alternativa, per valutare la capacità di competizione degli anticorpi, è possibile usare un'analisi in BIAcore. La capacità di un anticorpo di test di inibire il legame di un anticorpo anti-GITR qui descritto a GITR dimostra che l'anticorpo di test è in grado di competere con l'anticorpo per il legame a GITR.

Di conseguenza, qui vengono forniti anticorpi anti-GITR che inibiscono il legame degli anticorpi anti-GITR qui descritti a GITR su cellule, ad esempio su cellule T attivate, di almeno 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100%, e/o il cui legame a GITR su cellule, ad esempio su cellule T attivate, viene inibito di almeno 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100%, ad esempio come misurato via ELISA o FACS, ad esempio usando il saggio descritto nel seguente paragrafo.

Un esperimento di competizione esemplificativo, ad esempio per determinare se un primo anticorpo blocca il legame di (ovvero "compete con") un secondo anticorpo, può essere condotto nel seguente modo: le cellule T umane attivate vengono preparate come segue: le cellule mononucleate di sangue periferico (PBMC) vengono isolate da sangue intero umano usando un gradiente di Ficoll, e vengono attivate con 10 µg/mL di fitoemoagglutinina (PHA-L) (USBiol n° P3370-30) e 200 IU/mL di IL-2 ricombinante (Peprotech n°200-02) per 3 giorni. Le cellule T attivate vengono risospese in tampone FACS (PBS con siero fetale bovino 5%) e seminate su una piastra a 96 pozzetti a 10^5 cellule per pozzetto porta-campione. Dopo averla messa su ghiaccio, la piastra viene caricata con un primo anticorpo non coniugato a concentrazioni nell'intervallo da 0 a 50 µg/mL (titolazione 3X partendo da una concentrazione massima di 50 µg/mL). Come controllo isotipico per il primo anticorpo, è possibile adoperare una IgG non correlata che viene aggiunta alle stesse concentrazioni (titolazione 3X partendo da una concentrazione massima di 50 µg/mL). È possibile includere un campione pre-incubato con 50 µg/mL di un secondo anticorpo non marcato come controllo positivo per il blocco completo (100% di inibizione), ed è possibile usare un campione senza anticorpo nell'incubazione primaria come controllo negativo (senza competizione; 0% di inibizione). Dopo 30 minuti di incubazione, viene aggiunto un secondo anticorpo marcato, ad esempio biotinilato, ad una concentrazione di 2 µg/mL per pozzetto senza lavaggio. I campioni vengono incubati per altri 30 minuti su ghiaccio. Gli anticorpi non legati vengono rimossi lavando le cellule con tampone FACS. Il secondo anticorpo marcato che è legato alle cellule viene rilevato con un agente che rileva il marcatore, ad esempio streptavidina marcata con PE (Invitrogen, catalogo n° S21388) per rivelare la biotina. I campioni vengono acquisiti su un flussocitometro FACSCalibur (BD, San Jose) e analizzati con il software Flowjo (Tree Star, Inc., Ashland, OR). I risultati possono essere rappresentati in termini di % di inibizione (ovvero sottraendo da 100% la

quantità di marcatore a ciascuna concentrazione diviso per la quantità di marcatore ottenuta in assenza dell'anticorpo bloccante). Tipicamente, lo stesso esperimento viene poi condotto al contrario, nel senso che il primo anticorpo diventa il secondo anticorpo e il secondo anticorpo diventa il primo anticorpo. In certe forme esecutive, un anticorpo blocca almeno parzialmente (ad esempio di almeno 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% o 90%) o completamente (100%) il legame dell'altro anticorpo al bersaglio, ad esempio al GITR umano o ad una sua porzione, a prescindere da quale sia l'anticorpo usato come primo anticorpo durante l'inibizione. Un primo e un secondo anticorpo "cross-bloccano" il legame l'uno dell'altro al bersaglio quando gli anticorpi competono l'uno con l'altro in entrambe le direzioni, ovvero sia in esperimenti di competizione in cui il primo anticorpo viene aggiunto per primo e sia in esperimenti di competizione in cui il secondo anticorpo viene aggiunto per primo. In certe forme esecutive, gli anticorpi anti-GITR si legano allo stesso epitopo a cui si legano gli anticorpi anti-GITR qui descritti (ad esempio gli anticorpi 28F3, 19D3, 18E10, 3C3-1, 3C3-2, 2G6, 8A6, 9G7-1, 9G7-2, 14E3, 19H8-1, 19H8-2 e 6G10), ad esempio come determinato attraverso una data tecnica di mappatura degli epitopi. Come qui discusso ulteriormente, l'anticorpo 28F3 si lega in una regione del GITR umano all'interno di QRPTGGPGCGPGRLLLGTGTDAR CCRVHTTRCCRDYPGE (SEQ ID NO:215).

Di conseguenza, in certe forme esecutive, un anticorpo anti-GITR si lega a residui di amminoacido che si trovano all'interno della regione QRPTGGPGCGPGRLLLGTGTDARCCRVHTTRCCRDYPGE (SEQ ID NO:215), che corrisponde ai residui di amminoacido 1-39 del GITR umano maturo (SEQ ID NO:4). In una forma esecutiva, l'anticorpo anti-GITR si lega a residui di amminoacido che si trovano all'interno della regione QRPTGGPGCGPGRLLLGTGT (SEQ ID NO:216) del GITR umano maturo. In una forma esecutiva, gli anticorpi anti-GITR qui descritti si legano a residui di amminoacido all'interno delle regioni PTGGPGCGPGRLLLGTGT (SEQ ID NO:217) e CRDYPGEE (SEQ ID NO:218) del GITR umano maturo. In certe forme esecutive, gli anticorpi anti-GITR si legano alle sequenze di amminoacidi PTGGPGCGPGRL LLGTGT (SEQ ID NO:217) e CRDYPGEE (SEQ ID NO:218) come determinato via HDX, ad esempio usando il protocollo esposto negli Esempi.

Le tecniche per determinare gli anticorpi che si legano allo "stesso epitopo su GITR" a cui si legano gli anticorpi qui descritti comprendono, ad esempio, metodi di mappatura degli epitopi come le analisi ai raggi X di cristalli

dei complessi antigene:anticorpo, che forniscono una risoluzione atomica dell'epitopo. Altri metodi monitorano il legame dell'anticorpo a frammenti di un antigene o a varianti mutate dell'antigene, in cui una perdita di legame dovuta alla modifica di un residuo di amminoacido all'interno della sequenza dell'antigene è spesso considerata un'indicazione di un componente epitopico. In aggiunta, la mappatura degli epitopi può anche essere ottenuta adoperando metodi combinatoriali computazionali. I metodi possono essere anche basati sulla capacità di un anticorpo d'interesse di isolare per affinità specifici peptidi corti (sia nella forma tridimensionale nativa che nella forma denaturata) da librerie combinatoriali di peptidi esposti su fago. I peptidi vengono dunque considerati "peptidi guida" per definire l'epitopo corrispondente all'anticorpo usato per sottoporre a screening la libreria di peptidi. Per la mappatura degli epitopi, sono stati anche sviluppati algoritmi di calcolo che si sono dimostrati in grado di mappare gli epitopi discontinui conformazionali.

Gli anticorpi che competono per il legame con gli anticorpi anti-GITR qui descritti, o che si legano allo stesso epitopo a cui si legano gli anticorpi anti-GITR qui descritti, possono essere identificati usando metodi noti nel ramo. Un esempio può prevedere di immunizzare topi con un GITR umano come qui descritto, produrre ibridomi, e sottoporre a screening gli anticorpi monoclonali risultanti per determinare la loro capacità di competere con un anticorpo qui descritto per il legame a GITR. I topi possono anche essere immunizzati con un frammento più piccolo di GITR che contiene l'epitopo a cui l'anticorpo si lega. Per localizzare l'epitopo o la regione comprendente l'epitopo, è ad esempio possibile sottoporre a screening il legame ad una serie di peptidi sovrapposti che abbracciano GITR. In alternativa, per guidare la selezione degli anticorpi aventi lo stesso epitopo di un anticorpo anti-GITR qui descritto e dunque proprietà simili a tale anticorpo, è possibile usare il metodo di Jespers et al., Biotechnology 12:899, 1994. L'uso dell'esposizione su fago prevede innanzitutto di appaiare la catena pesante dell'anticorpo anti-GITR con un repertorio di catene leggere (preferibilmente umane) allo scopo di selezionare un anticorpo legante GITR, e poi appaiare la nuova catena leggera con un repertorio di catene pesanti (preferibilmente umane) allo scopo di selezionare un anticorpo legante GITR (preferibilmente umano) avente lo stesso epitopo o la stessa regione epitopica di un anticorpo anti-GITR qui descritto. In alternativa, per ottenere varianti di un anticorpo qui descritto, è possibile mutagenizzare i cDNA codificanti per la catena pesante e la catena leggera dell'anticorpo.

Per determinare l'epitopo funzionale di un anticorpo anti-GITR, è anche possibile usare la mutagenesi a scansione con alanina come descritta da Cunningham e Wells (1989) Science 244:1081-1085, o qualche altra forma di mutagenesi puntiforme dei residui di amminoacido in GITR. Tuttavia, poiché gli studi di mutagenesi possono anche rivelare residui di amminoacido che sono cruciali per la struttura tridimensionale globale di GITR ma che non sono direttamente coinvolti nei contatti anticorpo-antigene, è possibile che insorga la necessità di usare altri metodi per confermare un epitopo funzionale determinato attraverso questo metodo.

L'epitopo o la regione epitopica (una "regione epitopica" è una regione che comprende l'epitopo o che si sovrappone all'epitopo) che viene legato/a da uno specifico anticorpo può anche essere determinato/a valutando il legame dell'anticorpo a peptidi comprendenti frammenti di GITR, ad esempio frammenti non denaturati o denaturati. Una possibilità prevede di sintetizzare una serie di peptidi sovrapposti che abbracciano la sequenza di un GITR (ad esempio il GITR umano) e sottoporli a screening per il legame, ad esempio in un ELISA diretto, un ELISA competitivo (che valuta la capacità di un peptide di impedire il legame di un anticorpo ad un GITR legato ad un pozzetto di una piastra di microtitolazione) o su un chip. Tali metodi di screening dei peptidi possono non essere in grado di rilevare alcuni epitopi funzionali discontinui, ovvero epitopi funzionali che coinvolgono residui di amminoacido non contigui lungo la sequenza primaria della catena polipeptidica di GITR.

Un epitopo può anche essere identificato tramite footprinting delle proteine basato su MS, ad esempio mediante spettrometria di massa con scambio idrogeno/deuterio (HDX-MS) e ossidazione fotochimica rapida delle proteine (FPOP). Ad esempio, la HDX-MS può essere condotta come ulteriormente descritto negli Esempi e in Wei et al., (2014) Drug Discovery Today 19:95. La FPOP può essere condotta come descritto, ad esempio, in Hambley e Gross, (2005) J. American Soc. Mass Spectrometry 16:2057.

L'epitopo legato dagli anticorpi anti-GITR può anche essere determinato attraverso metodi strutturali, ad esempio tramite determinazione della struttura cristallina ai raggi X (ad esempio WO2005/044853), modellazione molecolare e spettroscopia in risonanza magnetica nucleare (RMN), incluso attraverso la determinazione via RMN dei tassi di scambio H-D degli idrogeni ammidici labili in GITR quando libero e quando legato in un complesso con un

anticorpo d'interesse (Zinn-Justin et al., (1992) Biochemistry 31, 11335-11347; Zinn-Justin et al., (1993) Biochemistry 32, 6884-6891).

Con riferimento alla cristallografia ai raggi X, la cristallizzazione può essere ottenuta usando uno qualsiasi dei metodi noti nel ramo (ad esempio Giege et al., (1994) Acta Crystallogr. D50:339-350; McPherson, (1990) Eur. J. Biochem. 189:1-23), tra cui il microbatch (ad esempio Chayen, (1997) Structure 5:1269-1274), la diffusione di vapore a goccia pendente (ad esempio McPherson, (1976) J. Biol. Chem. 251:6300-6303), la semina e la dialisi. È desiderabile usare un preparato proteico avente una concentrazione di almeno circa 1 mg/mL e, preferibilmente, tra circa 10 mg/mL e circa 20 mg/mL. La cristallizzazione può essere ottenuta al meglio in un soluzione precipitante contenente un polietilenglicole di 1000-20.000 Da (PEG; peso molecolare medio nell'intervallo da circa 1000 a circa 20.000 Da), preferibilmente di circa 5000 - circa 7000 Da, più preferibilmente di circa 6000 Da, con concentrazioni nell'intervallo da circa 10% a circa 30% (p/v). Può anche essere desiderabile includere un agente di stabilizzazione proteica, ad esempio glicerolo, ad una concentrazione tra circa 0,5% e circa 20%. Può anche essere desiderabile che la soluzione precipitante comprenda un sale adatto, come cloruro di sodio, cloruro di litio o citrato di sodio, preferibilmente ad una concentrazione nell'intervallo da circa 1 mM a circa 1000 mM. Il precipitante è preferibilmente tamponato ad un pH da circa 3,0 a circa 5,0, preferibilmente di circa 4,0. Gli specifici tamponi utili nella soluzione precipitante possono variare e sono ben noti nel ramo (Scopes, Protein Purification: Principles and Practice, Terza Edizione, (1994) Springer-Verlag, New York). Esempi di tamponi utili comprendono, ma senza limitazioni, HEPES, Tris, MES e acetato. I cristalli possono essere fatti crescere in un ampio intervallo di temperature, tra cui 2°C, 4°C, 8°C e 26°C.

I cristalli di anticorpo:antigene possono essere studiati usando tecniche ben note di diffrazione dei raggi X, e possono essere raffinati usando software per computer, come X-PLOR (Yale University, 1992, distribuito da Molecular Simulations, Inc.; vedere ad esempio Blundell e Johnson, (1985) Meth. Enzymol. 114 & 115, redattori H. W. Wyckoff et al., Academic Press; pubblicazione di domanda di brevetto US 2004/0014194), e BUSTER (Bricogne, (1993) Acta Cryst. D49:37-60; Bricogne, (1997) Meth. Enzymol. 276A:361-423, redattori Carter e Sweet; Roversi et al., (2000) Acta Cryst. D56:1313-1323).

Gli anti-GITR anticorpi possono legarsi allo stesso epitopo a cui si lega uno qualsiasi degli anticorpi anti-GITR aventi le sequenze di amminoacidi qui descritte come determinato attraverso una tecnica di mappatura degli epitopi, ad esempio una tecnica qui descritta.

VII. Anticorpi ingegnerizzati e modificati

Regioni VH e VL

Vengono anche forniti anticorpi ingegnerizzati e modificati che possono essere preparati usando un anticorpo avente una o più delle sequenze di VH e/o VL qui divulgate come materiale di partenza per ingegnerizzare un anticorpo modificato, il quale anticorpo modificato può avere proprietà alterate rispetto all'anticorpo di partenza. L'ingegnerizzazione di un anticorpo può essere condotta modificando uno o più residui che si trovano all'interno di una o di entrambe le regioni variabili (ovvero V_H e/o V_L), ad esempio all'interno di una o più regioni CDR e/o all'interno di una o più regioni cornice. In aggiunta o in alternativa, l'ingegnerizzazione di un anticorpo può essere condotta modificando residui che si trovano all'interno della/delle regioni costanti, ad esempio allo scopo di alterare la/le funzioni effettrici dell'anticorpo.

Un tipo di ingegnerizzazione delle regioni variabili che può essere condotta è l'innesto delle CDR. Gli anticorpi interagiscono con gli antigeni bersaglio prevalentemente attraverso residui di amminoacido che si trovano nelle sei regioni determinanti la complementarietà (CDR) della catena pesante e della catena leggera. Per questo motivo, le sequenze di amminoacidi all'interno delle CDR sono più diversificate rispetto alle sequenze all'esterno delle CDR passando da un anticorpo all'altro. Poiché le sequenze di CDR sono responsabili della maggior parte delle interazioni anticorpo-antigene, l'espressione di anticorpi ricombinanti che mimano le proprietà di specifici anticorpi esistenti in natura può essere ottenuta costruendo vettori di espressione che comprendono sequenze di CDR dello specifico anticorpo esistente in natura innestate su sequenze cornice di un anticorpo differente con proprietà differenti (vedere ad esempio Riechmann L. et al., (1998) Nature 332:323-327; Jones P. et al., (1986) Nature 321:522-525; Queen C. et al., (1989) Proc. Nat'l Acad. U.S.A. 86:10029-10033; il brevetto US 5.225.539 di Winter, e i brevetti US 5.530.101; US 5.585.089; US 5.693.762 e US 6.180.370 di Queen et al.).

Pertanto, un'altra forma esecutiva qui descritta riguarda un anticorpo monoclonale isolato, o una sua porzione legante l'antigene, che comprende una regione variabile di catena pesante comprendente sequenze di CDR1, CDR2 e CDR3 che comprendono una sequenza di amminoacidi rispettivamente selezionata dal gruppo costituito da SEQ ID NO:20, 33, 46, 62, 78, 91, 106, 122, 138 e 342, SEQ ID NO:21, 34, 47, 63, 79, 92, 107, 123, 139 e 343, e SEQ ID NO:22, 35, 48, 64, 80, 93, 108, 124, 140 e 344, e una regione variabile di catena leggera comprendente sequenze di CDR1, CDR2 e CDR3 che comprendono una sequenza di amminoacidi rispettivamente selezionata dal gruppo costituito da SEQ ID NO:23, 36, 49, 65, 68, 81, 94, 109, 112, 125, 141, 144 e 345, SEQ ID NO:24, 37, 50, 66, 69, 82, 95, 110, 113, 126, 142, 145 e 346, e SEQ ID NO:25, 38, 51, 67, 70, 83, 96, 111, 114, 127, 143, 146 e 347. Segnatamente, tali anticorpi che contengono le sequenze di CDR di V_H e V_L degli anticorpi monoclonali 28F3, 19D3, 18E10, 3C3-1, 3C3-2, 2G6, 8A6, 9G7-1, 9G7-2, 14E3, 19H8-1, 19H8-2 e 6G10, possono comunque contenere sequenze cornice che sono differenti da quelle di questi anticorpi.

Tali sequenze cornice possono essere ottenute da banche dati pubbliche di DNA o da riferimenti pubblicati che comprendono sequenze di geni per anticorpi della linea germinale. Ad esempio, le sequenze di DNA della linea germinale per i geni umani di regione variabile di catena pesante e catena leggera possono essere trovate nella banca dati di sequenze della linea germinale umana "VBase" (disponibile su Internet all'indirizzo www.mrc-cpe.cam.ac.uk/vbase), e possono anche essere trovate in Kabat E. A. et al., (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Quinta Edizione, Dipartimento della salute e dei servizi umani degli Stati Uniti, Pubblicazione NIH n° 91-3242; Tomlinson I. M. et al., (1992) "The Repertoire of Human Germline VH Sequences Reveals about Fifty Groups of VH Segments with Different Hypervariable Loops", J. Mol. Biol. 227:776-798; e Cox J. P. L. et al., (1994) "A Directory of Human Germ-line VH Segments Reveals a Strong Bias in their Usage", Eur. J. Immunol. 24:827-836.

Le sequenze cornice preferite per l'uso negli anticorpi qui descritti sono quelle che sono strutturalmente simili alle sequenze cornice usate dagli anticorpi qui descritti. Le sequenze di CDR1, 2 e 3 di V_H e le sequenze di CDR1, 2 e 3 di V_L possono essere innestate su regioni cornice che hanno una sequenza identica a quella trovata nel gene immunoglobulinico della linea germinale da cui la sequenza di cornice deriva, o le sequenze di CDR possono essere innestate su regioni cornice che contengono una o più mutazioni rispetto alle sequenze della linea germinale. Ad

esempio, è stato scoperto che, in certi casi, è vantaggioso mutare dei residui all'interno delle regioni cornice in modo da preservare o migliorare la capacità di legame dell'anticorpo all'antigene (vedere ad esempio i brevetti US 5.530.101; US 5.585.089; US 5.693.762 e US 6.180.370 di Queen et al).

Gli anticorpi ingegnerizzati qui descritti comprendono quelli in cui le modifiche sono state apportate a residui cornice all'interno della V_H e/o della V_L, ad esempio per migliorare le proprietà dell'anticorpo. Tipicamente, tali modifiche nella cornice vengono effettuate allo scopo di ridurre l'immunogenicità dell'anticorpo. Ad esempio, un approccio prevede di "retromutare" uno o più residui di cornice alla corrispondente sequenza della linea germinale. Più nello specifico, un anticorpo che è andato incontro a mutazione somatica può contenere residui cornice che differiscono da quelli della sequenza della linea germinale da cui l'anticorpo è stato derivato. Tali residui possono essere identificati confrontando le sequenze cornice dell'anticorpo con le sequenze della linea germinale da cui l'anticorpo è stato derivato. Per riportare le sequenze di regione cornice alla loro configurazione esistente nella linea germinale, le mutazioni somatiche possono essere "retro-mutate" alla sequenza germinale, ad esempio attraverso una mutagenesi sito-diretta o una mutagenesi PCR-mediata. Anche tali anticorpi "retro-mutati" vanno inclusi. Un altro tipo di modifica nella regione cornice prevede di mutare uno o più residui all'interno della regione cornice, o addirittura all'interno di una o più regioni CDR, allo scopo di rimuovere gli epitopi per le cellule T e dunque ridurre il potenziale immunogenico dell'anticorpo. Questo approccio è anche identificato come "deimmunizzazione", ed è descritto in ulteriore dettaglio nella pubblicazione di brevetto US 20030153043 di Carr et al.

Un altro tipo di modifica della regione variabile prevede di mutare dei residui di amminoacido all'interno delle regioni CDR1, CDR2 e/o CDR3 della V_H e/o della V_L allo scopo di migliorare una o più proprietà di legame (ad esempio l'affinità) dell'anticorpo d'interesse. L'introduzione della/delle mutazioni può essere ottenuta mediante mutagenesi sito-diretta o mutagenesi PCR-mediata, e l'effetto sul legame dell'anticorpo, o su altra proprietà funzionale d'interesse, può essere valutato in vitro o in vivo come qui descritto e fornito nella Esempi. Preferibilmente, le modifiche introdotte sono modifiche conservative (come discusso sopra). Le mutazioni possono essere sostituzioni, addizioni o delezioni di amminoacido, ma sono preferibilmente sostituzioni. Inoltre, tipicamente, il numero di residui che vengono alterati all'interno di una regione di CDR è non maggiore di uno, due, tre, quattro o cinque residui.

Di conseguenza, vengono anche forniti anticorpi monoclonali anti-GITR isolati, o loro porzioni leganti l'antigene, che comprendono una regione variabile di catena pesante comprendente: (a) una regione CDR1 di V_H comprendente una sequenza di amminoacidi selezionata dal gruppo costituito da SEQ ID NO:20, 33, 46, 62, 78, 91, 106, 122, 138 e 342, o una sequenza di amminoacidi avente una, due, tre, quattro o cinque sostituzioni, delezioni o addizioni di amminoacido rispetto a SEQ ID NO:20, 33, 46, 62, 78, 91, 106, 122, 138 e 342; (b) una regione CDR2 di V_H comprendente una sequenza di amminoacidi selezionata dal gruppo costituito da SEQ ID NO:21, 34, 47, 63, 79, 92, 107, 123, 139 e 343, o una sequenza di amminoacidi avente una, due, tre, quattro o cinque sostituzioni, delezioni o addizioni di amminoacido rispetto a SEQ ID NO:21, 34, 47, 63, 79, 92, 107, 123, 139 e 343; (c) una regione CDR3 di V_H comprendente una sequenza di amminoacidi selezionata dal gruppo costituito da SEQ ID NO:22, 35, 48, 64, 80, 93, 108, 124, 140 e 344, o una sequenza di amminoacidi avente una, due, tre, quattro o cinque sostituzioni, delezioni o addizioni di amminoacido rispetto a SEQ ID NO:22, 35, 48, 64, 80, 93, 108, 124, 140 e 344; (d) una regione CDR1 di V_L comprendente una sequenza di amminoacidi selezionata dal gruppo costituito da SEQ ID NO:23, 36, 49, 65, 68, 81, 94, 109, 112, 125, 141, 144 e 345, o una sequenza di amminoacidi avente una, due, tre, quattro o cinque sostituzioni, delezioni o addizioni di amminoacido rispetto a SEQ ID NO:23, 36, 49, 65, 68, 81, 94, 109, 112, 125, 141, 144 e 345; (e) una regione CDR2 di V_L comprendente una sequenza di amminoacidi selezionata dal gruppo costituito da SEQ ID NO:24, 37, 50, 66, 69, 82, 95, 110, 113, 126, 142, 145 e 346, o una sequenza di amminoacidi avente una, due, tre, quattro o cinque sostituzioni, delezioni o addizioni di amminoacido rispetto a SEQ ID NO:24, 37, 50, 66, 69, 82, 95, 110, 113, 126, 142, 145 e 346; e (f) una regione CDR3 di V_L comprendente una sequenza di amminoacidi selezionata dal gruppo costituito da SEQ ID NO:25, 38, 51, 67, 70, 83, 96, 111, 114, 127, 143, 146 e 347, o una sequenza di amminoacidi avente una, due, tre, quattro o cinque sostituzioni, delezioni o addizioni di amminoacido rispetto a SEQ ID NO:25, 38, 51, 67, 70, 83, 96, 111, 114, 127, 143, 146 e 347.

I residui di metionina nelle CDR degli anticorpi possono ossidarsi, con il rischio di degradare chimicamente l'anticorpo e dunque ridurne la potenza. Di conseguenza, vengono anche forniti anticorpi anti-GITR in cui uno o più residui di metionina nelle CDR di catena pesante e/o catena leggera sono sostituiti con residui di amminoacido che non

vanno incontro a degradazione ossidativa. I residui di metionina nelle CDR degli anticorpi 28F3, 18E10, 19D3 e 6G10 possono essere sostituiti con residui di amminoacido che non vanno incontro a degradazione ossidativa.

In maniera simile, è possibile rimuovere i siti di deammidazione dagli anticorpi anti-GITR, in particolare dalle CDR.

Fc ed Fc modificati

Le regioni variabili anti-GITR qui descritte possono essere collegate (ad esempio collegate covalentemente o fuse) ad un Fc, ad esempio ad un Fc IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4, che può essere di qualsiasi allotipo o isoallotipo, ad esempio per IgG1: G1m, G1m1(a), G1m2(x), G1m3(f), G1m17(z); per IgG2: G2m, G2m23(n); per IgG3: G3m, G3m21(g1), G3m28(g5), G3m11(b0), G3m5(b1), G3m13(b3), G3m14(b4), G3m10(b5), G3m15(s), G3m16(t), G3m6(c3), G3m24(c5), G3m26(u), G3m27(v); e per K: Km, Km1, Km2, Km3 (vedere ad esempio Jefferies et al. (2009) mAbs 1:1).

In certe forme esecutive, le regioni variabili anti-GITR qui descritte sono collegate ad un Fc che si lega ad uno o più recettori per Fc attivanti (FcγI, FcγIIa o FcγIIIa) in modo da stimolare la ADCC e causare potenzialmente una deplezione delle cellule T. In certe forme esecutive, le regioni variabili anti-GITR qui descritte sono collegate ad un Fc che causa deplezione. Come ulteriormente descritto negli Esempi (Esempi 16 e 17), gli isotipi IgG2a di topo e IgG2b di ratto (quest'ultimo essendo equivalente ad una IgG2a di topo in termini di legame agli FcR attivanti murini) inducevano il più alto grado di inibizione della crescita tumorale in diversi modelli murini di tumore. Gli isotipi anti-GITR mG2a, mG2b e rG2b avevano un effetto modesto o inducevano piccoli aumenti delle popolazioni di Treg nella periferia, mentre inducevano una significativa deplezione delle Treg nell'ambiente del tumore che era correlata ad un'inibizione della crescita del tumore. Viceversa, l'isotipo mIgG2a induceva un aumento della percentuale di cellule CD8+ nel sito del tumore, mentre gli isotipi mIgG1 e IgG2b di ratto non inducevano alcun aumento o inducevano un aumento solo marginale della percentuale di cellule CD8+. Di conseguenza, le regioni variabili anti-GITR qui descritte sono collegate ad un Fc IgG1 o IgG3 umano, nel senso che gli anticorpi sono di isotipo IgG1 o IgG3. In certe forme esecutive, gli anticorpi anti-GITR sono anticorpi depletanti, in particolare, essi depletano le cellule T_{reg} che si trovano nel microambiente di un tumore (e dunque potenziano l'attività antitumorale) senza tuttavia depletare significativamente le

cellule T_{eff} che si trovano nel microambiente del tumore e che mediano l'effetto antitumorale, e/o senza depletare significativamente le cellule T_{reg} e T_{eff} che si trovano all'esterno del tumore, ad esempio in periferia. In certe forme esecutive, gli anticorpi anti-GITR sono di un isotipo (sia esistente in natura che non esistente in natura (ad esempio comprendente una o più mutazioni)) che stimola la deplezione o l'eliminazione delle cellule T_{reg} nel sito di un tumore e la concomitante attivazione delle cellule T_{eff}. In certe forme esecutive, gli anticorpi anti-GITR producono un rapporto T_{eff}:T_{reg} elevato nel sito di un tumore, che è indicativo di una potente attività antitumorale, preferibilmente senza depletare significativamente le cellule T_{reg} e T_{eff} che si trovano all'esterno del tumore, ad esempio in periferia. In certe forme esecutive, gli anticorpi anti-GITR bloccano l'attività immunosoppressiva delle Treg. In certe forme esecutive, gli anticorpi anti-GITR hanno un Fc senza capacità di legame a FcR o con una capacità ridotta di legame a FcR, ad esempio con una capacità ridotta di legame a FcR attivanti. In certe forme esecutive, gli anticorpi anti-GITR hanno un Fc che si lega a FcRIIb o che mostra un legame potenziato a FcRIIb, permettendo così di potenziare l'agonismo.

In certe forme esecutive, la capacità di un anticorpo anti-GITR di intensificare una risposta immunitaria endogena viene potenziata, ottimizzata o massimizzata attraverso un metodo che prevede di selezionare, progettare o modificare la regione Fc dell'anticorpo in modo da potenziare il legame di detta regione Fc ad un recettore per Fc attivante. In una forma esecutiva, l'anticorpo anti-GITR è TRX-518.

In certe forme esecutive, le regioni variabili anti-GITR qui descritte sono collegate ad un Fc senza funzione effettrice o per lo più senza funzione effettrice, ad esempio di isotipo IgG2 o IgG4.

Le regioni variabili anti-GITR qui descritte possono essere collegate ad una regione Fc non esistente in natura, ad esempio un Fc senza funzione effettrice o un Fc con capacità potenziata di legame ad uno o più recettori per Fc attivanti (FcγI, FcγIIa o FcγIIIa), ad esempio per potenziare la deplezione delle T_{reg} nel microambiente di un tumore.

Generalmente, le regioni variabili qui descritte possono essere collegate ad una Fc comprendente una o più modifiche che, tipicamente, servono ad alterare una o più proprietà funzionali dell'anticorpo, come l'emivita nel siero, la fissazione del complemento, il legame ai recettori per Fc e/o la citotossicità cellulare antigene-dipendente. Inoltre, per alterare una o più proprietà funzionali dell'anticorpo, un anticorpo qui descritto può essere chimicamente modificato (ad esempio attaccando una o più porzioni chimiche all'anticorpo) o può essere modificato in modo da alterare la sua

glicosilazione. Ciascuna di queste forme esecutive viene descritta sotto in maggiore dettaglio. La numerazione dei residui nella regione Fc è quella dell'indice EU di Kabat.

La regione Fc comprende domini derivati dalla regione costante di un'immunoglobulina, preferibilmente un'immunoglobulina umana, tra cui un frammento, un analogo, una variante, un mutante o un derivato della regione costante. Le immunoglobuline adatte comprendono IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 e altre classi, come IgA, IgD, IgE e IgM. La regione costante di un'immunoglobulina è definita come un polipeptide esistente in natura o sinteticamente prodotto che è omologo alla regione C-terminale di un'immunoglobulina, e può comprendere un dominio CH1, una cerniera, un dominio CH2, un dominio CH3 o un dominio CH4, separatamente o in combinazione.

La regione costante di un'immunoglobulina è responsabile di molte funzioni importanti di un anticorpo, tra cui il legame ai recettori per Fc (FcR) e la fissazione del complemento. Esistono cinque classi principali di regione costante di catena pesante, classificate come IgA, IgG, IgD, IgE, IgM, ciascuna con funzioni effettrici caratteristiche che sono dettate dall'isotipo. Ad esempio, la classe IgG si articola in quattro sottoclassi note come IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4,

Le molecole Ig interagiscono con molteplici classi di recettori cellulari. Ad esempio, le molecole IgG interagiscono con tre classi di recettori per Fcγ (FcγR) che sono specifici per la classe di anticorpi IgG, vale a dire FcγRI, FcγRII ed FcγRIII. È stato riportato che le sequenze importanti per il legame delle IgG ai recettori FcγR si trovano nei domini CH2 e CH3. L'emivita nel siero di un anticorpo è influenzata dalla capacità di quell'anticorpo di legarsi ad un recettore per Fc (FcR).

In certe forme esecutive, la regione Fc è una regione Fc variante, ad esempio una sequenza Fc che è stata modificata (ad esempio mediante sostituzione, delezione e/o inserzione di amminoacidi) rispetto ad una sequenza Fc originale (ad esempio un polipeptide Fc non modificato che viene successivamente modificato per generare una variante) per fornire caratteristiche strutturali e/o attività biologiche desiderabili.

Ad esempio, eseguendo modifiche nella regione Fc, è possibile generare un Fc variante che ha (a) una citotossicità cellulo-mediata anticorpo-dipendente (ADCC) aumentata o diminuita, (b) una citotossicità complemento-mediata (CDC) aumentata o diminuita, (c) un'affinità aumentata o diminuita per C1q, e/o (d) un'affinità aumentata o diminuita per un recettore per Fc rispetto ad un Fc originale. Generalmente, tali regioni Fc varianti comprendono

almeno una modifica di amminoacido nella regione Fc. Si ritiene che sia desiderabile combinare insieme più modifiche di amminoacido. Ad esempio, la regione Fc variante può comprendere due, tre, quattro, cinque, ecc. sostituzioni, ad esempio in specifiche posizioni qui identificate della regione Fc.

Una regione Fc variante può anche comprendere un'alterazione di sequenza in cui certi amminoacidi coinvolti nella formazione di legami disolfuro sono rimossi o sostituiti con altri amminoacidi. Tale rimozione può evitare una reazione con altre proteine contenenti cisteina che sono presenti nella cellula ospite usata per produrre gli anticorpi qui descritti. Anche rimuovendo i residui di cisteina, i domini Fc a catena singola sono ancora in grado di formare un dominio Fc dimerico che viene tenuto insieme da legami non covalenti. In altre forme esecutive, la regione Fc può essere modificata per renderla più compatibile con una cellula ospite selezionata. Ad esempio, è possibile rimuovere la sequenza PA in prossimità dell'N-terminale di una tipica regione Fc nativa, la quale può essere riconosciuta da un enzima digestivo in E. coli, come la prolina imminopeptidasi. Altre forme esecutive possono prevedere di rimuovere uno o più siti di glicosilazione all'interno del dominio Fc. I residui che appaiono tipicamente glicosilati (ad esempio asparagina) possono conferire una risposta citolitica. Tali residui possono essere eliminati per delezione o sostituiti con residui non glicosilati (ad esempio alanina). Altre forme esecutive possono prevedere di rimuovere siti coinvolti nell'interazione con il complemento, come il sito legante C1q, dalla regione Fc. Ad esempio, è possibile eliminare per delezione o sostituire la sequenza EKK di una IgG1 umana. Certe forme esecutive possono prevedere di rimuovere siti che influenzano il legame ai recettori per Fc, preferibilmente siti diversi dai siti leganti i recettori di salvataggio. Altre forme esecutive possono prevedere di modificare una regione Fc per rimuovere un sito ADCC. I siti ADCC sono noti nel ramo; vedere ad esempio Molec. Immunol. 29 (5): 633-9 (1992) che riguarda i siti ADCC in IgG1. Esempi specifici di domini Fc varianti sono divulgati, ad esempio, in WO 97/34631 e WO 96/32478.

In una forma esecutiva, la regione cerniera di Fc viene modificata in modo da alterare, ad esempio aumentare o diminuire, il numero di residui di cisteina nella regione cerniera. Questo approccio è ulteriormente descritto nel brevetto US 5.677.425 di Bodmer et al. Ad esempio, il numero di residui di cisteina nella regione cerniera di Fc viene alterato per facilitare l'assemblaggio delle catene leggere e pesanti o per aumentare o ridurre la stabilità dell'anticorpo. In una forma esecutiva, la regione cerniera di un Fc di un anticorpo viene mutata allo scopo di accorciare l'emivita biologica

dell'anticorpo. Più in particolare, l'introduzione di una o più mutazioni di amminoacido nella regione d'interfaccia tra i domini CH2-CH3 del frammento cerniera di Fc permette di ottenere un anticorpo che mostra un legame indebolito alla proteina A di Staphylococcus (SpA) rispetto al legame a SpA del dominio cerniera nativo di Fc. Questo approccio è descritto in ulteriore dettaglio nel brevetto US 6.165.745 di Ward et al.

In ancora altre forme esecutive, la regione Fc viene alterata sostituendo almeno un residuo di amminoacido con un residuo di amminoacido differente allo scopo di alterare la/le funzioni effettrici dell'anticorpo. Ad esempio, uno o più amminoacidi selezionati dai residui di amminoacido 234, 235, 236, 237, 297, 318, 320 e 322 possono essere sostituiti con un residuo di amminoacido differente in maniera tale che l'anticorpo mostri un'affinità alterata per un ligando effettore pur mantenendo la capacità di legame all'antigene dell'anticorpo genitore. Il ligando effettore verso cui viene alterata l'affinità può essere, ad esempio, un recettore per Fc o il componente C1 del complemento. Questo approccio è descritto in ulteriore dettaglio nei brevetti US 5.624.821 e US 5.648.260, entrambi di Winter et al.

In un altro esempio, uno o più amminoacidi selezionati dai residui di amminoacido 329, 331 e 322 possono essere sostituiti con un residuo di amminoacido differente in maniera tale che l'anticorpo mostri un legame alterato a C1q e/o una citotossicità complemento-dipendente (CDC) ridotta o abolita. Questo approccio è descritto in ulteriore dettaglio nel brevetto US 6.194.551 di Idusogie et al.

In un altro esempio, uno o più residui di amminoacido all'interno delle posizioni di amminoacido 231 e 239 vengono modificati allo scopo di alterare la capacità dell'anticorpo di fissare il complemento. Questo approccio è ulteriormente descritto nella pubblicazione PCT WO 94/29351 di Bodmer et al.

In un altro esempio ancora, la regione Fc viene alterata per aumentare la citotossicità cellulare anticorpo-dipendente (ADCC) e/o per aumentare l'affinità per un recettore per Fcγ attraverso la modifica di uno o più amminoacidi nelle seguenti posizioni: 234, 235, 236, 238, 239, 240, 241, 243, 244, 245, 247, 248, 249, 252, 254, 255, 256, 258, 262, 263, 264, 265, 267, 268, 269, 270, 272, 276, 278, 280, 283, 285, 286, 289, 290, 292, 293, 294, 295, 296, 298, 299, 301, 303, 305, 307, 309, 312, 313, 315, 320, 322, 324, 325, 326, 327, 329, 330, 331, 332 333, 334, 335, 337, 338, 340, 360, 373, 376, 378, 382, 388, 389, 398, 414, 416, 419, 430, 433, 434, 435, 436, 437, 438 o 439. Le sostituzioni esemplificative comprendono 236A, 239D, 239E, 268D, 267E, 268E, 268F, 324T, 332D e 332E. Le

varianti esemplificative comprendono 239D/332E, 236A/332E, 236A/239D/332E, 268F/324T, 267E/268F, 267E/324T e 267E/268F/324T. Altre modifiche per potenziare le interazioni con FcγR e con il complemento comprendono, ma senza limitazioni, le sostituzioni 298A, 333A, 334A, 326A, 247I, 3391), 339Q, 280H, 290S, 298D, 298V, 243L, 292P, 300L, 396L, 305I e 396L. Queste e altre modifiche sono revisionate in Strohl, 2009, Current Opinion in Biotechnology 20:685-691.

Le modifiche di Fc che aumentano il legame ad un recettore per Fcγ comprendono modifiche di amminoacido in una o più delle posizioni di amminoacido 238, 239, 248, 249, 252, 254, 255, 256, 258, 265, 267, 268, 269, 270, 272, 279, 280, 283, 285, 298, 289, 290, 292, 293, 294, 295, 296, 298, 301, 303, 305, 307, 312, 315, 324, 327, 329, 330, 335, 337, 3338, 340, 360, 373, 376, 379, 382, 388, 389, 398, 414, 416, 419, 430, 434, 435, 437, 438 o 439 della regione Fc, in cui la numerazione dei residui nella regione Fc è quella dell'indice EU come in Kabat (WO00/42072).

Altre modifiche di Fc che possono essere applicate agli Fc sono quelle che riducono o sopprimono il legame a FcγR e/o a proteine del complemento in modo da ridurre o sopprimere le funzioni effettrici Fc-mediate, come ADCC, ADCP e CDC. Le modifiche esemplificative comprendono, ma senza limitazioni, sostituzioni, inserzioni e delezioni nelle posizioni 234, 235, 236, 237, 267, 269, 325 e 328, in cui la numerazione è secondo l'indice EU. Le sostituzioni esemplificative comprendono, ma senza limitazioni, 234G, 235G, 236R, 237K, 267R, 269R, 325L e 328R, in cui la numerazione è secondo l'indice EU. Un Fc variante può comprendere 236R/328R. Altre modifiche per ridurre le interazioni con FcγR e con il complemento comprendono le sostituzioni 297A, 234A, 235A, 237A, 318A, 228P, 236E, 268Q, 309L, 330S, 331 S, 220S, 226S, 229S, 238S, 233P e 234V, e anche la rimozione della glicosilazione nella posizione 297 attraverso mezzi mutazionali o enzimatici o tramite produzione in organismi, come batteri, che non glicosilano le proteine. Queste e altre modifiche sono revisionate in Strohl, 2009, Current Opinion in Biotechnology 20:685-691.

Opzionalmente, la regione Fc può comprendere un residuo di amminoacido non esistente in natura in posizioni aggiuntive e/o alternative che sono note ad un esperto del ramo (vedere ad esempio i brevetti US 5.624.821; US 6.277.375; US 6.737.056; US 6.194.551; US 7.317.091; US 8.101.720; le pubblicazioni di brevetto PCT WO 00/42072;

WO 01/58957; WO 02/06919; WO 04/016750; WO 04/029207; WO 04/035752; WO 04/074455; WO 04/099249; WO 04/063351; WO 05/070963; WO 05/040217, WO 05/092925 e WO 06/020114).

È anche possibile usare Fc varianti che potenziano l'affinità per un recettore inibitorio FcγR11b. Tali varianti possono fornire una proteina di fusione a Fc con attività immunomodulatorie correlate alle cellule FcγR11b$^+$ tra cui, ad esempio, le cellule B e i monociti. In una forma esecutiva, gli Fc varianti forniscono un'affinità selettivamente potenziata per FcγR11b rispetto ad uno o più recettori attivatori. Le modifiche per alterare il legame a FcγR11b comprendono una o più modifiche in una posizione selezionata dal gruppo costituito da 234, 235, 236, 237, 239, 266, 267, 268, 325, 326, 327, 328 e 332 secondo l'indice EU. Le sostituzioni esemplificative per potenziare l'affinità per FcγR11b comprendono, ma senza limitazioni, 234D, 234E, 234F, 234W, 235D, 235F, 235R, 235Y, 236D, 236N, 237D, 237N, 239D, 239E, 266M, 267D, 267E, 268D, 268E, 327D, 327E, 328F, 328W, 328Y e 332E. Le sostituzioni esemplificative comprendono 235Y, 236D, 239D, 266M, 267E, 268D, 268E, 328F, 328W e 328Y. Altri Fc varianti per potenziare il legame a FcγR11b comprendono 235Y/267E, 236D/267E, 239D/268D, 239D/267E, 267E/268D, 267E/268E e 267E/328F.

Le affinità e le proprietà di legame di una regione Fc nei confronti del suo ligando possono essere determinate attraverso una varietà di metodi di saggio in vitro (saggi basati sulla biochimica o sull'immunologia) che sono noti nel ramo e che comprendono, ma senza limitazioni, i metodi di equilibrio (ad esempio il saggio immunoassorbente a legame enzimatico (ELISA) o il radioimmunosaggio (RIA)), i metodi cinetici (ad esempio l'analisi in Biacore) e altri metodi, come i saggi di legame indiretto, i saggi di inibizione competitiva, il trasferimento di energia per risonanza in fluorescenza (FRET), l'elettroforesi su gel e la cromatografia (ad esempio la filtrazione su gel). Questi e altri metodi possono adoperare un marcatore su uno o più dei componenti esaminati e/o possono impiegare una varietà di metodi di rilevamento tra cui, ma senza limitazioni, marcatori cromogeni, fluorescenti, luminescenti o isotopici. Una descrizione dettagliata delle affinità e delle cinetiche di legame può essere trovata in Fundamental Immunology, 4ª Edizione, redattore Paul W. E., Lippincott-Raven, Filadelfia (1999), che analizza approfonditamente le interazioni anticorpo-immunogeno,

In certe forme esecutive, l'anticorpo viene modificato allo scopo di aumentare la sua emivita biologica. Sono possibili vari approcci. Ad esempio, ciò può essere ottenuto aumentando l'affinità di legame della regione Fc per FcRn. Ad esempio, è possibile mutare uno o più dei seguenti residui: 252, 254, 256, 433, 435, 436, come descritto nel brevetto US 6.277.375. Esempi di specifiche sostituzioni comprendono una o più delle seguenti: T252L, T254S e/o T256F. In alternativa, per aumentare l'emivita biologica, l'anticorpo può essere alterato all'interno della regione CH1 o CL in maniera tale che esso contenga un epitopo legante il recettore di salvataggio preso da due anse di un dominio CH2 di una regione Fc di una IgG, come descritto nei brevetti US 5.869.046 e US 6.121.022 di Presta et al. Altre varianti esemplificative che aumentano il legame a FcRn e/o che migliorano le proprietà farmacocinetiche comprendono sostituzioni nelle posizioni 259, 308, 428 e 434, tra cui ad esempio 2591, 308F, 428L, 428M, 434S, 434H, 434F, 434Y e 434M. Altre varianti che aumentano il legame di Fc a FcRn comprendono: 250E, 250Q, 428L, 428F, 250Q/428L (Hinton et al., 2004, J. Biol. Chem. 279(8): 6213-6216, Hinton et al., 2006, Journal of Immunology 176:346-356), 256A, 272A, 286A, 305A, 307A, 307Q, 311A, 312A, 376A, 378Q, 380A, 382A, 434A (Shields et al., Journal of Biological Chemistry, 2001, 276(9):6591-6604), 252F, 252T, 252Y, 252W, 254T, 256S, 256R, 256Q, 256E, 256D, 256T, 309P, 311S, 433R, 433S, 433I, 433P, 433Q, 434H, 434F, 434Y, 252Y/254T/256E, 433K/434F/436H, 308T/309P/311S (Dall'Acqua et al., Journal of Immunology, 2002, 169:5171-5180, Dall'Acqua et al., 2006, Journal of Biological Chemistry, 281:23514-23524). Altre modifiche per modulare il legame a FcRn sono descritte in Yeung et al., 2010, J. Immunol., 182:7663-7671. In certe forme esecutive, è possibile adoperare isotipi di IgG ibridi con particolari caratteristiche biologiche. Ad esempio, sostituendo posizioni nelle regioni CH2 e/o CH3 di una IgG1 con amminoacidi di una IgG3 in posizioni in cui i due isotipi differiscono, è possibile costruire una variante ibrida IgG1/IgG3. È dunque possibile costruire un anticorpo IgG variante ibrido che comprende una o più sostituzioni, ad esempio 274Q, 276K, 300F, 339T, 356E, 358M, 384S, 392N, 397M, 4221, 435R e 436F. In altre forme esecutive qui descritte, sostituendo posizioni nelle regioni CH2 e/o CH3 di una IgG2 con amminoacidi di una IgG1 in posizioni in cui i due isotipi differiscono, è possibile costruire una variante ibrida IgG1/IgG2. È dunque possibile costruire un anticorpo IgG variante ibrido che comprende una o più sostituzioni, ad esempio una o più delle seguenti sostituzioni di amminoacido: 233E, 234L, 235L, -236G (che identifica l'inserzione di una glicina nella posizione 236) e 327A.

Inoltre, i siti leganti sulle IgG1 umane per FcγRI, FcγRII, FcγRIII ed FcRn sono stati mappati, e sono state descritte varianti che mostrano un legame migliorato (vedere Shields R. L. et al., (2001) J. Biol. Chem. 276:6591-6604). È stato mostrato che specifiche mutazioni nelle posizioni 256, 290, 298, 333, 334 e 339 migliorano il legame a FcγRIII. Inoltre, è stato mostrato che i seguenti mutanti di combinazione migliorano il legame a FcγRIII: T256A/S298A, S298A/E333A, S298A/K224A e S298A/E333A/K334A, che si sono rivelati in grado di mostrare un legame potenziato a FcγRIIIa e un'attività ADCC potenziata (Shields et al., 2001). Sono state identificate altre IgG1 varianti che mostrano un legame fortemente potenziato a FcγRIIIa, tra cui varianti con mutazioni S239D/I332E e S239D/I332E/A330L che mostrano il massimo aumento di affinità per FcγRIIIa, una legame diminuito a FcγRIIb e una forte attività citotossica nelle scimmie cynomolgus (Lazar et al., 2006). L'introduzione delle triple mutazioni in anticorpi, come alemtuzumab (CD52-specifico), trastuzumab (HER2/neu-specifico), rituximab (CD20-specifico) e cetuximab (EGFR-specifico), potenziava enormemente l'attività ADCC in vitro, e la variante S239D/I332E mostrava una capacità potenziata di deplezione delle cellule B nelle scimmie (Lazar et al., 2006). Inoltre, sono state identificate IgG1 mutanti contenenti le mutazioni L235V, F243L, R292P, Y300L e P396L che mostravano un legame potenziato a FcγRIIIa e una concomitante attività ADCC potenziata in topi transgenici che esprimevano un FcγRIIIa umano in modelli di neoplasia maligna a cellule B e di cancro della mammella (Stavenhagen et al., 2007; Nordstrom et al., 2011). Altri Fc mutanti che possono essere usati comprendono: S298A/E333A/L334A, S239D/I332E, S239D/I332E/A330L, L235V/F243L/R292P/Y300L/ P396L e M428L/N434S.

In certe forme esecutive, l'Fc scelto è uno che mostra un legame ridotto a FcγR. Un Fc esemplificativo, ad esempio un Fc IgG1, con un legame ridotto a FcγR comprende le seguenti tre sostituzioni di amminoacido: L234A, L235E e G237A.

In certe forme esecutive, l'Fc scelto è uno che mostra una fissazione ridotta del complemento. Un Fc esemplificativo, ad esempio un Fc IgG1, con una fissazione ridotta del complemento comprende le seguenti due sostituzioni di amminoacido: A330S e P331S.

In certe forme esecutive, l'Fc scelto non mostra essenzialmente alcuna funzione effettrice, nel senso che mostra un legame ridotto a FcγR e una fissazione ridotta del complemento. Un Fc esemplificativo, ad esempio un Fc IgG1, che

è senza funzione effettrice comprende le seguenti cinque mutazioni: L234A, L235E, G237A, A330S e P331S. La Tabella 11 riporta catene pesanti esemplificative che comprendono queste mutazioni.

Quando il dominio costante usato è quello di una IgG4, è normalmente preferibile includere la sostituzione S228P che imita la sequenza della cerniera in IgG1 e dunque stabilizza le molecole di IgG4.

Ancora un'altra forma esecutiva prevede di modificare la glicosilazione di un anticorpo. Ad esempio, è possibile produrre un anticorpo aglicosilato (nel senso che l'anticorpo è privo di glicosilazione). Ad esempio, la glicosilazione può essere alterata allo scopo di aumentare l'affinità dell'anticorpo per un antigene. Tali modifiche a livello di carboidrati possono essere ottenute, ad esempio, alterando uno o più siti di glicosilazione all'interno della sequenza dell'anticorpo. Ad esempio, è possibile effettuare una o più sostituzioni di amminoacido che causano l'eliminazione di uno o più siti di glicosilazione nella regione cornice della regione variabile, abrogando così la glicosilazione in quel sito. Tale aglicosilazione può aumentare l'affinità dell'anticorpo per un antigene. Tale approccio è descritto in ulteriore dettaglio nei brevetti US 5.714.350 e US 6.350.861 di Co et al.

La glicosilazione della regione costante su N297 può essere impedita mutando il residuo N297 in un altro residuo, ad esempio N297A, e/o mutando una amminoacido adiacente, ad esempio 298, in modo da ridurre la glicosilazione su N297.

In aggiunta o in alternativa, è possibile produrre un anticorpo avente un tipo alterato di glicosilazione, come un anticorpo ipofucosilato avente quantità ridotte di residui di fucosile o un anticorpo avente un numero aumentato di strutture GlcNAc bisecanti. È stato dimostrato che tali modelli di glicosilazione alterati aumentano la capacità ADCC degli anticorpi. Tali modifiche a livello di carboidrati possono essere ottenute, ad esempio, esprimendo l'anticorpo in una cellula ospite avente un macchinario di glicosilazione alterato. Le cellule con un macchinario di glicosilazione alterato sono state descritte nel ramo, e possono essere usate come cellule ospiti in cui esprimere gli anticorpi ricombinanti qui descritti allo scopo di produrre un anticorpo con una glicosilazione alterata. Ad esempio, EP 1.176.195 di Hanai et al. descrive una linea cellulare con un gene FUT8, che codifica per una fucosiltransferasi, funzionalmente disabilitato in maniera tale che gli anticorpi espressi in tale linea cellulare mostrino uno stato di ipofucosilazione. La pubblicazione PCT WO 03/035835 di Presta descrive una linea variante di cellule CHO, le cellule Lec13, con una

capacità ridotta di attaccare il fucosio ai carboidrati Asn(297)-collegati, sempre con la conseguenza di ipofucosilare gli anticorpi espressi in quella cellula ospite (vedere anche Shields R. L. et al., (2002) J. Biol. Chem. 277:26733-26740). La pubblicazione PCT WO 99/54342 di Umana et al. descrive linee cellulari ingegnerizzate per esprimere glicosiltransferasi modificanti le glicoproteine (ad esempio la beta(1,4)-N-acetilglucosamminiltransferasi III (GnTIII)) in maniera tale che gli anticorpi espressi nelle linee cellulari ingegnerizzate mostrino un numero aumentato di strutture GlcNAc bisecanti che aumenta l'attività ADCC degli anticorpi (vedere anche Umana et al., (1999) Nat. Biotech. 17:176-180).

Un'altra modifica prevista per gli anticorpi qui descritti è la pegilazione. Ad esempio, un anticorpo può essere pegilato allo scopo di aumentare l'emivita biologica (ad esempio nel siero) dell'anticorpo. Per pegilare un anticorpo, l'anticorpo o un suo frammento viene tipicamente fatto reagire con polietilenglicole (PEG), ad esempio con un estere-derivato o aldeide-derivato reattivo di PEG, in condizioni che permettono di attaccare uno o più gruppi PEG all'anticorpo o al frammento di anticorpo. Preferibilmente, la pegilazione viene condotta attraverso una reazione di acilazione o una reazione di alchilazione con una molecola reattiva di PEG (o con un polimero idrosolubile reattivo analogo). Nel presente contesto, il termine "polietilenglicole" intende comprendere una qualsiasi delle forme di PEG che sono state usate per funzionalizzare altre proteine, come mono-alcossi- o arilossi-(C1-C10)-polietilenglicole o polietilenglicole-maleimmide. In certe forme esecutive, l'anticorpo da pegilare è un anticorpo aglicosilato. I metodi di pegilazione delle proteine sono noti nel ramo e possono essere applicati agli anticorpi qui descritti. Vedere ad esempio EP 0 154 316 di Nishimura et al. ed EP 0 401 384 di Ishikawa et al.

VIII. Proprietà fisiche degli anticorpi

Gli anticorpi qui descritti possono contenere uno o più siti di glicosilazione sia nella regione variabile della catena leggera che in quella della catena pesante. Tali siti di glicosilazione possono aumentare l'immunogenicità dell'anticorpo o alterare la pK dell'anticorpo a causa del legame alterato all'antigene (Marshall et al., (1972) Annu. Rev. Biochem. 41:673-702; Gala e Morrison, (2004) J. Immunol. 172:5489-94; Wallick et al., (1988) J. Exp. Med. 168:1099-109; Spiro, (2002) Glycobiology 12:43R-56R; Parekh et al., (1985) Nature 316:452-7; Mimura et al., (2000) Mol. Immunol. 37:697-706). Come noto, la glicosilazione ha luogo in motivi contenenti una sequenza N-X-S/T. In alcuni

casi, è preferibile avere un anticorpo anti-GITR che non contiene una glicosilazione nella regione variabile. Ciò può essere ottenuto o selezionando anticorpi che non contengono il motivo di glicosilazione nella regione variabile, o mutando residui all'interno della regione di glicosilazione.

In certe forme esecutive, gli anticorpi qui descritti non contengono siti di isomeria dell'asparagina. La deammidazione dell'asparagina può avvenire su sequenze N-G o D-G, e può creare un residuo di acido isoaspartico che introduce una discontinuità nella catena polipeptidica, diminuendone la stabilità (effetto dell'acido isoaspartico).

Ogni anticorpo avrà un unico punto isoelettrico (pI) che, generalmente, ricade nell'intervallo di pH tra 6 e 9,5. Il pI per un anticorpo IgG1 ricade tipicamente nell'intervallo di pH di 7-9,5, mentre il pI per un anticorpo IgG4 ricade tipicamente nell'intervallo di pH di 6-8. Secondo un'ipotesi, gli anticorpi con un pI al di fuori dell'intervallo normale possono mostrare un certo grado di denaturazione (srotolamento) e di instabilità in condizioni in vivo. Pertanto, è preferibile avere un anticorpo anti-GITR contenente un valore di pI che ricade nell'intervallo normale. Ciò può essere ottenuto o selezionando anticorpi con un pI nell'intervallo normale, o mutando residui di superficie carichi.

Ogni anticorpo avrà una temperatura di fusione caratteristica, con una temperatura di fusione più alta che indica una maggiore stabilità globale in vivo (Krishnamurthy R. e Manning M. C., (2002) Curr. Pharm. Biotechnol. 3:361-71). Generalmente, è preferibile che la T_{M1} (la temperatura di denaturazione iniziale) sia più alta di 60°C, preferibilmente più alta di 65°C, ancora più preferibilmente più alta di 70°C. Il punto di fusione di un anticorpo può essere misurato adoperando la calorimetria a scansione differenziale (Chen et al., (2003) Pharm. Res. 20:1952-60; Ghirlando et al., (1999) Immunol. Lett. 68:47-52) o il dicroismo circolare (Murray et al., (2002) J. Chromatogr. Sci. 40:343-9). In una forma esecutiva preferita, gli anticorpi selezionati sono quelli che non si degradano rapidamente. La degradazione di un anticorpo può essere misurata usando l'elettroforesi capillare (CE) e MALDI-MS (Alexander A. J. e Hughes D. E., (1995) Anal. Chem. 67:3626-32).

In un'altra forma esecutiva preferita, gli anticorpi selezionati sono quelli che hanno effetti di aggregazione minimi, detti effetti potendo innescare una risposta immunitaria indesiderata e/o produrre proprietà farmacocinetiche alterate o sfavorevoli. Generalmente, gli anticorpi sono accettabili quando mostrano un'aggregazione di 25% o meno, preferibilmente di 20% o meno, ancora più preferibilmente di 15% o meno, ancora più preferibilmente di 10% o meno,

e ancora più preferibilmente di 5% o meno. L'aggregazione può essere misurata attraverso diverse tecniche, tra cui la colonna di esclusione dimensionale (SEC), la cromatografia liquida ad alto rendimento (HPLC) e la diffusione ottica.

IX. Metodi di ingegnerizzazione degli anticorpi

Come discusso sopra, gli anticorpi anti-GITR aventi le sequenze di V_H e di V_L qui divulgate possono essere usati per creare nuovi anticorpi anti-GITR modificando le sequenze di V_H e/o di V_L o la/le regioni costanti ad esse attaccate. Segnatamente, in un altro aspetto qui descritto, le caratteristiche strutturali di un anticorpo anti-GITR qui descritto, ad esempio di 28F3, 19D3, 18E10, 3C3, 2G6, 8A6, 9G7, 14E3, 19H8 e 6G10, vengono usate per creare anticorpi anti-GITR strutturalmente correlati che mantengono almeno una proprietà funzionale degli anticorpi qui descritti, come il legame al GITR umano e al GITR di cynomolgus. Ad esempio, una o più regioni CDR di 28F3, 19D3, 18E10, 3C3, 2G6, 8A6, 9G7, 14E3, 19H8 e 6G10, o loro mutazioni, possono essere combinate con regioni cornice note e/o con altre CDR allo scopo di creare ulteriori anticorpi anti-GITR qui descritti che sono anticorpi ingegnerizzati mediante ricombinazione come discusso sopra. Altri tipi di modifiche comprendono quelle descritte nella sezione che precede. Il materiale di partenza per il metodo di ingegnerizzazione è costituito da una o più delle sequenze di V_H e/o V_L qui fornite, o da una o più delle loro regioni di CDR. Per creare l'anticorpo ingegnerizzato, non è necessario preparare effettivamente (ovvero esprimere in forma di proteina) un anticorpo avente una o più delle sequenze di V_H e/o V_L qui fornite, o una o più delle loro regioni di CDR. Piuttosto, come materiale di partenza, vengono usate le informazioni contenute nella/nelle sequenze allo scopo di creare una o più sequenze di "seconda generazione" dalla/dalle sequenze originali prima di preparare ed esprimere la/le sequenze di "seconda generazione" sotto forma di una proteina.

Di conseguenza, qui vengono forniti metodi per preparare un anticorpo anti-GITR, i metodi prevedendo di:

(a) fornire: (i) una sequenza di regione variabile di catena pesante di anticorpo comprendente una sequenza di CDR1 selezionata dal gruppo costituito da SEQ ID NO:20, 33, 46, 62, 78, 91, 106, 122, 138 e 342, una sequenza di CDR2 selezionata dal gruppo costituito da SEQ ID NO:21, 34, 47, 63, 79, 92, 107, 123, 139 e 343, e/o una sequenza di CDR3 selezionata dal gruppo costituito da SEQ ID NO:22, 35, 48, 64, 80, 93, 108, 124, 140 e 344; e (ii) una sequenza di regione variabile di catena leggera di anticorpo comprendente una sequenza di CDR1

selezionata dal gruppo costituito da SEQ ID NO:23, 36, 49, 65, 68, 81, 94, 109, 112, 125, 141, 144 e 345, una sequenza di CDR2 selezionata dal gruppo costituito da SEQ ID NO:24, 37, 50, 66, 69, 82, 95, 110, 113, 126, 142, 145 e 346, e/o una sequenza di CDR3 selezionata dal gruppo costituito da SEQ ID NO:25, 38, 51, 67, 70, 83, 96, 111, 114, 127, 143, 146 e 347;

(b) alterare almeno un residuo di amminoacido all'interno della sequenza di regione variabile di catena pesante dell'anticorpo e/o all'interno della sequenza di regione variabile di catena leggera dell'anticorpo allo scopo di creare almeno una sequenza di anticorpo alterata; e

(c) esprimere la sequenza di anticorpo alterata come una proteina.

Per preparare ed esprimere la sequenza di anticorpo alterata, è possibile usare tecniche standard di biologia molecolare.

Preferibilmente, l'anticorpo codificato dalla/dalle sequenze di anticorpo alterate è uno che mantiene una, alcune o tutte le proprietà funzionali degli anticorpi anti-GITR qui descritti, le quali comprendono

(1) la capacità di legarsi al GITR umano solubile, ad esempio con una K_D di 10 nM o meno (ad esempio da 0,01 nM a 10 nM), ad esempio come misurata via Biacore;

(2) la capacità di legarsi al GITR umano legato a membrana, ad esempio con una K_D di 1 nM o meno (ad esempio da 0,01 nM a 1 nM), ad esempio come misurata via Scatchard;

(3) la capacità di legarsi al GITR umano legato a membrana, ad esempio con una EC_{50} di 1 nM o meno (ad esempio da 0,01 nM a 1 nM), ad esempio come misurata via FACS;

(4) la capacità di legarsi al GITR di cynomolgus, ad esempio la capacità di legarsi al GITR di cynomolgus legato a membrana, ad esempio con una EC_{50} di 10 nM o meno (ad esempio da 0,01 nM a 10 nM), ad esempio come misurata via FACS;

(5) la capacità di indurre o potenziare l'attivazione delle cellule T, come in presenza di un CD3 impegnato (ad esempio in presenza di concentrazioni subottimali di un anti-CD3), come testimoniata da (i) una produzione aumentata di IL-2 e/o IFN-γ in cellule T che esprimono GITR, e/o (ii) una proliferazione potenziata delle cellule T;

(6) la capacità di indurre o potenziare l'attivazione delle cellule T senza richiedere una reticolazione multivalente;

(7) la capacità di inibire il legame di un ligando per GITR a GITR su cellule 3A9-hGITR, ad esempio con una EC_{50} di 1 μg/mL o meno come misurata via FACS;

(8) la capacità di inibire al massimo parzialmente il legame di un ligando per GITR a GITR su cellule T attivate;

(9) la capacità di legarsi ad un epitopo conformazionale sul GITR umano maturo (SEQ ID NO:4), ad esempio ad un epitopo discontinuo all'interno delle sequenze di amminoacidi PTGGPGCGPGRLL LGTGT (SEQ ID NO:217) e CRDYPGEE (SEQ ID NO:218);

(10) la capacità di legarsi sia ad un GITR umano non glicosilato che ad un GITR umano glicosilato con glicosilazione O-collegata o N-collegata;

(11) la capacità di mostrare un'attività da agonista senza legarsi ad un recettore per Fc, ma in cui il legame ad un recettore per Fc potenzia ulteriormente l'attività da agonista; e

(12) la capacità di competere per il legame al GITR umano, in una delle due direzioni o in entrambe le direzioni, con 28F3, 3C3-1, 3C3-2, 2G6, 8A6, 9G7-1, 9G7-2, 14E3, 19H8-1, 19H8-2, 19D3, 18E10 e/o 6G10.

L'anticorpo alterato può mostrano una o più, due o più, tre o più, quattro o più, cinque o più, sei o più, sette o più, otto o più, nove o più, dieci o più, undici o tutte le proprietà funzionali esposte sopra nei punti da (1) a (12). Le proprietà funzionali degli anticorpi alterati possono essere valutate adoperando saggi standard disponibili nel ramo e/o qui descritti, come quelli riportati negli Esempi (ad esempio ELISA, FACS).

In certe forme esecutive dei metodi di ingegnerizzazione degli anticorpi qui descritti, le mutazioni possono essere introdotte, in maniera randomizzata o selettiva, lungo tutta o parte di una sequenza codificante per un anticorpo anti-GITR, e gli anticorpi anti-GITR modificati risultanti possono essere sottoposti a screening per valutare la loro attività di legame e/o altre proprietà funzionali qui descritte. I metodi mutazionali sono stati descritti nel ramo. Ad esempio, la pubblicazione PCT WO 02/092780 di Short descrive metodi per la creazione e lo screening di anticorpi mutanti adoperando la mutagenesi a saturazione, l'assemblaggio per ligazione sintetica o una loro combinazione. In

alternativa, la pubblicazione PCT WO 03/074679 di Lazar et al. descrive metodi di utilizzo di metodi di screening computerizzato per ottimizzare le proprietà fisico-chimiche degli anticorpi.

X. Molecole di acido nucleico

Un altro aspetto qui descritto riguarda molecole di acido nucleico che codificano per gli anticorpi qui descritti. Gli acidi nucleici possono essere presenti in cellule intere, in un lisato cellulare, o in una forma parzialmente purificata o sostanzialmente pura. Un acido nucleico è "isolato" o "reso sostanzialmente puro" quando è purificato da altri componenti cellulari o altri contaminanti, ad esempio altri acidi nucleici cellulari (ad esempio altro DNA cromosomico, ad esempio il DNA cromosomico che è collegato al DNA isolato in natura) o altre proteine cellulari, attraverso tecniche standard tra cui trattamento con agenti alcalini/SDS, separazione delle bande in CsCl, cromatografia in colonna, enzimi di restrizione, elettroforesi su gel di agarosio, e altre tecniche ben note nel ramo. Vedere Current Protocols in Molecular Biology (1987), redattori F. Ausubel et al., Greene Publishing & Wiley Interscience, New York. Ad esempio, un acido nucleico qui descritto può essere un DNA o un RNA, e può o no contenere sequenze introniche. In certe forme esecutive, l'acido nucleico è una molecola di cDNA.

Gli acidi nucleici qui descritti possono essere ottenuti adoperando tecniche standard di biologia molecolare. Se gli anticorpi vengono espressi da ibridomi (ad esempio da ibridomi preparati da topi transgenici portatori di geni immunoglobulinici umani come descritto più sotto), i cDNA codificanti per la catena leggera e quella pesante dell'anticorpo prodotto dall'ibridoma possono essere ottenuti attraverso tecniche standard di amplificazione via PCR o di clonazione del cDNA. Se gli anticorpi vengono ottenuti da una libreria di geni immunoglobulinici (ad esempio adoperando tecniche di esposizione su fago), l'acido nucleico che codifica per l'anticorpo può essere recuperato dalla libreria.

Le molecole di acido nucleico preferite qui descritte sono quelle codificanti per le sequenze di VH e VL degli anticorpi monoclonali 28F3, 19D3, 18E10, 3C3-1, 3C3-2, 2G6, 8A6, 9G7-1, 9G7-2, 14E3, 19H8-1, 19H8-2 e 6G10. Esempi di sequenze di DNA che codificano per le sequenze di VH di 28F3, 19D3, 18E10, 3C3, 2G6, 8A6, 9G7, 14E3, 19H8 e 6G10 sono rispettivamente riportate in SEQ ID NO:147, 154, 158, 162, 168, 172, 176, 182, 186 e 353. Esempi di sequenze di DNA che codificano per le sequenze di VL di 28F3, 19D3, 18E10, 3C3-1, 3C3-2, 2G6, 8A6, 9G7-1,

9G7-2, 14E3, 19H8-1, 19H8-2 e 6G10 sono rispettivamente riportate in SEQ ID NO:148, 155, 163, 164, 169, 173, 177, 178, 183, 187, 188 e 354. Esempi di sequenze di DNA che codificano per le sequenze di catena pesante di 28F3, 19D3, 18E10, 3C3 (3C3-1 e 3C3-2), 2G6, 8A6, 9G7 (9G7-1 e 9G7-2), 14E3, 19H8 (19H8-1 e 19H8-2) e 6G10 sono rispettivamente riportate in SEQ ID NO:149, 156, 160, 165, 170, 174, 179, 184, 189 e 355. Esempi di sequenze di DNA che codificano per le sequenze di catena leggera di 28F3, 19D3, 18E10, 3C3-1, 3C3-2, 2G6, 8A6, 9G7-1, 9G7-2, 14E3, 19H8-1, 19H8-2 e 6G10 sono rispettivamente riportate in SEQ ID NO:150, 157, 161, 166, 167, 171, 175, 181, 180, 185, 190, 191 e 356.

Esempi di acidi nucleici che codificano per i domini VH e VL maturi degli anticorpi 28F3.IgG1 e 28F3.IgG1.1 (stessa regione variabile) sono rispettivamente riportati come SEQ ID NO:147 e 148. Esempi di acidi nucleici che codificano per le catene pesanti mature degli anticorpi 28F3.IgG1 e 28F3.IgG1.1 sono rispettivamente riportati come SEQ ID NO:151 e 152, e un esempio di acido nucleico che codifica per la catena leggera matura degli anticorpi 28F3.IgG1 e 28F3.IgG1.1 è riportato come SEQ ID NO:153.

Esempi di domini VH e VL degli anticorpi 28F3.IgG1 e 28F3.IgG1.1 (stessa regione variabile) con un peptide segnale sono rispettivamente riportati come SEQ ID NO:357 e 358, e le sequenze di nucleotidi che codificano per questi domini sono rispettivamente riportate come SEQ ID NO:359 e 360.

Esempi di catene pesanti degli anticorpi 28F3.IgG1 e 28F3.IgG1.1 con un peptide segnale sono rispettivamente riportati come SEQ ID NO:361 e 362, ed esempi di sequenze di nucleotidi che codificano per queste catene sono rispettivamente riportati come SEQ ID NO:363 e 364. Un esempio di catena leggera degli anticorpi 28F3.IgG1 e 28F3.IgG1.1 con un peptide segnale è riportato come SEQ ID NO:365, e un esempio di sequenza di nucleotidi che codifica per questa catena è riportato come SEQ ID NO:366.

Un metodo per produrre 28F3.IgG1 può prevedere di esprimere la catena pesante e la catena leggera in una linea cellulare che comprende le sequenze di nucleotidi codificanti per le catene pesante e leggera con un peptide segnale, ad esempio rispettivamente SEQ ID NO:363 e 365. Un metodo per produrre 28F3.IgG1.1 può prevedere di esprimere la catena pesante e la catena leggera in una linea cellulare che comprende le sequenze di nucleotidi

codificanti per le catene pesante e leggera con un peptide segnale, ad esempio rispettivamente SEQ ID NO:364 e 366. Qui sono incluse cellule ospiti che comprendono queste sequenze di nucleotidi.

Una volta ottenuti i frammenti di DNA codificanti per i segmenti VH e VL, questi frammenti di DNA possono essere ulteriormente manipolati attraverso tecniche standard di DNA ricombinante, ad esempio per convertire i geni di regione variabile in geni di catena di anticorpo a tutta lunghezza, in geni di frammento Fab o in un gene di scFv. In queste manipolazioni, un frammento di DNA codificante per una VL o per una VH viene operativamente collegato ad un altro frammento di DNA che codifica per un'altra proteina, come una regione costante di anticorpo o un raccordo flessibile. Come usata in questo contesto, l'espressione "operativamente collegato" intende significare che i due frammenti di DNA sono uniti in maniera tale che le sequenze di amminoacidi codificate dai due frammenti di DNA rimangano in cornice.

Il DNA isolato che codifica per la regione VH può essere convertito in un gene di catena pesante a tutta lunghezza collegando operativamente il DNA codificante per la VH ad un'altra molecola di DNA che codifica per le regioni costanti della catena pesante (cerniera, CH1, CH2 e/o CH3). Le sequenze dei geni umani per le regioni costanti della catena pesante sono note nel ramo (vedere ad esempio Kabat E. A. et al., (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Quinta Edizione, Dipartimento della salute e dei servizi umani degli Stati Uniti, pubblicazione NIH n° 91-3242), e i frammenti di DNA comprendenti queste regioni possono essere ottenuti mediante amplificazione via PCR standard. La regione costante di catena pesante può essere una regione costante di isotipo IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA, IgE, IgM o IgD, ad esempio una regione di isotipo IgG1. Per un gene di catena pesante di un frammento Fab, il DNA codificante per la VH può essere operativamente collegato ad un'altra molecola di DNA che codifica solo per la regione costante CH1 della catena pesante.

Il DNA isolato che codifica per la regione VL può essere convertito in un gene di catena leggera a tutta lunghezza (come anche in un gene di catena leggera di Fab a tutta lunghezza) collegando operativamente il DNA codificante per la VL ad un'altra molecola di DNA che codifica per la regione costante della catena leggera, CL. Le sequenze dei geni umani per le regioni costanti di catena leggera sono note nel ramo (vedere ad esempio Kabat E. A. et al., (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Quinta Edizione, Dipartimento della salute e dei servizi

umani degli Stati Uniti, pubblicazione NIH n° 91-3242), e i frammenti di DNA comprendenti queste regioni possono essere ottenuti mediante amplificazione via PCR standard. La regione costante della catena leggera può essere una regione costante kappa o lambda.

Per creare un gene scFv, i frammenti di DNA codificanti per la VH e la VL vengono operativamente collegati ad un altro frammento che codifica per un raccordo flessibile, ad esempio che codifica per la sequenza di amminoacidi $(Gly_4\text{-}Ser)_3$, in maniera tale che le sequenze di VH e VL possano essere espresse come una proteina a catena singola contigua in cui le regioni VH e VL sono unite per mezzo del raccordo flessibile (vedere ad esempio Bird et al., (1988) Science 242:423-426; Huston et al., (1988) Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 85:5879-5883; McCafferty et al., (1990) Nature 348:552-554).

Qui vengono anche fornite molecole di acido nucleico codificanti per sequenze di VH e VL che sono omologhe a quelle degli anticorpi monoclonali 28F3, 19D3, 18E10, 3C3-1, 3C3-2, 2G6, 8A6, 9G7-1, 9G7-2, 14E3, 19H8-1, 19H8-2 e 6G10. Le molecole di acido nucleico esemplificative codificano per sequenze di VH e VL che sono almeno 70% identiche, ad esempio almeno 75%, almeno 80%, almeno 85%, almeno 90%, almeno 95% o almeno 99% identiche, a molecole di acido nucleico codificanti per le sequenze di VH e VL degli anticorpi monoclonali 28F3, 19D3, 18E10, 3C3-1, 3C3-2, 2G6, 8A6, 9G7-1, 9G7-2, 14E3, 19H8-1, 19H8-2 e 6G10. Qui vengono anche fornite molecole di acido nucleico con sostituzioni conservative (ovvero sostituzioni che non alterano la sequenza di amminoacidi risultante quando la molecola di acido nucleico viene tradotta), ad esempio per l'ottimizzazione dei codoni.

XI. Produzione degli anticorpi

Gli anticorpi monoclonali qui descritti possono essere prodotti usando una varietà di tecniche note, come la tecnica standard di ibridazione delle cellule somatiche descritta da Kohler e Milstein, Nature 256:495 (1975). In linea di principio, nonostante la preferenza per le procedure di ibridazione delle cellule somatiche, la produzione degli anticorpi monoclonali può essere anche ottenuta attraverso altre tecniche, ad esempio mediante trasformazione virale od oncogena di linfociti B o attraverso una tecnica di esposizione su fago che adopera librerie di geni di anticorpi umani.

Il sistema animale preferito per la preparazione degli ibridomi è il sistema murino. La produzione degli ibridomi nel topo è una procedura molto ben consolidata. I protocolli di immunizzazione e le tecniche di isolamento

degli splenociti immunizzati per la fusione sono noti/e nel ramo. Anche i partner di fusione (ad esempio le cellule di mieloma murino) e le procedure di fusione sono noti.

Gli anticorpi chimerici o umanizzati qui descritti possono essere preparati basandosi sulla sequenza di un anticorpo monoclonale murino preparato come descritto sopra. Dall'ibridoma murino d'interesse è possibile ottenere un DNA codificante per le immunoglobuline di catena pesante e catena leggera e, adoperando tecniche standard di biologia molecolare, tale DNA può essere ingegnerizzato in modo da contenere sequenze di immunoglobuline non murine (ad esempio umane). Ad esempio, per creare un anticorpo chimerico, le regioni variabili murine possono essere collegate a regioni costanti umane usando metodi noti nel ramo (vedere ad esempio il brevetto US 4.816.567 di Cabilly et al.). Per creare un anticorpo umanizzato, le regioni CDR murine possono essere inserite in una regione cornice umana adoperando metodi noti nel ramo (vedere ad esempio il brevetto US 5.225.539 di Winter, e i brevetti US 5.530.101; US 5.585.089; US 5.693.762 e US 6.180.370 di Queen et al.).

In una forma esecutiva, gli anticorpi qui descritti sono anticorpi monoclonali umani. Tali anticorpi monoclonali umani diretti contro GITR possono essere generati usando topi transgenici o transcromosomici che recano parti del sistema immunitario umano anziché del sistema murino. Questi topi transgenici e transcromosomici comprendono topi qui rispettivamente identificati come topi HuMAb e topi KM, e vengono qui collettivamente identificati come "topi a Ig umane".

Il topo HuMAb® (Medarex, Inc.) contiene miniloci per geni immunoglobulinici umani che codificano per sequenze immunoglobuliniche umane non riarrangiate di catena pesante (μ e γ) e catena leggera κ, oltre che per mutazioni mirate che inattivano i loci endogeni per le catene μ e κ (vedere ad esempio Lonberg et al., (1994) Nature 368(6474): 856-859). Di conseguenza, i topi mostrano un'espressione ridotta della IgM o della κ di topo e, in risposta all'immunizzazione, i transgeni umani di catena pesante e leggera introdotti vanno incontro a passaggio di classe e mutazione somatica, generando IgGκ monoclonali ad alta affinità (Lonberg N. et al., (1994), sopra; rivisitato in Lonberg N., (1994) Handbook of Experimental Pharmacology 113:49-101; Lonberg N. e Huszar D., (1995) Intern. Rev. Immunol. 13: 65-93, e Harding F. e Lonberg N., (1995) Ann. N.Y. Acad. Sci. 764:536-546). La preparazione e l'uso dei topi HuMAb, e le modifiche genomiche contenute in tali topi, sono ulteriormente descritti in Taylor L. et al., (1992)

Nucleic Acids Research 20:6287-6295; Chen J. et al., (1993) International Immunology 5: 647-656; Tuaillon et al., (1993) Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 90:3720-3724; Choi et al., (1993) Nature Genetics 4:117-123; Chen J. et al., (1993) EMBO J. 12: 821-830; Tuaillon et al., (1994) J. Immunol. 152:2912-2920; Taylor L. et al., (1994) International Immunology 6: 579-591; e Fishwild D. et al., (1996) Nature Biotechnology 14: 845-851. Vedere inoltre i brevetti US 5.545.806; US 5.569.825; US 5.625.126; US 5.633.425; US 5.789.650; US 5.877.397; US 5.661.016; US 5.814.318; US 5.874.299; e US 5.770.429; tutti di Lonberg e Kay; il brevetto US 5.545.807 di Surani et al.; le pubblicazioni PCT WO 92/03918, WO 93/12227, WO 94/25585, WO 97/13852, WO 98/24884 e WO 99/45962, tutte di Lonberg e Kay; e la pubblicazione PCT WO 01/14424 di Korman et al.

In certe forme esecutive, gli anticorpi qui descritti vengono sviluppati adoperando un topo che reca sequenze immunoglobuliniche umane su transgeni e transcromosomi, come un topo che reca un transgene umano di catena pesante e un transcromosoma umano di catena leggera. Tali topi, qui identificati come "topi KM", sono descritti in dettaglio nella pubblicazione PCT WO 02/43478 di Ishida et al.

Ancora ulteriormente, nel ramo sono disponibili sistemi animali transgenici alternativi che esprimono geni immunoglobulinici umani, e tali sistemi possono essere usati per sviluppare gli anticorpi anti-GITR qui descritti. Ad esempio, è possibile adoperare un sistema transgenico alternativo identificato come Xenomouse (Abgenix, Inc.); tali topi sono descritti, ad esempio, nei brevetti US 5.939.598; US 6.075.181; US 6.114.598; US 6.150.584 e US 6.162.963 di Kucherlapati et al.

Inoltre, nel ramo sono disponibili sistemi animali transcromosomici alternativi che esprimono geni immunoglobulinici umani, e tali sistemi possono essere usati per sviluppare gli anticorpi anti-GITR qui descritti. Ad esempio, è possibile adoperare topi che recano sia un transcromosoma umano di catena pesante che un transcromosoma umano di catena leggera, identificati come "topi TC"; tali topi sono descritti in Tomizuka et al., (2000) Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 97:722-727. Inoltre, nel ramo sono state descritte vacche che recano transcromosomi umani di catena pesante e leggera (Kuroiwa et al., (2002) Nature Biotechnology 20:889-894), e tali vacche possono essere adoperate per sviluppare gli anticorpi anti-GITR qui descritti.

Ulteriori sistemi murini descritti nel ramo per sviluppare anticorpi umani, ad esempio anticorpi umani anti-GITR, comprendono (i) il topo VelocImmune® (Regeneron Pharmaceuticals, Inc.), in cui le regioni variabili di catena pesante e catena leggera murine endogene sono state sostituite, tramite ricombinazione omologa, con regioni variabili di catena pesante e catena leggera umane operativamente collegate alle regioni costanti murine endogene, permettendo così che i topi sviluppino anticorpi chimerici (V umana/C murina) che vengono poi convertiti in anticorpi completamente umani usando tecniche di DNA ricombinante standard; e (ii) il topo MeMo® (Merus Biopharmaceuticals, Inc.), in cui il topo contiene regioni variabili di catena pesante umane non riarrangiate ma una singola regione variabile di catena leggera comune umana riarrangiata. Tali topi, e il loro uso per sviluppare anticorpi, sono descritti, ad esempio, in WO 2009/15777, US 2010/0069614, WO 2011/072204, WO 2011/097603, WO 2011/163311, WO 2011/163314, WO 2012/148873, US 2012/0070861 e US 2012/0073004.

Gli anticorpi monoclonali umani qui descritti possono anche essere preparati usando metodi di esposizione su fago per sottoporre a screening librerie di geni immunoglobulinici umani. Tali metodi di esposizione su fago per l'isolamento di anticorpi umani sono consolidati nel ramo. Vedere ad esempio: i brevetti US 5.223.409; US 5.403.484; e US 5.571.698 di Ladner et al.; i brevetto US 5.427.908 e US 5.580.717 di Dower et al.; i brevetti US 5.969.108 e US 6.172.197 di McCafferty et al.; e i brevetto US 5.885.793; US 6.521.404; US 6.544.731; US 6.555.313; US 6.582.915 e US 6.593.081 di Griffiths et al.

Gli anticorpi monoclonali umani qui descritti possono anche essere preparati adoperando topi SCID in cui sono state ricostituite cellule immunitarie umane in modo da generare, dopo l'immunizzazione, una risposta ad anticorpi umani. Tali topi sono descritti, ad esempio, nei brevetti US 5.476.996 e US 5.698.767 di Wilson et al.

Immunizzazioni

La generazione di anticorpi completamente umani contro GITR può essere ottenuta immunizzando topi transgenici o transcromosomici contenenti geni per immunoglobuline umane (ad esempio topi HCo12, HCo7 o KM) con un preparato purificato o arricchito dell'antigene GITR e/o con cellule che esprimono GITR o suoi frammenti, come descritto per altri antigeni, ad esempio da Lonberg et al., (1994) Nature 368(6474): 856-859; Fishwild et al., (1996) Nature Biotechnology 14: 845-851 e WO 98/24884. In alternativa, i topi possono essere immunizzati con un DNA

codificante per il GITR umano o suoi frammenti. Preferibilmente, al momento della prima infusione, i topi avranno un'età di 6-16 settimane. Ad esempio, per immunizzare i topi HuMAb per via intraperitoneale, è possibile adoperare un preparato purificato o arricchito (5-50 μg) dell'antigene GITR ricombinante. Se le immunizzazioni basate sull'uso di un preparato purificato o arricchito dell'antigene GITR non generano anticorpi, i topi possono essere anche immunizzati con cellule che esprimono GITR, ad esempio con una linea cellulare che esprime GITR, in modo da promuovere le risposte immunitarie. Le linee cellulari esemplificative comprendono linee di cellule CHO e Raji che sovraesprimono stabilmente GITR.

L'esperienza cumulativa con vari antigeni ha mostrato che, quando i topi transgenici HuMAb vengono inizialmente immunizzati per via intraperitoneale (IP) o sottocutanea (SC) con l'antigene in adiuvante di Ribi, e vengono poi immunizzati con l'antigene attraverso immunizzazioni IP/SC a settimane alterne (fino ad un totale di 10) in adiuvante di Ribi, i topi mostrano una risposta ottimale. La risposta immunitaria può essere monitorata durante il protocollo di immunizzazione procurandosi campioni di plasma attraverso prelievi retrorbitali. Il plasma può essere sottoposto a screening via ELISA e FACS (come descritto sotto), e i topi con titoli sufficienti di immunoglobulina umana anti-GITR possono essere usati per scopi di fusione. I topi possono essere richiamati con l'antigene per endovena 3 giorni prima del sacrificio e della rimozione della milza e dei linfonodi. Presumibilmente, potrà essere necessario eseguire 2-3 fusioni per ciascuna immunizzazione. I topi tipicamente immunizzati sono 6 - 24 per ogni antigene. Normalmente, i ceppi usati sono HCo7, HCo12 e KM. Inoltre, sia il transgene HCo7 che il transgene HCo12 possono essere espressi insieme in un singolo topo avente due transgeni umani di catena pesante differenti (HCo7/HCo12).

Generazione di ibridomi che producono anticorpi monoclonali contro GITR

Per generare ibridomi in grado di produrre gli anticorpi monoclonali umani qui descritti, è possibile isolare gli splenociti e/o le cellule di linfonodo di topi immunizzati, e tali splenociti e cellule possono essere fusi/e con un'opportuna linea di cellule immortalizzate, come una linea cellulare di mieloma murino. Gli ibridomi risultanti possono essere sottoposti a screening per la produzione di anticorpi antigene-specifici. Un esempio può prevedere di fondere sospensioni monocellulari di linfociti splenici di topi immunizzati con cellule del mieloma murino non secernente Sp2/0 (ATCC, CRL 1581) in presenza di PEG 50%. Dopo averle piastrate a circa 2 x 10^5 su una piastra di

microtitolazione a fondo piatto, le cellule vengono incubate per due settimane in un terreno selettivo contenente siero fetale Clone 10%, terreno condizionato "653" 18%, Origen 5% (IGEN), L-glutammina 4 mM, piruvato di sodio 1 mM, HEPES 5 mM, 2-mercaptoetanolo 0,055 mM, penicillina 50 unità/ml, streptomicina 50 mg/ml, gentamicina 50 mg/ml e HAT 1X (Sigma). Dopo circa due settimane, le cellule possono essere coltivate in un terreno in cui HAT è sostituito con HT. I singoli pozzetti possono essere poi sottoposti a screening via ELISA per gli anticorpi monoclonali umani di isotipo IgM e IgG. Il terreno può essere normalmente osservato dopo 10-14 giorni, una volta ottenuta una crescita estesa degli ibridomi. Gli ibridomi che secernono gli anticorpi possono essere ripiastrati e nuovamente sottoposti a screening e, se ancora positivi alle IgG umane, gli anticorpi monoclonali possono essere subclonati almeno due volte per diluizione limite. I subcloni stabili possono essere poi coltivati in vitro allo scopo di generare piccole quantità di anticorpo nel terreno di coltura tissutale in vista della caratterizzazione.

Per purificare gli anticorpi monoclonali umani, gli ibridomi selezionati possono essere fatti crescere in beute da centrifuga da due litri per la purificazione degli anticorpi monoclonali. I sovranatanti possono essere filtrati e concentrati prima di sottoporli ad una cromatografia di affinità con proteina A-Sepharose (Pharmacia, Piscataway, N.J.). Le IgG eluite possono essere verificate mediante elettroforesi su gel e cromatografia liquida ad alto rendimento per garantirne la purezza. La soluzione tampone può essere sostituita con PBS, e la concentrazione può essere determinata a OD280 usando un coefficiente di estinzione di 1,43. Gli anticorpi monoclonali possono essere aliquotati e conservati a -80°C.

Generazione di trasfettomi che producono anticorpi monoclonali diretti contro GITR

Gli anticorpi possono essere prodotti in un trasfettoma di cellula ospite usando, ad esempio, una combinazione ben nota nel ramo di tecniche di DNA ricombinante e metodi di trasfezione genica (Morrison S., (1985) Science 229:1202).

Ad esempio, per esprimere gli anticorpi o loro frammenti di anticorpo, i DNA codificanti per le catene leggere e pesanti parziali o a tutta lunghezza possono essere ottenuti attraverso tecniche standard di biologia molecolare (ad esempio mediante amplificazione via PCR o clonazione del cDNA usando un ibridoma che esprime l'anticorpo d'interesse), e i DNA possono essere inseriti in vettori di espressione in maniera tale che i geni siano operativamente

collegati a sequenze di controllo della trascrizione e della traduzione. In questo contesto, l'espressione "operativamente collegato" intende significare che un gene per un anticorpo è ligato in un vettore in maniera tale che le sequenze di controllo della trascrizione e della traduzione all'interno del vettore svolgano la loro funzione voluta di regolare la trascrizione e la traduzione del gene per l'anticorpo. Il vettore di espressione e le sequenze di controllo dell'espressione selezionato/e devono essere compatibili con la cellula ospite usata per l'espressione. Il gene per la catena leggera dell'anticorpo e il gene per la catena pesante dell'anticorpo possono essere inseriti in vettori separati o, in alternativa, entrambi i geni vengono inseriti nello stesso vettore d'espressione. I geni dell'anticorpo vengono inseriti nel/nei vettori di espressione attraverso metodi standard (ad esempio mediante ligazione di siti di restrizione complementari sul frammento genico dell'anticorpo e sul vettore, o mediante ligazione di estremità appiattite in assenza di siti di restrizione). Le regioni variabili di catena leggera e catena pesante degli anticorpi qui descritti possono essere usate per creare geni di anticorpo a tutta lunghezza di qualsiasi isotipo di anticorpo, inserendole in vettori di espressione che codificano già per le regioni costanti di catena pesante e per la regione costante di catena leggera dell'isotipo desiderato, in maniera tale che il segmento V_H sia operativamente collegato al/ai segmento C_H all'interno del vettore e il segmento V_L sia operativamente collegato al segmento C_L all'interno del vettore.

In aggiunta o in alternativa, il vettore di espressione ricombinante può codificare per un peptide segnale che promuove la secrezione della catena di anticorpo da una cellula ospite. Il gene per la catena di anticorpo può essere clonato nel vettore in maniera tale che il peptide segnale sia collegato in cornice all'ammino-terminale del gene per la catena di anticorpo. Il peptide segnale può essere un peptide segnale di immunoglobulina o un peptide segnale eterologo (ovvero un peptide segnale di una proteina diversa da un'immunoglobulina).

In forme esecutive esemplificative, è possibile adoperare i seguenti peptidi segnale di catene pesanti e leggere di anticorpi umani: MEFGLSWVFLVALLRGVQC (SEQ ID NO:315); MKHLWFFLLLVAAPR WVLS (SEQ ID NO:321); MEFGLNWVFLVALLRGVQC (SEQ ID NO:327); MEFGLSWIFLAAILKG VQC (SEQ ID NO:329); MKHLWFFLLLVAAPRWVLS (SEQ ID NO:333); MDMRVLAQLLGLLLL CFPGARC (SEQ ID NO:323); MEAPAQLLFLLLLWLPDTTG (SEQ ID NO:325); MDMRVPAQLLGL LLLWLPGARC (SEQ ID NO:317); MRVLAQLLGLLLLCFPGARC (SEQ ID NO:319); e METPAQLLF LLLLWLPDTTG (SEQ ID NO:331).

Le catene pesanti e leggere degli anticorpi anti-GITR possono essere espresse con la rispettiva sequenza segnale collegata a ciascuna catena nell'ibridoma da cui tali anticorpi sono stati clonati. Le seguenti sono le sequenze segnale di vari anticorpi anti-GITR come presenti negli ibridomi da cui sono stati clonati, le quali sequenze segnale possono essere usate per esprimere lo stesso anticorpo o un altro anticorpo:

28F3, VH, sequenza segnale:

MEFGLSWVFLVALLRGVQC (SEQ ID NO:315)

ATGGAGTTTGGGCTGAGCTGGGTTTTCCTCGTTGCTCTTTTAAGAGGTGTCCAGTGT (SEQ ID NO:316)

28F3, VL, sequenza segnale:

MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARC (SEQ ID NO:317)

ATGGACATGAGGGTCCCCGCTCAGCTCCTGGGGCTTCTGCTGCTCTGGCTCCCAGGT GCCAGAT (SEQ ID NO: 318)

18E10, VH, sequenza segnale:

MEFGLSWVFLVALLRGVQC (SEQ ID NO:315)

ATGGAGTTTGGGCTGAGCTGGGTTTTCCTCGTTGCTCTTTTAAGAGGTGTCCAGTGT (SEQ ID NO:316)

18H10, VL, sequenza segnale:

MDMRVLAQLLGLLLLCFPGARC (SEQ ID NO:317)

ATGGACATGAGGGTCCTCGCTCAGCTCCTGGGGCTCCTGCTGCTCTGTTTCCCAGGT GCCAGAT (SEQ ID NO: 318)

19D3, VH, sequenza segnale:

MEFGLSWVFLVALLRGVQC (SEQ ID NO:315)

ATGGAGTTTGGGCTGAGCTGGGTTTTCCTCGTTGCTCTTTTAAGAGGTGTCCAGTGT (SEQ ID NO:316)

19D3, VL, sequenza segnale:

MRVLAQLLGLLLLCFPGARC (SEQ ID NO:319)

ATGAGGGTCCTCGCTCAGCTCCTGGGGCTCCTGCTGCTCTGTTTCCCAGGTGCCAGA TGT (SEQ ID NO: 320)

3C3, VH, sequenza segnale:

MKHLWFFLLLVAAPRWVLS (SEQ ID NO:321)

ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTCCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTCCTGTCC (SEQ ID NO:322)

3C3, VL1, sequenza segnale:

MDMRVLAQLLGLLLLCFPGARC (SEQ ID NO:323)

ATGGACATGAGGGTCCTCGCTCAGCTCCTGGGGCTCCTGCTGCTCTGTTTCCCAGGT GCCAGATGT (SEQ ID NO: 324)

3C3, VL2, sequenza segnale:

MEAPAQLLFLLLLWLPDTTG (SEQ ID NO:325)

ATGGAAGCCCCAGCGCAGCTTCTCTTCCTCCTGCTACTCTGGCTCCCAGATACCACC GGA (SEQ ID NO: 326)

8A6, VH, sequenza segnale:

MEFGLNWVFLVALLRGVQC (SEQ ID NO:327)

ATGGAGTTTGGGCTGAACTGGGTTTTCCTCGTTGCTCTTTTAAGAGGTGTCCAGTGT (SEQ ID NO:328)

8A6, VL, sequenza segnale:

MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARC (SEQ ID NO:317)

ATGGACATGAGGGTCCCCGCTCAGCTCCTGGGGCTTCTGCTGCTCTGGCTCCCAGGT GCCAGATGT (SEQ ID NO: 318)

9G7, VH, sequenza segnale:

MEFGLSWIFLAAILKGVQC (SEQ ID NO:329)

ATGGAGTTTGGGCTGAGCTGGATTTTCCTTGCTGCTATTTTAAAAGGTGTCCAGTGT (SEQ ID NO:330)

9G7, VL1 e VL2, sequenza segnale:

METPAQLLFLLLLWLPDTTG (SEQ ID NO:331)

ATGGAAACCCCAGCGCAGCTTCTCTTCCTCCTGCTACTCTGGCTCCCAGATACCACC GGA (SEQ ID NO: 332)

14E3, VH, sequenza segnale:

MKHLWFFLLLVAAPRWVLS (SEQ ID NO:333)

ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTCCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTCCTGTCC (SEQ ID NO:334)

14E3, VL, sequenza segnale:

MDMRVLAQLLGLLLLCFPGARC (SEQ ID NO:323)

ATGGACATGAGGGTCCTCGCTCAGCTCCTGGGGCTCCTGCTGCTCTGTTTCCCAGGT GCCAGATGT (SEQ ID NO: 324)

19H8, VH, sequenza segnale:

MEFGLSWVFLVALLRGVQC (SEQ ID NO:315)

ATGGAGTTTGGGCTGAGCTGGGTTTTCCTCGTTGCTCTTTTAAGAGGTGTCCAGTGT (SEQ ID NO:316)

19H8, VL1, sequenza segnale:

MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARC (SEQ ID NO:317)

ATGGACATGAGGGTCCCCGCTCAGCTCCTGGGGCTTCTGCTGCTCTGGCTCCCAGGT GCCAGATGT (SEQ ID NO: 318)

19H8, VL2, sequenza segnale:

MEAPAQLLFLLLLWLPDTTG (SEQ ID NO:325)

ATGGAAGCCCCAGCTCAGCTTCTCTTCCTCCTGCTACTCTGGCTCCCAGATACCACC GGA (SEQ ID NO: 326)

6G10, VH, sequenza segnale:

MEFGLSWVFLVALLRGVQC (SEQ ID NO:315)

ATGGAGTTTGGGCTGAGCTGGGTTTTCCTCGTTGCTCTTTTAAGAGGTGTCCAGTGT (SEQ ID NO:316)

6G10, VL, sequenza segnale:

MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARC (SEQ ID NO:317)

ATGGACATGAGGGTCCCCGCTCAGCTCCTGGGGCTTCTGCTGCTCTGGCTCCCAGGT GCCAGATGT (SEQ ID NO: 318)

Per esprimere le catene pesanti e leggere, è possibile usare la sequenza segnale MRAWIFFLLCLA GRALA (SEQ ID NO:367).

Le catene pesanti e leggere o loro porzioni, come quelle fornite nella Tabella 11, possono essere collegate ad una sequenza segnale qui fornita. Ad esempio, la catena pesante di 28F3 o la sua regione variabile, ad esempio comprendente SEQ ID NO:13, 15, 17 o 18, può essere collegata o fusa ad un peptide segnale comprendente o costituito da MEFGLSWVFLVALLRGVQC (SEQ ID NO:315) o MRAWIFFLL CLAGRALA (SEQ ID NO:367). La catena leggera di 28F3 o la sua regione variabile, ad esempio comprendente SEQ ID NO:14, 16 o 19, può essere collegata o fusa ad un peptide segnale comprendente o costituito da MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARC (SEQ ID NO:317) o MRAWIFFLLCLAGRALA (SEQ ID NO:367).

Oltre ai geni per le catene di anticorpo, i vettori di espressione ricombinante possono trasportare sequenze regolatorie che controllano l'espressione dei geni per le catene di anticorpo in una cellula ospite. Il termine "sequenza regolatoria" intende comprendere promotori, potenziatori e altri elementi di controllo dell'espressione (ad esempio segnali di poliadenilazione) che controllano la trascrizione o la traduzione dei geni per le catene di anticorpo. Tali sequenze regolatorie sono descritte, ad esempio, in Goeddel (Gene Expression Technology. Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, CA (1990)). Gli esperti nel ramo sapranno che la progettazione del vettore di

espressione, inclusa la selezione delle sequenze regolatorie, può dipendere da fattori come la scelta della cellula ospite da trasformare, il livello di espressione della proteina desiderata, ecc. Le sequenze regolatorie preferite per l'espressione in cellule ospiti di mammifero comprendono elementi virali che danno luogo ad alti livelli di espressione della proteina in cellule di mammifero, come promotori e/o potenziatori derivati dal citomegalovirus (CMV), dal virus 40 di scimmia (SV40), dall'adenovirus (ad esempio il promotore tardivo maggiore dell'adenovirus (AdMLP)) e dal polioma. In alternativa, è possibile adoperare sequenze regolatorie non virali, come il promotore per l'ubiquitina o il promotore per la β-globina. Ancora ulteriormente, è possibile usare elementi regolatori costituiti da sequenze di fonti differenti, come il sistema promotore SRα che contiene sequenze del promotore precoce di SV40 e la ripetizione terminale lunga del virus della leucemia a cellule T umana di tipo 1 (Takebe Y. et al., (1988) Mol. Cell. Biol. 8:466-472).

Oltre ai geni per le catene di anticorpo e alle sequenze regolatorie, i vettori di espressione ricombinante possono contenere ulteriori sequenze, come sequenze che regolano la replicazione del vettore nelle cellule ospiti (ad esempio origini di replicazione) e geni marcatori selezionabili. Il gene marcatore selezionabile facilita la selezione delle cellule ospiti in cui il vettore è stato introdotto (vedere ad esempio i brevetti US 4.399.216, US 4.634.665 e US 5.179.017, tutti di Axel et al.). Ad esempio, il gene marcatore selezionabile conferisce tipicamente una resistenza a farmaci, come G418, igromicina o metotrexato, ad una cellula ospite in cui il vettore è stato introdotto. I geni marcatori selezionabili preferiti comprendono il gene per la diidrofolato reduttasi (DHFR) (da usare in cellule ospiti dhfr- insieme ad una selezione/amplificazione con metotrexato) e il gene neo (per una selezione con G418).

Per esprimere la catena leggera e la catena pesante, il/i vettori di espressione codificanti per la catena pesante e per quella leggera vengono trasfettati in una cellula ospite attraverso tecniche standard. Le varie forme del termine "trasfezione" intendono comprendere un'ampia varietà di tecniche comunemente usate per introdurre un DNA esogeno in una cellula ospite procariotica o eucariotica, ad esempio l'elettroporazione, la precipitazione con fosfato di calcio, la trasfezione con DEAE-destrano e simili. Benché gli anticorpi qui descritti possano essere teoricamente espressi sia in cellule ospiti procariotiche che in cellule ospiti eucariotiche, l'espressione degli anticorpi nelle cellule eucariotiche e, con preferenza assoluta, in cellule ospiti di mammifero, è quella maggiormente preferita perché tali cellule eucariotiche, e specialmente tali cellule di mammifero, hanno una maggiore probabilità di assemblare e secernere un anticorpo

correttamente ripiegato e immunologicamente attivo rispetto alle cellule procariotiche. È stato riportato che l'espressione di geni di anticorpo nei procarioti è inefficace per la produzione di un anticorpo attivo con rese elevate (Boss M. A. e Wood C. R., (1985) Immunology Today 6:12-13).

Le cellule ospiti di mammifero preferite per esprimere gli anticorpi ricombinanti qui descritti comprendono le cellule di ovaio di criceto cinese (CHO) (incluse le cellule CHO dhfr- descritte in Urlaub e Chasin, (1980) Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 77:4216-4220, e usate con un marcatore selezionabile DHFR, ad esempio come descritto in R. J. Kaufman e P. A. Sharp, (1982) Mol. Biol. 159:601-621), le cellule di mieloma NSO, le cellule COS e le cellule SP2. In particolare, un altro sistema di espressione preferito per l'uso con le cellule di mieloma NSO è il sistema di espressione genica GS divulgato in WO 87/04462, WO 89/01036 ed EP 338.841. Quando i vettori di espressione ricombinante che codificano per i geni di anticorpo vengono introdotti in cellule ospiti di mammifero, la produzione degli anticorpi viene ottenuta coltivando le cellule ospiti per un periodo di tempo sufficiente a permettere l'espressione dell'anticorpo nelle cellule ospiti o, più preferibilmente, a permettere la secrezione dell'anticorpo nel terreno di coltura in cui le cellule ospiti crescono. Gli anticorpi possono essere recuperati dal terreno di coltura usando metodi standard di purificazione delle proteine.

XII. Saggi

Il legame degli anticorpi qui descritti a GITR può essere esaminato, ad esempio, attraverso un ELISA standard. In breve, questa metodologia prevede di rivestire piastre di microtitolazione con un GITR purificato a 1-2 μg/ml in PBS prima di bloccarle con sieroalbumina bovina 5% in PBS. Ad ogni pozzetto vengono aggiunte diluizioni di un anticorpo (ad esempio diluizioni di plasma di topi immunizzati con GITR), le quali vengono incubate per 1-2 ore a 37°C. Le piastre vengono lavate con PBS/Tween e poi incubate con un reagente secondario (ad esempio, per gli anticorpi umani, un reagente policlonale Fc-specifico anti-IgG umana di capra) coniugato con perossidasi di rafano (HRP) per 1 ora a 37°C. Dopo averle lavate, le piastre vengono sviluppate con il substrato ABTS (Moss Inc., prodotto: ABTS-1000) e analizzate su uno spettrofotometro a OD 415-495. I sieri dei topi immunizzati vengono poi sottoposti ad un ulteriore screening in flussocitometria per valutare se essi si legano ad una linea cellulare che esprime il GITR umano ma non ad una linea cellulare di controllo che non esprime GITR. In breve, il legame degli anti-anticorpi GITR viene valutato

incubando cellule CHO che esprimono GITR con l'anticorpo anti-GITR ad una diluizione di 1:20. Le cellule vengono lavate, e il legame viene rilevato con un Ab anti-IgG umana che è marcato con PE. Le analisi in flussocitometria vengono eseguite adoperando un flussocitometro FACScan (Becton Dickinson, San Jose, CA). Preferibilmente, i topi che verranno usati per le fusioni saranno quelli che sviluppano i titoli più alti.

Per lo screening degli anticorpi, e dunque degli ibridomi produttori di anticorpi, che mostrano una reattività positiva all'immunogeno GITR, è possibile adoperare un saggio ELISA come descritto sopra. Gli ibridomi produttori di anticorpi che si legano a GITR, preferibilmente con un'alta affinità, possono essere poi subclonati e ulteriormente caratterizzati. Per ogni ibridoma è poi possibile selezionare un singolo clone che mantiene la reattività delle cellule d'origine (via ELISA), creando così una banca cellulare e permettendo di purificare gli anticorpi.

Per purificare gli anticorpi anti-GITR, gli ibridomi selezionati possono essere fatti crescere in beute da centrifuga da due litri per la purificazione degli anticorpi monoclonali. I sovranatanti possono essere filtrati e concentrati prima di sottoporli a cromatografia di affinità con proteina A-Sepharose (Pharmacia, Piscataway, NJ). Le IgG eluite possono essere verificate mediante elettroforesi su gel e cromatografia liquida ad alto rendimento per garantirne la purezza. La soluzione tampone può essere sostituita con PBS, e la concentrazione può essere determinata a OD_{280} usando un coefficiente di estinzione di 1,43. Gli anticorpi monoclonali possono essere aliquotati e conservati a -80°C.

Per determinare se gli anticorpi monoclonali anti-GITR selezionati si legano ad epitopi univoci, ciascuno degli anticorpi può essere biotinilato adoperando reagenti disponibili in commercio (Pierce, Rockford, IL). Il legame dei mAb biotinilati può essere rilevato con una sonda marcata con streptavidina. Usando piastre ELISA rivestite con GITR come descritte sopra, è possibile eseguire studi di competizione che adoperano anticorpi monoclonali non marcati e anticorpi monoclonali biotinilati.

Per determinare l'isotipo degli anticorpi purificati, è possibile eseguire ELISA isotipici che adoperano reagenti specifici per gli anticorpi di un particolare isotipo. Ad esempio, per determinare l'isotipo di un anticorpo monoclonale umano, è possibile rivestire i pozzetti di piastre di microtitolazione con 1 µg/ml di un anti-immunoglobulina umana per una notte a 4°C. Dopo averle bloccate BSA 1%, le piastre vengono fatte reagire con 1 µg/ml o meno degli anticorpi

monoclonali di test o di isotipi di controllo purificati a temperatura ambiente per una o due ore. I pozzetti possono essere fatti reagire con sode coniugate con fosfatasi alcalina che sono specifiche sia per le IgG1 umane che per le IgM umane. Le piastre vengono sviluppate e analizzate come descritto sopra.

Per esaminare il legame degli anticorpi monoclonali a cellule vive che esprimono GITR, è possibile adoperare la flussocitometria come descritto negli Esempi. In breve, questa metodologia prevede di miscelare linee cellulari che esprimono un GITR legato a membrana (fatte crescere in condizioni di crescita standard) con varie concentrazioni degli anticorpi monoclonali in PBS contenente BSA 0,1% a 4°C per 1 ora. Dopo averle lavate, le cellule vengono fatte reagire con un anticorpo anti-IgG marcato con fluoresceina alle stesse condizioni usate per la colorazione con l'anticorpo primario. I campioni possono essere analizzati attraverso uno strumento FACScan che sfrutta le proprietà di dispersione diretta e laterale delle luce per separare le singole cellule e dunque determinare il legame degli anticorpi marcati. In aggiunta al saggio in flussocitometria (o in sua sostituzione), è possibile adoperare un saggio alternativo che adopera la microscopia a fluorescenza. Le cellule possono essere colorate esattamente come descritto sopra, e possono essere esaminate mediante microscopia a fluorescenza. Questo metodo permette di visualizzare le singole cellule ma, a seconda della densità dell'antigene, può avere una sensibilità diminuita.

La reattività degli anticorpi anti-GITR può essere ulteriormente esaminata con un antigene GITR via Western blot. In breve, è possibile preparare estratti cellulari di cellule che esprimono GITR, e sottoporli ad elettroforesi su gel di sodio-dodecil solfato-poliacrilammide. Dopo l'elettroforesi, gli antigeni separati verranno trasferiti su membrane di nitrocellulosa, bloccati con siero di topo 20% e sondati con gli anticorpi monoclonali da esaminare. Il legame delle IgG può essere rilevato con un anti-IgG-fosfatasi alcalina, e può essere sviluppato adoperando compresse di substrato BCIP/NBT (Sigma Chem. Co., St. Louis, MO).

I metodi per analizzare l'affinità di legame, la cross-reattività e la cinetica di legame di vari anticorpi anti-GITR comprendono saggi standard noti nel ramo, ad esempio l'analisi per risonanza plasmonica di superficie (SPR) Biacore™ che adopera uno strumento SPR Biacore™ 2000 (Biacore AB, Uppsala, Svezia).

In una forma esecutiva, un anticorpo si lega specificatamente alla regione extracellulare del GITR umano. Un anticorpo può legarsi specificatamente ad un particolare dominio (ad esempio un dominio funzionale) all'interno del

dominio extracellulare di GITR. In una forma esecutiva particolare, l'anticorpo si lega specificatamente al sito su GITR a cui si lega GITR-L. In certe forme esecutive, l'anticorpo si lega specificatamente alla regione extracellulare del GITR umano e alla regione extracellulare del GITR di cynomolgus. Preferibilmente, un anticorpo si lega al GITR umano con un'alta affinità.

XIII. Immunoconiugati, derivati di anticorpi e diagnostica

Gli anticorpi qui descritti possono essere usati per scopi diagnostici, ad esempio per esaminare campioni ed eseguire diagnostiche per immagini in vivo e, a questo scopo, l'anticorpo (o un suo frammento legante) può essere coniugato ad un agente rilevabile appropriato per formare un immunoconiugato. Gli agenti appropriati per scopi diagnostici sono marcatori rilevabili che comprendono radioisotopi per acquisire immagini a corpo intero, e radioisotopi, enzimi, marcatori fluorescenti e altre etichette anticorpali adatte per esaminare campioni.

I marcatori rilevabili possono essere uno qualsiasi dei vari tipi correntemente usati nel ramo della diagnostica in vitro, tra cui etichette particolate, ad esempio sol metallici, come oro colloidale, isotopi, come ^{125}I o ^{99}Tc, ad esempio in associazione con un agente chelante peptidico di tipo N_2S_2, N_3S o N_4, cromofori, tra cui marcatori fluorescenti, marcatori luminescenti, marcatori fosforescenti e simili, e anche marcatori enzimatici che convertono un dato substrato in un marcatore rilevabile, ed etichette polinucleotidiche che vengono rivelate quando amplificate, ad esempio attraverso la reazione a catena della polimerasi. I marcatori enzimatici adatti comprendono perossidasi di rafano, fosfatasi alcalina e simili. Ad esempio, il marcatore può essere l'enzima fosfatasi alcalina, che viene rilevato misurando la presenza o la formazione di una chemiluminescenza in seguito alla conversione di substrati a base di 1,2-diossetano, come adamantil metossi fosforilossi fenil diossetano (AMPPD), disodio 3-(4-(metossispiro{1,2-diossetan-3,2'-(5'-cloro)triciclo-{3.3.1.1^{3,7}}decan}-4-il)fenil fosfato (CSPD), e anche CDP, CDP-star® o altri substrati luminescenti ben noti nel ramo, ad esempio i chelati di lantanidi adatti, come terbio(III) ed europio(III). I mezzi di rilevamento sono dettati dal marcatore scelto. La comparsa del marcatore o dei suoi prodotti di reazione può essere rilevato ad occhio nudo se il marcatore è particolato e si accumula a livelli appropriati, o può essere rilevato usando strumenti, come uno spettrofotometro, un luminometro, un fluorimetro e simili, tutti secondo la pratica standard.

Preferibilmente, i collegamenti prodotti dai metodi di coniugazione sono sostanzialmente (o pressoché) non immunogenici, ad esempio collegamenti peptidici (ovvero ammide), solfuro (stericamente ingombrati), disolfuro, idrazone ed etere. Questi collegamenti sono pressoché non immunogenici e mostrano una stabilità ragionevole nel siero (vedere ad esempio Senter P. D., Curr. Opin. Chem. Biol. 13 (2009) 235-244; WO 2009/059278; WO 95/17886).

A seconda della natura biochimica della porzione e dell'anticorpo, è possibile adottare differenti strategie di coniugazione. Se la porzione è una porzione esistente in natura o ricombinante lunga tra 50 e 500 amminoacidi, esistono procedure standard nei libri di testo che descrivono la chimica per la sintesi dei coniugati proteici e che possono essere facilmente seguite dal tecnico esperto (vedere ad esempio Hackenberger C. P. R. e Schwarzer D., Angew. Chem., Int. Ed. Engl. 47 (2008) 10030-10074). Una forma esecutiva adopera la reazione tra una porzione di maleinimmido e un residuo di cisteina all'interno dell'anticorpo o della porzione. Questa è una chimica di accoppiamento particolarmente adatta in caso di utilizzo di un frammento Fab o Fab' di un anticorpo. In alternativa, in una forma esecutiva, l'accoppiamento viene condotto con l'estremità C-terminale dell'anticorpo o della porzione. La modifica del C-terminale di una proteina, ad esempio di un frammento Fab, può essere ad esempio condotta come descritto (Sunbul M. e Yin J., Org. Biomol. Chem. 7 (2009) 3361-3371).

In generale, le reazioni sito-specifiche e gli accoppiamenti covalenti sono basati sulla trasformazione di un amminoacido naturale in un amminoacido avente una reattività che è ortogonale alla reattività degli altri gruppi funzionali presenti. Un esempio può prevedere di convertire enzimaticamente una specifica cisteina nel contesto di sequenza rara in un'aldeide (vedere Frese M. A. e Dierks T., ChemBioChem 10 (2009) 425-427). Un'altra possibilità è quella di ottenere una modifica di amminoacido desiderata sfruttando la specifica reattività enzimatica di certi enzimi con un amminoacido naturale nel contesto di una data sequenza (vedere ad esempio Taki M. et al., Prot. Eng. Des. Sel. 17 (2004) 119-126; Gautier A. et al., Chem. Biol. 15 (2008) 128-136; e la formazione di legami C--N catalizzata da proteasi usata da Bordusa F., Highlights in Bioorganic Chemistry (2004) 389-403).

Le reazioni sito-specifiche e gli accoppiamenti covalenti possono anche essere ottenuti attraverso la reazione selettiva di amminoacidi terminali con reagenti modificanti appropriati.

Sfruttando la reattività di una cisteina N-terminale con i benzonitrili, è possibile ottenere un accoppiamento covalente sito-specifico (vedere Ren H. et al., Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 48 (2009) 9658-9662).

Anche la ligazione chimica nativa è basata sui residui di cisteina C-terminali (Taylor E. Vogel; Imperiali B., Nucleic Acids and Molecular Biology (2009), 22 (Protein Engineering), 65-96).

EP 1 074 563 descrive un metodo di coniugazione che è basato sulla reazione più rapida di una cisteina situata all'interno di un tratto di amminoacidi di carica negativa con una cisteina situata in un tratto di amminoacidi di carica positiva.

La porzione può anche essere un peptide sintetico o un peptidomimetico. Quando un polipeptide viene sintetizzato chimicamente, tale sintesi permette di incorporare amminoacidi con una reattività chimica ortogonale (vedere ad esempio de Graaf A. J. et al., Bioconjug. Chem. 20 (2009) 1281-1295). Data la disponibilità di una grande varietà di gruppi funzionali ortogonali che possono essere introdotti in un peptide sintetico, la coniugazione di tale peptide ad un raccordo è una chimica standard.

Per ottenere un polipeptide mono-marcato, il coniugato con stechiometria 1:1 può essere separato dagli altri prodotti secondari della coniugazione via cromatografia. Questa procedura può essere facilitata dall'uso di un membro di una coppia di legame marcato con un colorante e di un raccordo carico. Adoperando questi tipo di membro di una coppia di legame marcato e provvisto di una grande carica negativa, i polipeptidi mono-coniugati vengono facilmente separati dai polipeptidi non marcati, e dai polipeptidi che recano più di un raccordo, grazie alla possibilità di sfruttare la differenza di carica e di peso molecolare per la separazione. Il colorante fluorescente può essere utile per purificare il complesso dai componenti non legati alla stessa stregua di un legante monovalente marcato.

In una forma esecutiva, la porzione attaccata ad un anticorpo anti-GITR è selezionata dal gruppo costituito da una porzione legante, una porzione di marcatura e una porzione biologicamente attiva.

Gli anticorpi qui descritti possono anche essere coniugati ad un agente terapeutico per formare un immunoconiugato, come un coniugato anticorpo-farmaco (ADC). Gli agenti terapeutici adatti comprendono antimetaboliti, agenti alchilanti, leganti il solco minore del DNA, intercalanti del DNA, reticolanti del DNA, inibitori delle istone deacetilasi, inibitori dell'esportazione nucleare, inibitori del proteasoma, inibitori della topoisomerasi I o II,

inibitori delle proteine da shock termico, inibitori delle chinasi a tirosina, antibiotici e agenti antimitotici. Nell'ADC, l'anticorpo e l'agente terapeutico sono preferibilmente coniugati per mezzo di un raccordo tagliabile, come un raccordo peptidilico, un raccordo disolfuro o un raccordo a base di idrazone. Più preferibilmente, il raccordo è un raccordo peptidilico, come Val-Cit, Ala-Val, Val-Ala-Val, Lys-Lys, Pro-Val-Gly-Val-Val (SEQ ID NO:219), Ala-Asn-Val, Val-Leu-Lys, Ala-Ala-Asn, Cit-Cit, Val-Lys, Lys, Cit, Ser o Glu. Gli ADC possono essere preparati come descritto nei brevetti US 7.087.600; US 6.989.452; e US 7.129.261; le pubblicazioni PCT WO 02/096910; WO 07/038658; WO 07/051081; WO 07/059404; WO 08/083312; e WO 08/103693; le pubblicazioni di brevetto US 20060024317; 20060004081; e 20060247295.

Gli anticorpi anti-GITR, ad esempio quelli qui descritti, possono essere usati per rilevare un GITR, come un GITR umano, ad esempio il GITR umano, in tessuti o campioni di tessuto. Ad esempio, gli anticorpi possono essere usati in un saggio ELISA o in flussocitometria. In certe forme esecutive, un anticorpo anti-GITR viene messo in contatto con cellule, ad esempio cellule in un tessuto, per un tempo appropriato affinché si instauri un legame specifico, prima di aggiungere un reagente, ad esempio un anticorpo, per rilevare l'anticorpo anti-GITR. Gli Esempi forniscono saggi esemplificativi. L'anticorpo anti-GITR può essere un anticorpo interamente umano o può essere un anticorpo chimerico, come un anticorpo avente regioni variabili umane e regioni costanti murine o loro porzioni. Esempi di metodi per rilevare un GITR, ad esempio il GITR umano, in un campione (campione cellulare o tissutale) prevedono di (i) mettere in contatto un campione con un anticorpo anti-GITR per un tempo sufficiente a permettere un legame specifico dell'anticorpo anti-GITR al GITR nel campione, e (2) mettere in contatto il campione con un reagente di rilevamento, ad esempio un anticorpo, che si lega specificatamente all'anticorpo anti-GITR, ad esempio alla regione Fc dell'anticorpo anti-GITR, in modo da rilevare il GITR legato dall'anticorpo anti-GITR. Dopo l'incubazione con l'anticorpo e/o il reagente di rilevamento, è possibile includere passaggi di lavaggio. Gli anticorpi anti-GITR per l'uso in questi metodi non devono essere collegati ad un marcatore o agente di rilevamento, dato che è possibile usare un agente di rilevamento separato.

Altri usi per gli anticorpi anti-GITR, ad esempio in monoterapia o terapia di combinazione, sono qui forniti altrove, ad esempio nella sezione che riguarda i trattamenti di combinazione.

XIV. Molecole bispecifiche

Gli anticorpi qui descritti possono essere usati per formare molecole bispecifiche. Un anticorpo anti-GITR, o una sua porzione legante l'antigene, può essere funzionalizzato o collegato con un'altra molecola funzionale, ad esempio un peptide o una proteina (ad esempio un altro anticorpo o un ligando per un recettore), in modo da generare una molecola bispecifica che si lega ad almeno due siti leganti o molecole bersaglio differenti. Ad esempio, un anticorpo anti-GITR può essere collegato ad un anticorpo o scFv che si lega specificatamente a qualsiasi proteina utilizzabile come potenziale bersaglio per trattamenti di combinazione, come le proteine qui descritte (ad esempio anticorpi contro PD-1, PD-L1 o LAG-3). Nella realtà, l'anticorpo qui descritto può essere funzionalizzato o collegato con più di un'altra molecola funzionale in modo da generare molecole multispecifiche che si legano a più di due siti leganti e/o molecole bersaglio differenti; nel presente contesto, il termine "molecola bispecifica" intende comprendere anche tali molecole multispecifiche. Per creare una molecola bispecifica qui descritta, un anticorpo qui descritto può essere funzionalmente collegato (ad esempio mediante accoppiamento chimico, tramite fusione genetica, attraverso un'associazione non covalente o in altro modo) ad una o più altre molecole leganti, come un altro anticorpo, un frammento di anticorpo, un peptide o un mimetico legante, con il risultato di ottenere una molecola bispecifica.

Segnatamente, qui vengono fornite molecole bispecifiche che comprendono almeno una prima specificità di legame per GITR e una seconda specificità di legame per un secondo epitopo bersaglio. In una forma esecutiva qui descritta in cui la molecola bispecifica è multispecifica, la molecola può inoltre comprendere una terza specificità di legame.

In una forma esecutiva, le molecole bispecifiche qui descritte comprendono, come specificità di legame, almeno un anticorpo o un suo frammento di anticorpo tra cui, ad esempio, un Fab, un Fab', un $F(ab')_2$, un Fv o un Fv a catena singola (scFv). L'anticorpo può anche essere un dimero di catene leggere o catene pesanti o qualsiasi suo frammento minimo, ad esempio un Fv o un costrutto a catena singola come descritto in Ladner et al., brevetto US 4.946.778.

Benché gli anticorpi monoclonali umani siano preferiti, altri anticorpi che possono essere impiegati nelle molecole bispecifiche qui descritte sono anticorpi monoclonali murini, chimerici e umanizzati.

Le molecole bispecifiche qui descritte possono essere preparate coniugando le specificità di legame costituenti attraverso l'uso di metodi noti nel ramo. Ad esempio, ciascuna specificità di legame della molecola bispecifica può essere generata separatamente e poi coniugata alle altre. Quando le specificità di legame sono proteine o peptidi, è possibile adoperare una varietà di agenti di accoppiamento o reticolazione per ottenere una coniugazione covalente. Esempi di agenti di reticolazione comprendono proteina A, carbodiimmide, N-succinimmidil-S-acetil-tioacetato (SATA), acido 5,5'-ditiobis(2-nitrobenzoico) (DTNB), o-fenilendimaleimmide (oPDM), N-succinimmidil-3-(2-piridilditio)propionato (SPDP) e solfosuccinimmidil 4-(N-maleimmidometil)cicloesan-1-carbossilato (solfo-SMCC) (vedere ad esempio Karpovsky et al., (1984) J. Exp. Med. 160:1686; Liu MA et al., (1985) Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 82:8648). Altri metodi comprendono quelli descritti in Paulus, (1985) Behring Ins. Mitt. No. 78, 118-132; Brennan et al., (1985) Science 229:81-83), e Glennie et al., (1987) J. Immunol. 139: 2367-2375). Gli agenti di coniugazione preferiti sono SATA e solfo-SMCC, entrambi disponibili da Pierce Chemical Co. (Rockford, IL).

Quando le specificità di legame sono anticorpi, essi possono essere coniugati attraverso legami solfidrile alle regioni cerniera C-terminali delle due catene pesanti. In una forma esecutiva particolarmente preferita, la regione cerniera viene modificata in modo da contenere un numero dispari di residui solfidrile, preferibilmente un singolo residuo solfidrile, prima della coniugazione.

In alternativa, entrambe le specificità di legame possono essere codificate nello stesso vettore ed essere espresse e assemblate nella stessa cellula ospite. Questo metodo è particolarmente utile quando la molecola bispecifica è una proteina di fusione mAb x mAb, mAb x Fab, mAb x $(scFv)_2$, Fab x $F(ab')_2$ o ligando x Fab. Un anticorpo bispecifico può comprendere un anticorpo comprendente un scFv al C-terminale di ciascuna catena pesante. Una molecola bispecifica qui descritta può essere una molecola a catena singola che comprende un anticorpo a catena singola e un determinante di legame, o una molecola bispecifica a catena singola che comprende due determinanti di legame. Le molecole bispecifiche possono comprendere almeno due molecole a catena singola. I metodi per preparare le molecole bispecifiche sono descritti, ad esempio, nel brevetto US 5.260.203; nel brevetto US 5.455.030; nel brevetto US 4.881.175; nel brevetto US 5.132.405; nel brevetto US 5.091.513; nel brevetto US 5.476.786; nel brevetto US 5.013.653; nel brevetto US 5.258.498; e nel brevetto US 5.482.858.

Il legame delle molecole bispecifiche ai loro specifici bersagli può essere confermato usando metodi riconosciuti nel ramo, come il saggio immunosorbente a legame enzimatico (ELISA), il radioimmunosaggio (RIA), il FACS, il biosaggio (ad esempio di inibizione della crescita) o il saggio Western Blot. Ciascuno di questi saggi rileva generalmente la presenza di complessi proteina-anticorpo di particolare interesse impiegando un reagente marcato (ad esempio un anticorpo) che è specifico per il complesso d'interesse.

XV. Composizioni

Vengono inoltre fornite composizioni, ad esempio composizioni farmaceutiche, che contengono uno o una combinazione di anticorpi anti-GITR o una combinazione con anticorpi diretti contro altri bersagli, o una o più loro porzioni leganti l'antigene, che sono formulate insieme ad un trasportatore farmaceuticamente accettabile. Tali composizioni possono comprendere uno o una combinazione di (ad esempio due o più differenti) anticorpi o immunoconiugati o molecole bispecifiche qui descritti/e. Ad esempio, una composizione farmaceutica qui descritta può comprendere una combinazione di anticorpi (o di immunoconiugati o molecole bispecifiche) che si legano ad epitopi differenti sull'antigene bersaglio o che hanno attività complementari.

In certe forme esecutive, una composizione comprende un anticorpo anti-GITR ad una concentrazione di almeno 1 mg/ml, 5 mg/ml, 10 mg/ml, 50 mg/ml, 100 mg/ml, 150 mg/ml, 200 mg/ml, 1-300 mg/ml o 100-300 mg/ml.

Le composizioni farmaceutiche qui descritte possono essere anche somministrate in una terapia di combinazione, ovvero in combinazione con altri agenti. Ad esempio, la terapia di combinazione può comprendere una anticorpo anti-GITR qui descritto in combinazione con almeno un altro agente anti-cancro e/o agente di stimolazione delle cellule T (ad esempio attivante). La sezione sottostante, che riguarda gli usi degli anticorpi qui descritti, descrive in maggiore dettaglio esempi di agenti terapeutici che possono essere usati in una terapia di combinazione.

In alcune forme esecutive, le composizioni terapeutiche qui divulgate possono comprendere altri composti, farmaci e/o agenti usati per il trattamento di un cancro. Tali composti, farmaci e/o agenti possono comprendere, ad esempio, farmaci chemioterapici, farmaci a piccola molecola, o anticorpi che stimolano la risposta immunitaria contro un dato cancro. In alcuni casi, le composizioni terapeutiche possono comprendere, ad esempio, uno o più di un

anticorpo anti-CTLA-4, un anticorpo anti-PD-1, un anticorpo anti-PDL-1, un anticorpo anti-OX40 (anche noto come CD134, TNFRSF4, ACT35 e/o TXGP1L), un anticorpo anti-CD 137 o un anticorpo anti-LAG-3.

Nel presente contesto, un "trasportatore farmaceuticamente accettabile" comprende qualsiasi e tutti i solventi, mezzi disperdenti, rivestimenti, agenti antibatterici e antimicotici, agenti isotonici, agenti di ritardo dell'assorbimento e simili che sono fisiologicamente compatibili. Preferibilmente, il trasportatore è adatto per la somministrazione endovenosa, intramuscolare, sottocutanea, parenterale, spinale o epidermica (ad esempio per iniezione o infusione). A seconda della via di somministrazione, il composto attivo, ovvero un anticorpo, un immunoconiugato o una molecola bispecifica, può essere rivestito con un materiale che protegge il composto dall'azione degli acidi e da altre condizioni naturali che possono inattivare il composto.

I composti farmaceutici qui descritti possono comprendere uno o più sali farmaceuticamente accettabili. Un "sale farmaceuticamente accettabile" identifica un sale che mantiene l'attività biologica desiderata del composto genitore senza causare effetti tossicologici indesiderati (vedere ad esempio Berge S. M. et al., (1977) J. Pharm. Sci. 66:1-19). Esempi di tali sali comprendono i sali per aggiunta di acido e i sali per aggiunta di base. I sali per aggiunta di acido comprendono quelli derivati da acidi inorganici atossici, come acido cloridrico, nitrico, fosforico, solforico, bromidrico, iodidrico, fosforo e simili, ma anche da acidi organici atossici, come acidi mono- e di-carbossilici alifatici, acidi alcanoici sostituiti con fenile, acidi idrossialcanoici, acidi aromatici, acidi solfonici alifatici e aromatici, e simili. I sali per aggiunta di base comprendono quelli derivati da metalli alcalino-terrosi, come sodio, potassio, magnesio, calcio e simili, e quelli derivati da ammine organiche atossiche, come N,N-dibenziletilendiammina, N-metilglucammina, cloroprocaina, colina, dietanolammina, etilendiammina, procaina e simili.

Una composizione farmaceutica qui descritta può inoltre comprendere un antiossidante farmaceuticamente accettabile. Esempi di antiossidanti farmaceuticamente accettabili comprendono: (1) antiossidanti idrosolubili, come acido ascorbico, cisteina cloridrato, bisolfato di sodio, metabisolfito di sodio, solfito di sodio e simili; (2) antiossidanti liposolubili, come ascorbil palmitato, idrossianisolo butilato (BHA), idrossitoluene butilato (BHT), lecitina, propil gallato, alfa-tocoferolo e simili; e (3) agenti chelanti i metalli, come acido citrico, acido etilendiamminotetraacetico (EDTA), sorbitolo, acido tartarico, acido fosforico e simili.

Esempi di trasportatori acquosi e non acquosi adatti che possono essere adoperati nelle composizioni farmaceutiche qui descritte comprendono acqua, etanolo, polioli (come glicerolo, propilenglicole, polietilenglicole e simili) e loro miscele adatte, oli vegetali, come olio d'oliva, ed esteri organici iniettabili, come etil oleato. La corretta fluidità può essere mantenuta, ad esempio, usando materiali di rivestimento come lecitina, mantenendo la granulometria richiesta nel caso delle dispersioni, e ricorrendo all'uso di tensioattivi.

Queste composizioni possono anche contenere adiuvanti come conservanti, agenti umettanti, agenti emulsionanti e agenti disperdenti. L'assenza di microrganismi può essere garantita sia attraverso le procedure di sterilizzazione discusse sopra che attraverso l'inclusione di vari agenti antibatterici e antifungini, ad esempio paraben, clorobutanolo, acido sorbico, fenolo e simili. Può anche essere desiderabile incorporare agenti isotonici come zuccheri, cloruro di sodio e simili nelle composizioni. Inoltre, l'assorbimento prolungato della forma farmaceutica iniettabile può essere ottenuto attraverso l'inclusione di agenti che ritardano l'assorbimento, come alluminio monostearato e gelatina.

I trasportatori farmaceuticamente accettabili comprendono soluzioni o dispersioni acquose sterili, e polveri sterili per la preparazione estemporanea di soluzioni o dispersioni iniettabili sterili. L'uso di tali mezzi e agenti per le sostanze farmaceuticamente attive è noto nel ramo. L'uso di qualsiasi mezzo o agente convenzionale nelle composizioni farmaceutiche qui descritte è contemplato a condizione che tale mezzo o agente sia compatibile con il composto attivo. Una composizione farmaceutica può comprendere un conservante o può essere priva di un conservante. Le composizioni possono incorporare ulteriori composti attivi.

Tipicamente, le composizioni terapeutiche devono essere sterili e stabili alle condizioni di produzione e conservazione. La composizione può essere formulata in una soluzione, una microemulsione, un liposoma o altra struttura ordinata che è adatta per ottenere un'alta concentrazione del farmaco. Il veicolo può essere un solvente o un mezzo disperdente che, ad esempio, contiene acqua, etanolo, un poliolo (ad esempio glicerolo, propilenglicole, polietilenglicole liquido e simili) e loro miscele adatte. La corretta fluidità può essere mantenuta, ad esempio, usando un rivestimento come lecitina, mantenendo la granulometria richiesta nel caso di una dispersione, e ricorrendo all'uso di tensioattivi. In molti casi, sarà preferibile che la composizione comprenda con agenti isotonici, ad esempio zuccheri, polialcool, come mannitolo o sorbitolo, o cloruro di sodio. Per ottenere un assorbimento prolungato delle composizioni

iniettabili, la composizione può essere caricata con un agente che ritarda l'assorbimento, ad esempio sali monostearati e gelatina.

Le soluzioni iniettabili sterili possono essere preparate incorporando la quantità richiesta del composto attivo in un solvente appropriato, all'occorrenza insieme ad uno o ad una combinazione degli ingredienti elencati sopra, prima di sterilizzare la miscela per microfiltrazione. Le dispersioni vengono generalmente preparate incorporando il composto attivo in un veicolo sterile che contiene un mezzo disperdente basico e gli altri ingredienti necessari, presi da quelli qui elencati. Nel caso delle polveri sterili per la preparazione di soluzioni iniettabili sterili, i metodi preferiti di preparazione sono l'essiccazione sotto vuoto e l'essiccazione per congelamento (liofilizzazione), che producono una polvere dell'ingrediente attivo più qualsiasi altro ingrediente desiderato che viene rilasciato da una sua soluzione precedentemente sterilizzata per filtrazione.

La quantità di ingrediente attivo che può essere combinata con un materiale di trasporto per produrre una forma di dosaggio unitario varierà a seconda del soggetto trattato e della particolare modalità di somministrazione. La quantità di ingrediente attivo che può essere combinata con un materiale di trasporto per produrre una forma di dosaggio unitario sarà generalmente quella quantità della composizione che produce un effetto terapeutico. Generalmente, su un totale di cento per cento, questa quantità varierà da circa 0,01 percento a circa novantanove percento dell'ingrediente attivo, preferibilmente da circa 0,1 percento a circa 70 percento, con preferenza assoluta da circa 1 percento a circa 30 percento dell'ingrediente attivo, in combinazione con un trasportatore farmaceuticamente accettabile.

I regimi di dosaggio vengono regolati in modo da fornire la risposta desiderata ottimale (ad esempio una risposta terapeutica). Ad esempio, è possibile somministrare un singolo bolo, è possibile somministrare diverse dosi suddivise nel tempo, o è possibile ridurre o aumentare la dose in proporzione a quanto indicato dalle esigenze della situazione terapeutica. Per promuovere la somministrazione e l'uniformità di dosaggio, è particolarmente vantaggioso formulare le composizioni parenterali in una forma di dosaggio unitario. Nel presente contesto, una forma di dosaggio unitario identifica unità fisicamente discrete che sono idonee come dosaggi unitari per i soggetti da trattare; ciascuna unità contiene una quantità predeterminata di composto attivo che è calcolata per produrre l'effetto terapeutico desiderato in associazione con il trasportatore farmaceutico richiesto. La specificazione delle forme di dosaggio unitario

qui descritte è dettata da, e dipende direttamente da, (a) le peculiari caratteristiche del composto attivo e il particolare effetto terapeutico da ottenere, e (b) i limiti di compoundizzazione di tale composto attivo, intrinseci nel ramo, per il trattamento di una sensibilità negli individui.

Per la somministrazione dell'anticorpo, il dosaggio varia da circa 0,0001 a 100 mg/kg e, più generalmente, da 0,01 a 5 o 10 mg/kg di peso corporeo dell'ospite. Ad esempio, i dosaggi possono essere 0,3 mg/kg di peso corporeo, 1 mg/kg di peso corporeo, 3 mg/kg di peso corporeo, 5 mg/kg di peso corporeo o 10 mg/kg di peso corporeo, o nell'intervallo di 1-10 mg/kg. Un regime di trattamento esemplificativo prevede una somministrazione una volta alla settimana, una volta ogni due settimane, una volta ogni tre settimane, una volta ogni quattro settimane, una volta al mese, una volta ogni 3 mesi, o una volta ogni tre - 6 mesi. I regimi di dosaggio preferiti per un anticorpo anti-GITR qui descritto comprendono 1 mg/kg di peso corporeo o 3 mg/kg di peso corporeo per somministrazione endovenosa, con l'anticorpo che viene fornito adoperando uno dei seguenti programmi di dosaggio: (i) ogni quattro settimane per sei dosaggi, poi ogni tre mesi; (ii) ogni tre settimane; (iii) una dose una tantum di 3 mg/kg peso corporeo, seguita da 1 mg/kg peso corporeo ogni tre settimane.

Un anticorpo anti-GITR può essere somministrato ad una dose flat (regime di dosaggio flat).

Alcuni metodi prevedono di somministrare simultaneamente due o più anticorpi monoclonali con specificità di legame differenti, nel qual caso il dosaggio di ciascuno degli anticorpi somministrati ricadrà all'interno degli intervalli indicati. L'anticorpo viene normalmente somministrato in molteplici occasioni. Gli intervalli tra i singoli dosaggi possono ad esempio essere settimanali, mensili, trimestrali o annuali. Gli intervalli possono anche essere irregolari e basati sui livelli misurati nel sangue del paziente per l'anticorpo diretto contro l'antigene bersaglio. Alcuni metodi prevedono di regolare il dosaggio in modo da ottenere una concentrazione dell'anticorpo nel plasma di circa 1-1000 μg/ml, mentre alcuni metodi prevedono di regolarlo in modo da ottenere una concentrazione dell'anticorpo nel plasma di circa 25-300 μg/ml.

Un anticorpo anti-GITR può essere somministrato insieme ad un altro anticorpo secondo il regime di dosaggio dell'altro anticorpo. Ad esempio, un anticorpo anti-GITR può essere somministrato insieme ad un anticorpo anti-PD-1, come nivolumab (OPDIVO), per infusione e.v. di 60 minuti ogni due settimane fino alla progressione della malattia o

fino a raggiungere una tossicità inaccettabile. Un anticorpo anti-GITR può essere somministrato insieme a pembrolizumab (KEYTRUDA) per infusione e.v. di 30 minuti ogni 3 settimane fino alla progressione della malattia o fino a raggiungere una tossicità inaccettabile.

Un anticorpo può essere somministrato in una formulazione a rilascio prolungato che richiede una somministrazione meno frequente. Il dosaggio e la frequenza variano a seconda dell'emivita dell'anticorpo nel paziente. In generale, gli anticorpi umani mostrano l'emivita più lunga, seguiti dagli anticorpi umanizzati, dagli anticorpi chimerici e dagli anticorpi non umani. Il dosaggio e la frequenza di somministrazione possono variare a seconda della natura - profilattica o terapeutica - del trattamento. Nelle applicazioni profilattiche, il dosaggio è relativamente basso e viene somministrato ad intervalli relativamente infrequenti durante un lungo periodo di tempo. Alcuni pazienti continuano a ricevere il trattamento per il resto della loro vita. Nelle applicazioni terapeutiche, il dosaggio necessario è talvolta relativamente alto e viene somministrato ad intervalli relativamente brevi fino a ridurre o arrestare la progressione della malattia e, preferibilmente, fino a quando il paziente non mostra un miglioramento parziale o completo dei sintomi della malattia. A quel punto, il paziente può ricevere la somministrazione di un regime profilattico.

I livelli effettivi di dosaggio degli ingredienti attivi contenuti nelle composizioni farmaceutiche qui descritte possono essere variati in modo da ottenere una quantità dell'ingrediente attivo che sia efficace a conseguire la risposta terapeutica desiderata per un particolare paziente, per una particolare composizione e per una particolare modalità di somministrazione senza essere tossica per il paziente. Il livello di dosaggio selezionato dipenderà da una varietà di fattori farmacocinetici, tra cui l'attività delle particolari composizioni qui descritte impiegate o delle loro forme di estere, sale o ammide, la via di somministrazione, il tempo di somministrazione, il tasso di escrezione del particolare composto usato, la durata del trattamento, l'uso di altri farmaci, composti e/o materiali in combinazione con le particolari composizioni impiegate, l'età, il sesso, il peso, la condizione, lo stato di salute generale e la storia medica pregressa del paziente trattato, e fattori simili che sono ben noti nelle arti mediche.

Una "dose terapeuticamente efficace" di un anticorpo anti-GITR qui descritto produce preferibilmente una diminuzione della severità dei sintomi della malattia, un aumento della frequenza e della durata dei periodi senza

sintomi della malattia, o la prevenzione di un deterioramento o di una disabilità causato/a dall'afflizione della malattia. Preferibilmente, nel contesto di un cancro, una dose terapeuticamente efficace aumenta la sopravvivenza e/o impedisce un ulteriore deterioramento dei sintomi fisici associati al cancro. I sintomi del cancro sono ben noti nel ramo e comprendono, ad esempio, nei con caratteristiche insolite, nei con alterazioni d'aspetto, tra cui asimmetria, bordo, colore e/o diametro, aree delle pelle neopigmentate, nei anomali, aree scure sotto le unghie, noduli alle mammelle, alterazioni nei capezzoli, cisti alle mammelle, dolore al petto, morte, calo ponderale, debolezza, astenia eccessiva, difficoltà a mangiare, perdita di appetito, tosse cronica, dispnea riacutizzante, sangue nell'espettorato, sangue nelle urine, sangue nelle feci, nausea, vomito, metastasi nel fegato, metastasi nei polmoni, metastasi nelle ossa, tensione addominale, gonfiore, presenza di fluido nella cavità peritoneale, sanguinamento vaginale, costipazione, distensione addominale, perforazione del colon, peritonite acuta (infezione, febbre, dolore), dolore, ematemesi, sudorazione pesante, febbre, alta pressione sanguigna, anemia, diarrea, ittero, vertigini, brividi, spasmi muscolari, metastasi nel colon, metastasi nei polmoni, metastasi nella vescica, metastasi nel fegato, metastasi nelle ossa, metastasi nel rene e metastasi nel pancreas, difficoltà di deglutizione e simili.

Inoltre, una dose terapeuticamente efficace può prevenire o ritardare l'insorgenza di un cancro, cosa desiderabile in presenza dei primi segni, o di segni preliminari, della malattia. I test di laboratorio usati per la diagnosi del cancro comprendono l'analisi chimica (inclusa la misurazione dei livelli di GITR), l'ematologia, la sierologia e la radiologia. Di conseguenza, per determinare se un particolare trattamento è una dose terapeuticamente efficace per il trattamento di un cancro, è possibile adoperare qualsiasi saggio clinico o biochimico in grado di determinare uno dei suddetti aspetti. Una persona di competenza ordinaria nel ramo sarà in grado di determinare tali quantità basandosi su fattori come la corporatura del soggetto, la severità dei sintomi del soggetto, e la particolare composizione o via di somministrazione selezionata.

Una composizione qui descritta può essere somministrata attraverso una o più vie di somministrazione e adoperando uno o più di una varietà di metodi noti nel ramo. Come saprà il tecnico esperto, la via e/o la modalità di somministrazione varieranno a seconda dei risultati desiderati. Le vie di somministrazione preferite per gli anticorpi qui descritti comprendono l'endovenosa, l'intramuscolare, l'intradermica, l'intraperitoneale, la sottocutanea, la spinale o altre

vie di somministrazione parenterale, ad esempio per iniezione o infusione. Nel presente contesto, l'espressione "somministrazione parenterale" identifica modalità di somministrazione diverse da quella enterica o topica, normalmente per iniezione, e comprendono, senza limitazioni, iniezioni e infusioni endovenose, intramuscolari, intrarteriose, intratecali, intracapsulari, intraorbitali, intracardiache, intradermiche, intraperitoneali, transtracheali, sottocutanee, subcuticulari, intrarticolari, subcapsulari, subaracnoidali, intraspinali, epidurali e intrasternali.

In alternativa, un anticorpo qui descritto può essere somministrato attraverso una via non parenterale, come attraverso una via di somministrazione topica, epidermica o mucosale, ad esempio intranasale, orale, vaginale, rettale, sublinguale o topica.

I composti attivi possono essere preparati combinandoli con trasportatori che impediranno un rapido rilascio del composto, ad esempio in una formulazione a rilascio controllato tra cui impianti, cerotti transdermici e sistemi di distribuzione microincapsulati. È possibile usare polimeri biocompatibili e biodegradabili, come etilene-vinil acetato, polianidridi, acido poliglicolico, collagene, poliortoesteri e acido polilattico. Molti metodi di preparazione di tali formulazioni sono brevettati o generalmente noti agli esperti nel ramo. Vedere ad esempio Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems, redattore J. R. Robinson, Marcel Dekker, Inc., New York, 1978.

Le composizioni terapeutiche possono essere somministrate attraverso dispositivi medicali noti nel ramo. Ad esempio, in una forma esecutiva preferita, una composizione terapeutica qui descritta può essere somministrata adoperando un dispositivo di iniezione ipodermica senza ago, come i dispositivi divulgati nei brevetti US 5.399.163; US 5.383.851; US 5.312.335; US 5.064.413; US 4.941.880; US 4.790.824; o US 4.596.556. Esempi di impianti e moduli ben noti per l'uso con gli anticorpi anti-GITR qui descritti comprendono: il brevetto US 4.487.603, che divulga una micro-pompa di infusione impiantabile per l'erogazione di una medicazione ad una velocità controllata; il brevetto US 4.486.194, che divulga un dispositivo terapeutico per la somministrazione di medicazioni attraverso la pelle; il brevetto US 4.447.233, che divulga una pompa di infusione per l'erogazione di una medicazione ad una precisa velocità di infusione; il brevetto US 4.447.224, che divulga un apparato di infusione impiantabile a flusso variabile per la distribuzione continua di farmaci; il brevetto US 4.439.196, che divulga un sistema di distribuzione osmotica di farmaci

con compartimenti multi-camera; e il brevetto US 4.475.196, che divulga un sistema di distribuzione osmotica di farmaci. Gli esperti nel ramo conoscono molti altri di tali impianti, sistemi di distribuzione e moduli.

In certe forme esecutive, gli anticorpi anti-GITR qui descritti possono essere formulati in maniera tale da garantire una loro opportuna distribuzione in vivo. Ad esempio, la barriera ematoencefalica (BBB) esclude molti composti altamente idrofili. Per garantire che i composti terapeutici qui descritti attraversino la BBB (se desiderato, ad esempio per i cancri del cervello), essi possono essere formulati, ad esempio, in liposomi. Per i metodi di produzione dei liposomi, vedere ad esempio i brevetti US 4.522.811; US 5.374.548; e US 5.399.331. I liposomi possono comprendere una o più porzioni che vengono selettivamente trasportate in specifiche cellule o in specifici organi, permettendo così di ottenere una migliore distribuzione mirata del farmaco (vedere ad esempio V. V. Ranade, (1989) J. Clin. Pharmacol. 29:685). Le porzioni bersaglio esemplificative comprendono il folato o la biotina (vedere ad esempio il brevetto US 5.416.016 di Low et al.); i mannosidi (Umezawa et al., (1988) Biochem. Biophys. Res. Commun. 153:1038); gli anticorpi (P. G. Bloeman et al., (1995) FEBS Lett. 357:140; M. Owais et al., (1995) Antimicrob. Agents Chemother. 39:180); il recettore per la proteina tensioattiva A (Briscoe et al., (1995) Am. J. Physiol. 1233:134); p120 (Schreier et al., (1994) J. Biol. Chem. 269:9090); vedere anche K. Keinanen; M. L. Laukkanen, (1994) FEBS Lett. 346:123; J. J. Killion; I. J. Fidler, (1994) Immunomethods 4:273.

XVI. Usi e metodi

Gli anticorpi, le composizioni di anticorpi e i metodi qui descritti/e presentano numerose utilità in vitro e in vivo tra cui, ad esempio, il potenziamento della risposta immunitaria attraverso l'attivazione della segnalazione di GITR, o il rilevamento di GITR. In una forma esecutiva preferita, gli anticorpi qui descritti sono anticorpi umani. Ad esempio, gli anticorpi anti-GITR qui descritti possono essere somministrati a cellule in coltura, ad esempio in vitro o ex vivo, o a soggetti umani, ad esempio in vivo, allo scopo di potenziare l'immunità in una varietà di malattie. Di conseguenza, qui vengono forniti usi di un anticorpo qui descritto in metodi per modificare una risposta immunitaria in un soggetto in modo da modificare la risposta immunitaria nel soggetto. Preferibilmente, la risposta viene potenziata, stimolata o sovraregolata.

I soggetti preferiti comprendono pazienti umani in cui sarà desiderabile potenziare una risposta immunitaria. I metodi sono particolarmente adatti per il trattamento di pazienti umani aventi un disturbo che può essere trattato intensificando una risposta immunitaria (ad esempio una risposta immunitaria cellulo T-mediata, ad esempio una risposta antigene-specifica delle cellule T). In una forma esecutiva particolare, i metodi sono particolarmente adatti per il trattamento di un cancro in vivo. Per ottenere un potenziamento antigene-specifico dell'immunità, gli anticorpi anti-GITR qui descritti possono essere somministrati insieme ad un antigene d'interesse, o l'antigene può essere già presente nel soggetto da trattare (come nel caso di un soggetto portatore di un tumore o portatore di un virus). Quando gli anticorpi diretti contro GITR vengono somministrati insieme ad un altro agente, i due possono essere somministrati separatamente o simultaneamente.

Sono anche inclusi metodi per rilevare la presenza dell'antigene GITR umano in un campione, o per misurare la quantità dell'antigene GITR umano, che prevedono di mettere in contatto il campione, e un campione di controllo, con un anticorpo monoclonale, ad esempio un anticorpo monoclonale umano, o con una sua porzione legante l'antigene, che si lega specificatamente al GITR umano, in condizioni che permettono la formazione di un complesso tra l'anticorpo o la sua porzione e il GITR umano. Viene poi rilevata la formazione di un complesso, in cui una differenza nella formazione del complesso tra il campione e il campione di controllo è indicativa della presenza dell'antigene GITR umano nel campione. Inoltre, gli anticorpi anti-GITR qui descritti possono essere usati per purificare il GITR umano mediante purificazione per immunoaffinità.

Data la capacità degli anticorpi anti-GITR qui descritti di stimolare o co-stimolare le risposte delle cellule T, ad esempio le risposte antigene-specifiche delle cellule T, vengono qui forniti metodi in vitro e in vivo di utilizzo degli anticorpi qui descritti per stimolare, potenziare o sovraregolare le risposte antigene-specifiche delle cellule T, ad esempio le risposte anti-tumore delle cellule T. In certe forme esecutive, viene anche fornita una stimolazione con CD3 (ad esempio mediante co-incubazione con una cellula che esprime un CD3 di membrana), la quale stimolazione può essere fornita simultaneamente, prima o dopo la stimolazione con un anticorpo anti-GITR. Ad esempio, qui vengono forniti metodi per stimolare una risposta antigene-specifica di una cellula T, i metodi prevedendo di mettere in contatto detta cellula T con un anticorpo anti-GITR qui descritto, e opzionalmente con un anticorpo anti-CD3, in modo da

stimolare una risposta antigene-specifica della cellula T. Per misurare la risposta antigene-specifica della cellula T, è possibile adoperare qualsiasi indicatore adatto di una risposta antigene-specifica della cellula T. Esempi non limitativi di tali indicatori adatti comprendono una proliferazione aumentata della cellula T in presenza dell'anticorpo, e/o una produzione aumentata di citochine in presenza dell'anticorpo. In una forma esecutiva preferita, viene stimolata la produzione di interleuchina-2 e/o interferone-γ da parte della cellula T antigene-specifica.

Le cellule T che possono essere potenziate o co-stimolate con gli anticorpi anti-GITR comprendono le cellule T CD4+ e le cellule T CD8+. Le cellule T possono essere cellule T_{eff}, ad esempio cellule T_{eff} CD4+, cellule T_{eff} CD8+, cellule T helper (T_h) e cellule T citotossiche (T_c).

Sono inoltre inclusi usi di un anticorpo anti-GITR qui descritto in metodi per stimolare una risposta immunitaria (ad esempio una risposta antigene-specifica delle cellule T) in un soggetto allo scopo di stimolare una risposta immunitaria (ad esempio una risposta antigene-specifica delle cellule T) nel soggetto. In una forma esecutiva preferita, il soggetto è un soggetto portatore di un tumore, e la risposta stimolata è una risposta immunitaria contro il tumore. Un tumore può essere un tumore solido o un tumore liquido, ad esempio una neoplasia maligna ematologica. In certe forme esecutive, un tumore è un tumore immunogenico. In certe forme esecutive, il tumore è non immunogenico. In certe forme esecutive, il tumore è positivo a PD-L1. In certe forme esecutive, il tumore è negativo a PD-L1. Un soggetto può anche essere un soggetto portatore di un virus, e la risposta stimolata è una risposta immunitaria contro il virus.

Vengono inoltre forniti usi di un anticorpo anti-GITR qui descritto in metodi per inibire la crescita di cellule tumorali in un soggetto in modo da inibire la crescita del tumore nel soggetto. Vengono inoltre forniti usi di un anticorpo anti-GITR qui descritto in metodi per trattare un'infezione virale in un soggetto in modo da trattare l'infezione virale nel soggetto.

Qui sono anche contemplati usi di un anticorpo anti-GITR qui descritto comprendente un Fc che stimola la deplezione delle cellule T_{reg} nel microambiente di un tumore in metodi di deplezione delle cellule Treg dal microambiente di un tumore di un soggetto avente un tumore, ad esempio un tumore canceroso. Un Fc può ad esempio essere un Fc con funzione effettrice o con funzione effettrice potenziata, come un Fc con capacità di legame o con

capacità potenziata di legame ad uno o più recettori per Fc attivanti. In una forma esecutiva preferita, la deplezione delle T_{reg} non è accompagnata da una deplezione o inibizione significativa delle T_{eff} nel microambiente di un tumore e non è accompagnata da una deplezione o inibizione significativa delle cellule T_{eff} e delle cellule T_{reg} all'esterno del microambiente di un tumore, ad esempio in periferia. In certe forme esecutive, il soggetto ha livelli più alti di GITR sulle cellule T_{reg} che non sulle cellule T_{eff}, ad esempio nel microambiente di un tumore.

In certe forme esecutive, un soggetto viene trattato con un anticorpo anti-GITR avente un Fc che mostra un agonismo potenziato, ad esempio che ha una capacità di legame o una capacità potenziata di legame ad un FcRIIb inibitorio. Certi trattamenti vengono condotti con un anticorpo anti-GITR avente un Fc che non si lega ad uno o più FcR attivanti o che mostra un lega ridotto a tali recettori. Gli anticorpi anti-GITR possono depletare le Treg nei tumori e/o le Treg nei linfociti infiltranti il tumore (TIL).

In certe forme esecutive, un anticorpo anti-GITR viene dato ad un soggetto come terapia adiuvante. I trattamenti di soggetti aventi un cancro con un anticorpo anti-GITR possono prolungare la sopravvivenza, ad esempio possono produrre una risposta durevole a lungo termine rispetto allo standard di cura corrente; possono produrre una sopravvivenza a lungo termine di almeno 3 mesi, 6 mesi, 9 mesi, 1, 2, 3, 4, 5, 10 o più anni, o possono produrre una sopravvivenza senza recidiva di almeno 3 mesi, 6 mesi, 9 mesi, 1, 2, 3, 4, 5, 10 o più anni. In certe forme esecutive, il trattamento di un soggetto avente un cancro con un anticorpo anti-GITR impedisce la recidiva del cancro o ritarda la recidiva del cancro, ad esempio di 3 mesi, 6 mesi, 9 mesi, 1, 2, 3, 4, 5 10 o più anni. Un trattamento con un anticorpo anti-GITR può essere usato come trattamento di prima, seconda o terza linea.

In forme esecutive preferite, un anticorpo anti-GITR qui descritto non mostra una tossicità significativa. Ad esempio, un anticorpo anti-GITR non è significativamente tossico per un organo di un essere umano, ad esempio per uno o più di fegato, rene, cervello, polmoni e cuore, ad esempio come determinato in prove cliniche. In certe forme esecutive, un anticorpo anti-GITR non scatena una risposta immunitaria indesiderabile, ad esempio autoimmunità o infiammazione, in maniera significativa.

In certe forme esecutive, il trattamento di un soggetto con un agonista anti-GITR (ad esempio un anticorpo anti-GITR) non sovrastimolerà il sistema immunitario al punto che il sistema immunitario del soggetto attaccherà il

soggetto stesso (ad esempio una risposta autoimmune) o, ad esempio, causerà anafilassi. Pertanto, preferibilmente, gli anticorpi anti-GITR non causano anafilassi.

In certe forme esecutive, il trattamento di un soggetto con un anticorpo anti-GITR qui descritto, ad esempio con un anticorpo comprendente le CDR o regioni variabili di 28F3, non causa reazioni infiammatorie significative, ad esempio polmonite immuno-mediata, colite immuno-mediata, epatite immuno-mediata, nefrite o disfunzione renale immuno-mediata, ipofisite immuno-mediata, ipotiroidismo o ipertiroidismo immuno-mediato, o altre reazioni avverse immuno-mediate. In certe forme esecutive, un anticorpo anti-GITR comprendente le CDR o regioni variabili di 28F3 causa meno reazioni infiammatorie, ad esempio polmonite immuno-mediata, colite immuno-mediata, epatite immuno-mediata, nefrite o disfunzione renale immuno-mediata, ipofisite immuno-mediata, ipotiroidismo o ipertiroidismo immuno-mediato, anafilassi o altre reazioni avverse immuno-mediate, rispetto ad altri anticorpi anti-GITR. Le altre reazioni avverse immuno-mediate comprendono: disturbi cardiaci, ad esempio aritmia ventricolare; disturbi oculari, ad esempio iridociclite; reazioni correlate all'infusione; amilasi elevate, lipasi elevate; disturbi a carico del sistema nervoso, ad esempio vertigini, neuropatia periferica e sensoriale; disturbi a carico della pelle e dei tessuti sottocutanei, ad esempio rash, prurito, dermatite esfoliativa, eritema multiforme, vitiligine o psoriasi; disturbi a carico dell'apparato respiratorio, del torace e del mediastino, ad esempio tosse; astenia; nausea; appetito diminuito; stitichezza; artralgia; e diarrea.

In certe forme esecutive, un anticorpo anti-GITR fornisce effetti antitumorali sinergici in combinazione con un'altra terapia oncologica, come un composto che stimola il sistema immunitario (ad esempio un agente immuno-oncologico), ad esempio un composto qui descritto o un composto che modula un bersaglio qui descritto.

Questi e altri metodi qui descritti sono discussi sotto in ulteriore dettaglio.

Cancro

L'attivazione di GITR per mezzo degli anticorpi anti-GITR è in grado di potenziare la risposta immunitaria suscitata contro le cellule cancerose nel paziente. Qui vengono forniti metodi per trattare un soggetto avente un cancro, i metodi prevedendo di somministrare al soggetto un anticorpo anti-GITR qui descritto in modo da trattare il soggetto, ad esempio in modo da inibire o ridurre la crescita di tumori cancerosi, indurre la regressione dei tumori e/o prolungare la

sopravvivenza. Un anticorpo anti-GITR può essere usato da solo per inibire la crescita di tumori cancerosi. In alternativa, un anticorpo anti-GITR può essere usato in associazione con un altro agente, ad esempio un altro agente immunogenico, un trattamento anti-cancro standard o un altro anticorpo, come descritto sotto.

Di conseguenza, qui vengono forniti usi di un anticorpo anti-GITR qui descritto, ad esempio di 28F3.IgG1 o 28F3.IgG1.1, in metodi di trattamento di un cancro, ad esempio attraverso l'inibizione della crescita delle cellule tumorali. L'anticorpo può essere un anticorpo anti-GITR umano (come uno qualsiasi degli anticorpi umani anti-GITR umano qui descritti). In aggiunta o in alternativa, l'anticorpo può essere un anticorpo anti-GITR chimerico o umanizzato, ad esempio un anticorpo anti-GITR chimerico o umanizzato che comprende sequenze di 28F3 o di altri anticorpi anti-GITR qui descritti.

I cancri la cui crescita può essere inibita attraverso l'uso degli anticorpi dell'invenzione comprendono tumori che tipicamente rispondono all'immunoterapia e tumori che tipicamente non rispondono all'immunoterapia. I cancri possono essere cancri con tumori solidi o neoplasie maligne del sangue (tumori liquidi). Esempi non limitativi di cancri per il trattamento comprendono carcinoma a cellule squamose, cancro del polmone a piccole cellule, cancro del polmone non a piccole cellule, cancro del polmone non a piccole cellule squamoso (NSCLC), NSCLC non squamoso, glioma, cancro gastrointestinale, cancro del rene (ad esempio carcinoma a cellule chiare), cancro dell'ovaio, cancro del fegato, cancro del colon-retto, cancro dell'endometrio, cancro del rene (ad esempio carcinoma a cellule renali (RCC)), cancro della prostata (ad esempio adenocarcinoma della prostata ormono-refrattario), cancro della tiroide, neuroblastoma, cancro del pancreas, glioblastoma (glioblastoma multiforme), cancro della cervice, cancro dello stomaco, cancro della vescica, epatoma, cancro della mammella, carcinoma del colon e cancro (o carcinoma) di testa e collo, cancro gastrico, tumore a cellule germinali, sarcoma pediatrico, natural killer sinonasali, melanoma (ad esempio melanoma maligno metastatico, come melanoma maligno cutaneo o intraoculare), cancro delle ossa, cancro della pelle, cancro dell'utero, cancro della regione anale, cancro del testicolo, carcinoma delle tube di Falloppio, carcinoma dell'endometrio, carcinoma della cervice, carcinoma della vagina, carcinoma della vulva, cancro dell'esofago, cancro dell'intestino tenue, cancro del sistema endocrino, cancro della ghiandola paratiroidea, cancro della ghiandola surrenale, sarcoma dei tessuti molli, cancro dell'uretra, cancro del pene, tumori solidi dell'infanzia, cancro dell'uretere, carcinoma

della pelvi renale, neoplasie del sistema nervoso centrale (SNC), linfoma primario del SNC, angiogenesi tumorale, tumore dell'asse spinale, cancro del cervello, glioma dello stelo cerebrale, adenoma pituitario, sarcoma di Kaposi, cancro epidermoide, cancro a cellule squamose, linfoma a cellule T, cancri indotti dall'ambiente, tra cui quelli indotti dall'amianto, cancri virus-correlati o cancri di origine virale (ad esempio cancri correlati al o discendenti dal papillomavirus umano (HPV)), e neoplasie maligne ematologiche derivate da uno dei due lignaggi principali delle cellule ematiche, ovvero il lignaggio delle cellule mieloidi (che produce granulociti, eritrociti, trombociti, macrofagi e mastociti) o il lignaggio delle cellule linfoidi (che produce le cellule B, le cellule T, le cellule NK e le plasmacellule), come tutti i tipi di leucemie, linfomi e mielomi, ad esempio leucemie acute, croniche, linfocitiche e/o mielogene, come leucemia acuta (ALL), leucemia mielogena acuta (AML), leucemia linfocitica cronica (CLL) e leucemia mielogena cronica (CML), AML non differenziata (M0), leucemia mieloblastica (M1), leucemia mieloblastica (M2; con maturazione delle cellule), leucemia promielocitica (M3 o M3 variante [M3V]), leucemia mielomonocitica (M4 o M4 variante con eosinofilia [M4E]), leucemia monocitica (M5), eritroleucemia (M6), leucemia megacarioblastica (M7), sarcoma granulocitico isolato e cloroma; linfomi, come linfoma di Hodgkin (HL), linfoma non Hodgkin (NHL), neoplasie maligne ematologiche a cellule B, ad esempio linfomi a cellule B, linfomi a cellule T, linfoma linfoplasmocitoide, linfoma monocitoide a cellule B, linfoma del tessuto linfoide mucosa-associato (MALT), linfoma anaplastico a grandi cellule (ad esempio Ki 1+), linfoma/leucemia a cellule T nell'adulto, linfoma angioimmunoblastico a cellule T, linfoma angiocentrico, linfoma intestinale a cellule T, linfoma primitivo a cellule B nel mediastino, linfoma linfoblastico a precursori T, linfoma T-linfoblastico; e linfoma/leucemia (T-Lbly/TALL), linfoma periferico a cellule T, linfoma linfoblastico, disturbi linfoproliferativi post-trapianto, linfoma istiocitico vero, linfoma primitivo del sistema nervoso centrale, linfoma effusivo primitivo, linfoma a cellule B, linfoma linfoblastico (LBL), tumori ematopoietici del lignaggio linfoide, leucemia linfoblastica acuta, linfoma diffuso a grandi cellule B, linfoma di Burkitt, linfoma follicolare, linfoma istiocitico diffuso (DHL), linfoma immunoblastico a grandi cellule, linfoma linfoblastico a precursori B, linfoma cutaneo a cellule T (CTLC) (anche denominato micosi fungoide o sindrome di Sézary) e linfoma linfoplasmocitoide (LPL) con macroglobulinemia di Waldenstrom; mielomi, come mieloma a IgG, mieloma a catene leggere, mieloma non secernente, mieloma "smoldering" (anche denominato mieloma indolente), plasmocitoma

solitario e mielomi multipli, leucemia linfocitica cronica (CLL), linfoma a cellule capellute; tumori ematopoietici del lignaggio mieloide, tumori di origine mesenchimale, tra cui fibrosarcoma e rabdomiosarcoma; seminoma, teratocarcinoma, tumori del sistema nervoso centrale e periferico, tra cui astrocitoma, schwannomi; tumori di origine mesenchimale, tra cui fibrosarcoma, rabdomiosarcoma e osteosarcoma; e altri tumori, tra cui melanoma, xeroderma pigmentoso, cheratoacantoma, seminoma, cancro follicolare della tiroide e teratocarcinoma, tumori ematopoietici del lignaggio linfoide, ad esempio tumori a cellule T e cellule B tra cui, ma senza limitazioni, disturbi delle cellule T, come leucemia T-prolinfocitica (T-PLL), tra cui il tipo a piccole cellule e il tipo a cellule cerebriformi; leucemia linfocitica granulare a grandi cellule (LGL), preferibilmente del tipo a cellule T; linfoma epatosplenico a T-NHL a/d; linfoma periferico/post-timico a cellule T (sottotipi pleomorfo e immunoblastico); linfoma angiocentrico (nasale) a cellule T; cancro di testa o collo, cancro del rene, cancro del retto, cancro della ghiandola tiroidea; linfoma mieloide acuto, e anche qualsiasi combinazione di detti cancri. I metodi qui descritti possono anche essere usati per il trattamento di cancri metastatici, cancri non resecabili e/o refrattari (ad esempio cancri refrattari ad immunoterapia pregressa, ad esempio con un anticorpo anti-CTLA-4 o anti-PD-1 bloccante), e cancri recidivanti.

In certe forme esecutive, un Ab anti-GITR viene somministrato a pazienti aventi un cancro che ha mostrato una risposta inadeguata ad un trattamento pregresso, ad esempio ad un trattamento pregresso con un farmaco immuno-oncologico, o a pazienti aventi un cancro che è refrattario o resistente, a prescindere dal fatto che la refrattarietà o la resistenza sia intrinseca (ad esempio una refrattarietà ad un antagonista della via di PD-1) o che lo stato resistente o refrattario sia acquisito. Ad esempio, i soggetti che non rispondono o che rispondono in misura insufficiente ad una prima terapia, o che assistono ad una progressione della malattia dopo un trattamento, ad esempio dopo un trattamento con un anti-PD-1, possono essere trattati attraverso la somministrazione di un anticorpo anti-GITR da solo o in combinazione con un'altra terapia (ad esempio con una terapia a base di anti-PD-1).

In certe forme esecutive, un anticorpo anti-GITR viene somministrato a pazienti che non hanno precedentemente ricevuto (ovvero che non sono stati trattati con) un agente immuno-oncologico, ad esempio un antagonista della via di PD-1.

Un anticorpo anti-GITR può essere somministrato con un trattamento standard di cura. Un anticorpo anti-GITR può essere somministrato in una terapia di mantenimento, ad esempio in una terapia progettata per prevenire l'occorrenza o la recidiva di tumori.

Un anticorpo anti-GITR può essere somministrato insieme ad un altro trattamento, ad esempio radiazione, chirurgia o chemioterapia. Ad esempio, una terapia a base di un anticorpo anti-GITR può essere somministrata come terapia adiuvante in presenza di un rischio di possibile presenza di metastasi e/o allo scopo di ridurre il rischio di recidiva.

Un anticorpo anti-GITR può essere somministrato in monoterapia o come unica terapia immunostimolante. Gli anticorpi diretti contro GITR, ad esempio gli anticorpi anti-GITR qui descritti, possono essere anche combinati con un agente immunogenico, come cellule cancerose, antigeni tumorali purificati (tra cui proteine ricombinanti, peptidi e molecole carboidratiche), cellule, e cellule trasfettate con geni codificanti per citochine immunostimolanti (He et al., (2004) J. Immunol. 173:4919-28). Esempi non limitativi di vaccini tumorali che possono essere usati comprendono peptidi di antigeni del melanoma, come peptidi di gp100, antigeni di MAGE, Trp-2, MART1 e/o tirosinasi, o cellule tumorali trasfettate per esprimere la citochina GM-CSF (discusso ulteriormente sotto).

Negli esseri umani, è stato mostrato che certi tumori, come i melanomi, sono immunogenici. Abbassando la soglia di attivazione delle cellule T attraverso l'attivazione di GITR, è possibile attivare le risposte tumorali nell'ospite, offrendo così la possibilità di trattare i tumori non immunogenici o quelli aventi un'immunogenicità limitata.

Un anticorpo anti-GITR, ad esempio un anticorpo anti-GITR qui descritto, può essere combinato con un protocollo di vaccinazione. Sono state ideate molte strategie sperimentali di vaccinazione contro i tumori (vedere Rosenberg S., 2000, Development of Cancer Vaccines, ASCO Educational Book Spring: 60-62; Logothetis C., 2000, ASCO Educational Book Spring: 300-302; Khayat D., 2000, ASCO Educational Book Spring: 414-428; Foon K., 2000, ASCO Educational Book Spring: 730-738; vedere anche Restifo N. e Sznol M., Cancer Vaccines, Cap. 61, pagg. 3023-3043 in DeVita et al. (redattori), Cancer: Principles and Practice of Oncology, 1997, Quinta Edizione). Una di queste strategie prevede di preparare un vaccino usando cellule tumorali autologhe o allogeniche. È stato mostrato che questi vaccini cellulari sono più efficaci quando le cellule tumorali vengono trasdotte per esprimere GM-CSF. È stato mostrato

che GM-CSF è un potente attivatore della presentazione dell'antigene per la vaccinazione tumorale (Dranoff et al., (1993) Proc. Nat'l Acad. Sci U.S.A. 90:3539-43).

Lo studio dell'espressione genica e dei modelli di espressione genica su larga scala in vari tumori ha portato a definire i cosiddetti antigeni tumore-specifici (Rosenberg S. A., (1999) Immunity 10:281-7). In molti casi, questi antigeni tumore-specifici sono antigeni di differenziazione che vengono espressi nei tumori e nelle cellule da cui il tumore nasce, ad esempio gli antigeni dei melanociti gp100, gli antigeni MAGE e Trp-2. Cosa più importante, è possibile dimostrare che molti di questi antigeni sono il bersaglio delle cellule T tumore-specifiche presenti nell'ospite. L'attivazione di GITR può essere usata in combinazione con una collezione di proteine e/o peptidi ricombinanti espresse/i in un tumore allo scopo di generare una risposta immunitaria contro queste proteine. Queste proteine vengono normalmente viste dal sistema immunitario come antigeni self e, pertanto, vengono tollerate. L'antigene tumorale può comprendere la proteina telomerasi, che è necessaria per la sintesi dei telomeri nei cromosomi e che viene espressa in più di 85% dei cancri umani e solo in un numero limitato di tessuti somatici (Kim et al., (1994) Science 266:2011-2013). Gli antigeni tumorali possono anche essere "neo-antigeni" espressi nelle cellule cancerose a causa di mutazioni somatiche che alterano la sequenza della proteina o creano proteine di fusione tra due sequenze non correlate (ad esempio bcr-abl nel cromosoma Philadelphia), o possono essere idiotipici per i tumori a cellule B.

Altri vaccini tumorali possono comprendere le proteine di virus coinvolti in cancri umani, come il papillomavirus umano (HPV), il virus dell'epatite (HBV e HCV) e l'herpesvirus del sarcoma di Kaposi (KHSV). Un'altra forma di antigene tumore-specifico che può essere usata in combinazione con l'attivazione di GITR è rappresentata dalle proteine da shock termico (HSP) isolate dallo stesso tessuto tumorale e purificate. Queste proteine da shock termico contengono frammenti di proteine delle cellule tumorali, e queste HSP mostrano un'alta efficacia di distribuzione alle cellule presentanti l'antigene per suscitare un'immunità tumorale (Suot e Srivastava, (1995) Science 269:1585-1588; Tamura et al., (1997) Science 278:117-120).

Le cellule dendritiche (DC) sono potenti cellule presentanti l'antigene che possono essere usate per innescare risposte antigene-specifiche. Le DC possono essere prodotte ex vivo e caricate sia con vari antigeni proteici e peptidici che con vari estratti di cellule tumorali (Nestle et al., (1998) Nature Medicine 4:328-332). Le DC possono anche essere

trasdotte, attraverso mezzi genetici, in modo da esprimere anch'esse questi antigeni tumorali. Le DC sono state direttamente fuse alle cellule tumorali per scopi di immunizzazione (Kugler et al., (2000) Nature Medicine 6:332-336). Come metodo di vaccinazione, l'immunizzazione basata sulle DC può essere efficacemente combinata con l'attivazione di GITR allo scopo di attivare risposte antitumorali più potenti.

L'attivazione di GITR può anche essere combinata con trattamenti oncologici standard (ad esempio chirurgia, radiazione e chemioterapia). L'attivazione di GITR può essere efficacemente combinata con regimi chemioterapici. In questi casi, è possibile ridurre la dose somministrata di reagente chemioterapico (Mokyr et al., (1998) Cancer Research 58:5301-5304). Un esempio di tale combinazione è un anticorpo anti-GITR in combinazione con dacarbazina per il trattamento di un melanoma. Un altro esempio di tale combinazione è un anticorpo anti-GITR in combinazione con interleuchina-2 (IL-2) per il trattamento di un melanoma. La giustificazione scientifica alla base dell'uso combinato dell'attivazione di GITR con la chemioterapia è che la morte delle cellule, una conseguenza dell'azione citotossica della maggior parte dei composti chemioterapici, genererà livelli aumentati di antigene tumorale nella via di presentazione dell'antigene. Altre terapie di combinazione che possono produrre una sinergia con l'attivazione di GITR attraverso la morte delle cellule sono la radiazione, la chirurgia e la deprivazione ormonale. Ciascuno di questi protocolli crea una fonte di antigene tumorale nell'ospite. Anche gli inibitori dell'angiogenesi possono essere combinati con l'attivazione di GITR. L'inibizione dell'angiogenesi causa la morte delle cellule tumorali, ottenendo un antigene tumorale che può essere introdotto nelle vie di presentazione dell'antigene dell'ospite.

Gli anticorpi anti-GITR qui descritti possono anche essere adoperati in combinazione con anticorpi bispecifici capaci di prendere a bersaglio le cellule effettrici che esprimono i recettori per Fcα o Fcγ sulle cellule tumorali (vedere ad esempio i brevetti US 5.922.845 e US 5.837.243). Gli anticorpi bispecifici possono essere usati per prendere a bersaglio due antigeni separati. Ad esempio, gli anticorpi bispecifici anti-recettore per Fc/anti-antigene tumorale (ad esempio Her-2/neu) sono stati usati per prendere a bersaglio i macrofagi nei siti dei tumori. Questa localizzazione può attivare le risposte tumore-specifiche in maniera più efficace. Il braccio a cellule T di queste risposte verrà potenziato dall'attivazione di GITR. In alternativa, l'antigene può essere direttamente distribuito alle DC usando anticorpi

bispecifici che si legano all'antigene tumorale e ad un marcatore di superficie cellulare che è specifico per le cellule dendritiche.

I tumori eludono la sorveglianza immunitaria dell'ospite attraverso una grande varietà di meccanismi. Molti di questi meccanismi possono essere superati grazie all'inattivazione di proteine che vengono espresse dai tumori e che sono immunosoppressive. Queste comprendono, tra le altre, TGF-β (Kehrl et al., (1986) J. Exp. Med. 163:1037-1050), IL-10 (Howard e O'Garra, (1992) Immunology Today 13:198-200), e il ligando per Fas (Hahne et al., (1996) Science 274:1363-1365). Adoperando anticorpi diretti contro ciascuna di queste entità in combinazione con gli anticorpi anti-GITR, è possibile neutralizzare gli effetti degli agenti immunosoppressivi e favorire le risposte immunitarie esercitate dall'ospite contro il tumore.

Gli anticorpi anti-GITR possono essere adoperati in combinazione con altri anticorpi che attivano la responsività immunitaria dell'ospite. Questi comprendono molecole, presenti sulla superficie delle cellule dendritiche, che attivano la funzione delle DC e la presentazione dell'antigene. Gli anticorpi anti-CD40 sono in grado di rimpiazzare efficacemente l'attività delle cellule T helper (Ridge et al., (1998) Nature 393:474-478) e possono essere usati in combinazione con gli anticorpi anti-GITR. Anche gli anticorpi attivanti diretti contro molecole co-stimolatorie delle cellule T, come CTLA-4 (ad esempio il brevetto US 5.811.097), OX-40 (Weinberg et al., (2000) Immunol. 164:2160-2169), 4-1BB (Melero et al., (1997) Nature Medicine 3:682-685 (1997) e ICOS (Hutloff et al., (1999) Nature 397:262-266), possono fornire livelli aumentati di attivazione delle cellule T. Un anticorpo anti-GITR può anche essere usato in combinazione con inibitori di PD1 o PD-L1.

Il trapianto di midollo osseo viene attualmente usato per il trattamento di una varietà di tumori di origine emopoietica. Benché una conseguenza di questo trattamento sia la malattia dell'innesto contro l'ospite, è possibile trarre un beneficio terapeutico dalle risposte dell'innesto contro il tumore. L'attivazione di GITR può essere sfruttata per aumentare l'efficacia delle cellule T tumore-specifiche innestate dal donatore.

Esistono inoltre diversi protocolli di trattamento sperimentale che prevedono l'attivazione e l'espansione ex vivo di cellule T antigene-specifiche e il trasferimento adottivo di queste cellule in riceventi allo scopo di stimolare la produzione di cellule T antigene-specifiche contro un tumore (Greenberg e Riddell, (1999) Science 285:546-51). Questi

metodi possono essere anche usati per attivare le risposte delle cellule T contro agenti infettivi, come CMV. L'attivazione ex vivo in presenza degli anticorpi anti-GITR può aumentare la frequenza e l'attività delle cellule T che vengono usate per il trasferimento adottivo.

Malattie infettive

I metodi qui descritti possono anche essere usati per trattare pazienti che sono stati esposti a particolari tossine o patogeni. Di conseguenza, un altro aspetto qui descritto fornisce un anticorpo anti-GITR per l'uso in un metodo di trattamento di una malattia infettiva in un soggetto in modo da trattare la malattia infettiva nel soggetto. In aggiunta o in alternativa, l'anticorpo può essere un anticorpo chimerico o umanizzato.

In maniera simile alla sua applicazione nei tumori come discusso sopra, l'attivazione anticorpo-mediata di GITR può essere usata da sola, o come adiuvante in combinazione con vaccini, allo scopo di stimolare la risposta immunitaria nei confronti dei patogeni, delle tossine e degli antigeni self. Esempi di patogeni per cui questo approccio terapeutico può essere particolarmente utile comprendono i patogeni per cui non esiste attualmente un vaccino efficace, o i patogeni per cui i vaccini tradizionali sono meno che del tutto efficaci. Questi comprendono, ma senza limitazioni, HIV, epatite (A, B e C), Influenza, Herpes, Giardia, Malaria, Leishmania, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa. L'attivazione di GITR può essere utile contro infezioni stabilite da agenti, come HIV, che presentano antigeni alterati durante il corso dell'infezione. Questi nuovi epitopi vengono riconosciuti come estranei al momento della somministrazione dell'anticorpo anti-GITR umano, provocando così una forte risposta delle cellule T.

Alcuni esempi di virus patogeni responsabili di infezioni che possono essere trattate attraverso i metodi qui descritti comprendono HIV, epatite (A, B o C), herpesvirus (ad esempio VZV, HSV-1, HAV-6, HSV-II e CMV, virus di Epstein Barr), adenovirus, virus dell'influenza, flavivirus, ecovirus, rinovirus, coxsackievirus, coronavirus, virus sinciziale respiratorio, virus della parotite, rotavirus, virus del morbillo, virus della rosolia, parvovirus, virus vaccinia, virus HTLV, virus della dengue, papillomavirus, virus del mollusco, poliovirus, virus della rabbia, virus JC e virus dell'encefalite arbovirale.

Alcuni esempi di batteri patogeni responsabili di infezioni che possono essere trattate attraverso i metodi qui descritti comprendono clamidia, batteri rickettsie, micobatteri, stafilococchi, streptococchi, pneumococchi,

meningococchi e gonococchi, klebsiella, proteus, serratia, pseudomonas, legionella, difterite, salmonella, bacilli, colera, tetano, botulismo, antrace, peste, leptospirosi e batteri della malattia di Lyme.

Alcuni esempi di funghi patogeni responsabili di infezioni che possono essere trattate attraverso i metodi qui descritti comprendono Candida (albicans, krusei, glabrata, tropicalis, ecc.), Cryptococcus neoformans, Aspergillus (fumigatus, niger, ecc.), il genere Mucorales (mucor, absidia, rhizopus), Sporothrix schenkii, Blastomyces dermatitidis, Paracoccidioides brasiliensis, Coccidioides immitis e Histoplasma capsulatum.

Alcuni esempi di parassiti patogeni responsabili di infezioni che possono essere trattate attraverso i metodi qui descritti comprendono Entamoeba histolytica, Balantidium coli, Naegleriafowleri, Acanthamoeba sp., Giardia lambia, Cryptosporidium sp., Pneumocystis carinii, Plasmodium vivax, Babesia microti, Trypanosoma brucei, Trypanosoma cruzi, Leishmania donovani, Toxoplasma gondii, Nippostrongylus brasiliensis.

In tutti i metodi di sopra, l'attivazione di GITR può essere combinata con altre forme di immunoterapia, come un trattamento a base di citochine (ad esempio interferoni, GM-CSF, G-CSF, IL-2) o una terapia a base di anticorpi bispecifici, in modo da fornire una migliore presentazione degli antigeni tumorali (vedere ad esempio Holliger, (1993) Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 90:6444-6448; Poljak, (1994) Structure 2:1121-1123).

Reazioni autoimmuni

Gli anticorpi anti-GITR possono provocare e amplificare le risposte autoimmuni. In effetti, l'induzione di risposte antitumorali basata sull'uso di vaccini a base di cellule e peptidi tumorali rivela che molte risposte antitumorali coinvolgono reattività anti-self (van Elsas et al., (2001) J. Exp. Med. 194:481-489; Overwijk et al., (1999) Proc. Nat'l Acad. Sci. U.S.A. 96:2982-2987; Hurwitz (2000), sopra; Rosenberg e White, (1996) J. Immunother. Emphasis Tumor Immunol. 19(1):81-4). Di conseguenza, è possibile prendere in considerazione l'uso degli anticorpi anti-GITR in combinazione con varie proteine self allo scopo di progettare protocolli di vaccinazione capaci di generare efficacemente risposte immunitarie contro queste proteine self per il trattamento di malattie. Ad esempio, il morbo di Alzheimer causa un accumulo inappropriato di peptide Aβ nei depositi di amiloide del cervello; le risposte anticorpo-mediate contro l'amiloide sono in grado di rimuovere questi depositi di amiloide (Schenk et al., (1999) Nature 400:173-177).

I bersagli usati possono anche essere altre proteine self, come IgE per il trattamento di allergia e asma e TNFα per l'artrite reumatoide. Infine, attraverso l'uso di anticorpi anti-GITR, è possibile indurre risposte anticorpo-mediate contro vari ormoni. Le risposte mediate da anticorpi neutralizzanti contro gli ormoni riproduttivi possono essere usate per scopo contraccettivi. Anche una risposta mediata da anticorpi neutralizzanti contro ormoni e altri fattori solubili che sono richiesti per la crescita di particolari tumori può essere considerata un possibile obiettivo di una vaccinazione.

Adoperando metodi analoghi a quelli descritti sopra per l'uso degli anticorpi anti-GITR, è possibile indurre risposte autoimmuni terapeutiche per il trattamento di pazienti aventi un accumulo inappropriato di altri antigeni self, come depositi di amiloide, tra cui Aβ nel morbo di Alzheimer, citochine, come TNFα, e IgE.

Vaccini

Gli anticorpi anti-GITR qui descritti possono essere usati per stimolare risposte immunitarie antigene-specifiche attraverso la co-somministrazione di un anticorpo anti-GITR e di un antigene d'interesse (ad esempio un vaccino). Segnatamente, viene qui fornito (i) un antigene; e (ii) un anticorpo anti-GITR per l'uso in metodi di potenziamento di una risposta immunitaria contro un antigene in un soggetto in modo da potenziare una risposta immunitaria all'antigene nel soggetto. L'anticorpo può essere un anticorpo umano anti-GITR umano (come uno qualsiasi degli anticorpi umani anti-GITR qui descritti). In aggiunta o in alternativa, l'anticorpo può essere un anticorpo chimerico o umanizzato. L'antigene può ad esempio essere un antigene tumorale, un antigene virale, un antigene batterico o un antigene di un patogeno. Esempi non limitativi di tali antigeni comprendono quelli discussi nelle sezioni precedenti, come gli antigeni tumorali (o i vaccini tumorali) discussi sopra, o antigeni dei virus, dei batteri o degli altri agenti patogeni descritti sopra.

In certe forme esecutive, un peptide o una proteina di fusione comprendente l'epitopo a cui si lega l'anticorpo anti-GITR viene usato/a come vaccino al posto di o in aggiunta all'anticorpo anti-GITR.

Le vie di somministrazione adatte per le composizioni a base di anticorpi qui descritte in vivo e in vitro (ad esempio anticorpi monoclonali umani, molecole multispecifiche e bispecifiche, e immunoconiugati) sono ben note nel ramo e possono essere selezionate dalle persone di competenza ordinaria. Ad esempio, le composizioni a base di anticorpi possono essere somministrate per iniezione (ad esempio per via endovenosa o sottocutanea). I dosaggi adatti

delle molecole usate dipenderanno dall'età e dal peso del soggetto, e dalla concentrazione e/o dalla formulazione della composizione a base di anticorpi.

Come già descritto, gli anticorpi anti-GITR qui descritti possono essere co-somministrati insieme ad uno o più altri agenti terapeutici, ad esempio un agente citotossico, un agente radiotossico o un agente immunosoppressivo. L'anticorpo può essere collegato all'agente (in un immunocomplesso) o può essere somministrato separatamente dall'agente. Nel secondo caso (somministrazione separata), l'anticorpo può essere somministrato prima, dopo o in concomitanza con l'agente, o può essere co-somministrato con altre terapie note, ad esempio con una terapia anti-cancro, ad esempio con una radiazione. Tali agenti terapeutici comprendono, tra gli altri, agenti anti-neoplastici come doxorubicina (adriamicina), cisplatino, bleomicina solfato, carmustina, clorambucile, dacarbazina, ciclofosfammide e idrossiurea che, da soli, sono solamente efficaci a livelli che sono tossici o sub-tossici per un paziente. Il cisplatino viene somministrato per via endovenosa ad una dose di 100 mg/ml una volta ogni quattro settimane, mentre l'adriamicina viene somministrata per via endovenosa ad una dose di 60-75 mg/ml una volta ogni 21 giorni. La co-somministrazione degli anticorpi anti-GITR o dei loro frammenti leganti l'antigene qui descritti insieme ad agenti chemioterapici fornisce due agenti anti-cancro che operano attraverso meccanismi differenti e che producono un effetto citotossico sulle cellule tumorali umane. Tale co-somministrazione può risolvere i problemi dovuti allo sviluppo di una farmacoresistenza o ad un cambiamento di antigenicità nelle cellule tumorali che le renderebbe non reattive all'anticorpo.

L'ambito qui descritto circoscrive anche kit comprendenti le composizioni a base di anticorpi qui descritte (ad esempio anticorpi umani, molecole bispecifiche o multispecifiche, o immunoconiugati) e istruzioni per l'uso. Il kit può inoltre contenere almeno un reagente aggiuntivo o uno o più ulteriori anticorpi umani qui descritti (ad esempio un anticorpo umano avente un'attività complementare che si lega ad un epitopo sull'antigene GITR che è distinto da quello a cui si lega il primo anticorpo umano). I kit comprendono tipicamente un'etichetta per indicare l'uso prestabilito dei contenuti del kit. Il termine etichetta comprende qualsiasi materiale scritto o registrato che è fornito su o con il kit o che comunque accompagna il kit.

Terapie di combinazione

Oltre che nelle terapie di combinazione fornite sopra, gli anticorpi anti-GITR, ad esempio quelli qui descritti, possono anche essere usati in una terapia di combinazione come descritta sotto, ad esempio per trattare un cancro.

Qui vengono forniti metodi di terapia di combinazione in cui un anticorpo anti-GITR viene somministrato insieme ad uno o più agenti aggiuntivi, ad esempio farmaci a piccola molecola, anticorpi o loro porzioni leganti l'antigene, che sono efficaci a stimolare le risposte immunitarie e dunque potenziare, stimolare o sovraregolare ulteriormente le risposte immunitarie in un soggetto. Come mostrato negli Esempi, la somministrazione di un anticorpo anti-GITR agonista e di un anticorpo anti-PD-1 antagonista a topi mostrava un effetto sinergico nell'inibizione della crescita tumorale.

Generalmente, un anticorpo anti-GITR, ad esempio qui descritto, può essere combinato con (i) un agonista di una molecola (ad esempio un recettore o un ligando) stimolatoria (ad esempio co-stimolatoria), e/o (ii) un antagonista di un segnale inibitorio o di una molecola inibitoria (ad esempio un recettore o un ligando) su cellule immunitarie, come cellule T, il risultato essendo in entrambi i casi un'amplificazione delle risposte immunitarie, come un'amplificazione delle risposte antigene-specifiche delle cellule T. In certi aspetti, un agente immuno-oncologico è (i) un agonista di una molecola (ad esempio un recettore o un ligando) stimolatoria (incluso co-stimolatoria), e/o (ii) un antagonista di una molecola (ad esempio un recettore o un ligando) inibitoria (incluso co-inibitoria) su cellule coinvolte nell'immunità innata, ad esempio sulle cellule NK, e in cui l'agente immuno-oncologico potenzia l'immunità innata. Tali agenti immuno-oncologici vengono spesso identificati come regolatori dei checkpoint immunitari, ad esempio inibitori dei checkpoint immunitari o stimolatori dei checkpoint immunitari.

In certe forme esecutive, un anticorpo anti-GITR viene somministrato insieme ad un agente che prende a bersaglio una molecola stimolatoria o inibitoria che è un membro della superfamiglia delle immunoglobuline (IgSF). Ad esempio, gli anticorpi anti-GITR, ad esempio qui descritti, possono essere somministrati ad un soggetto insieme ad un agente che prende a bersaglio un membro della famiglia IgSF allo scopo di aumentare una risposta immunitaria. Ad esempio, un anticorpo anti-GITR può essere somministrato insieme ad un agente che prende a bersaglio (o si lega specificatamente a) un membro della famiglia di ligandi legati a membrana B7, che comprende B7-1, B7-2, B7-H1

(PD-L1), B7-DC (PD-L2), B7-H2 (ICOS-L), B7-H3, B7-H4, B7-H5 (VISTA), e B7-H6, o un recettore co-stimolatorio o co-inibitorio che si lega specificatamente ad un membro della famiglia B7.

Un anticorpo anti-GITR può anche essere somministrato insieme ad un agente che prende a bersaglio un membro della famiglia di molecole (ligandi o recettori) TNF e TNFR, come CD40 e CD40L, OX-40, OX-40L, CD70, CD27L, CD30, CD30L, 4-1BBL, CD137, TRAIL/Apo2-L, TRAILR1/DR4, TRAILR2/DR5, TRAILR3, TRAILR4, OPG, RANK, RANKL, TWEAKR/Fn14, TWEAK, BAFFR, EDAR, XEDAR, TACI, APRIL, BCMA, LTβR, LIGHT, DcR3, HVEM, VEGI/TL1A, TRAMP/DR3, EDA1, EDA2, TNFR1, linfotossina α/TNFβ, TNFR2, TNFα, LTβR, linfotossina α 1β2, FAS, FASL, RELT, DR6, TROY e NGFR (vedere ad esempio Tansey (2009) Drug Discovery Today 00:1).

Le risposte delle cellule T possono essere stimolate da una combinazione comprendente gli anticorpi anti-GITR qui descritti, ad esempio 28F3.IgG1 e 28F3.IgG1.1, e uno o più dei seguenti agenti:

(1) Un antagonista (agente inibitore o bloccante) di una proteina che inibisce l'attivazione delle cellule T (ad esempio inibitori di checkpoint immunitari), come le proteine CTLA-4, PD-1, PD-L1, PD-L2 e LAG-3 descritte sopra e una qualsiasi delle seguenti proteine: TIM-3, galectina-9, CEACAM-1, BTLA, CD69, galectina-1, TIGIT, CD113, GPR56, VISTA, B7-H3, B7-H4, 2B4, CD48, GARP, PD1H, LAIR1, TIM-1 e TIM-4; e/o

(2) Un agonista di una proteina che stimola l'attivazione delle cellule T, come B7-1, B7-2, CD28, 4-1BB (CD137), 4-1BBL, ICOS, ICOS-L, OX40, OX40L, CD70, CD27, CD40, DR3 e CD28H.

Gli agenti esemplificativi che modulano uno delle proteine di sopra e che possono essere combinati con gli anticorpi anti-GITR agonisti, ad esempio qui descritti, per il trattamento di un cancro comprendono: Yervoy™ (ipilimumab) o Tremelimumab (contro CTLA-4), galiximab (contro B7.1), BMS-936558 (contro PD-1), MK-3475 (contro PD-1), AMP224 (contro B7DC), BMS-936559 (contro B7-H1), MPDL3280A (contro B7-H1), MEDI-570 (contro ICOS), AMG557 (contro B7H2), MGA271 (contro B7H3), IMP321 (contro LAG-3), BMS-663513 (contro CD137), PF-05082566 (contro CD137), CDX-1127 (contro CD27), anti-OX40 (Providence Health Services), huMAbOX40L (contro OX40L), Atacicept (contro TACI), CP-870893 (contro CD40), Lucatumumab (contro CD40), Dacetuzumab (contro CD40), Muromonab-CD3 (contro CD3), Ipilumumab (contro CTLA-4).

Gli anticorpi anti-GITR possono anche essere somministrati insieme a pidilizumab (CT-011), benché la sua specificità di legame a PD-1 sia stata messa in discussione.

Altre molecole che possono essere combinate con gli anticorpi anti-GITR agonisti per il trattamento di un cancro comprendono antagonisti di recettori inibitori sulle cellule NK o agonisti di recettori attivanti sulle cellule NK. Ad esempio, gli anticorpi anti-GITR agonisti possono essere combinati con antagonisti di KIR (ad esempio lirilumab).

L'attivazione delle cellule T viene anche regolata dalle citochine solubili, e gli anticorpi anti-GITR possono essere somministrati ad un soggetto, ad esempio avente un cancro, insieme ad antagonisti di citochine che inibiscono l'attivazione delle cellule T o insieme ad agonisti di citochine che stimolano l'attivazione delle cellule T.

In certe forme esecutive, gli anticorpi anti-GITR possono essere usati in combinazione con (i) antagonisti (o inibitori o agenti bloccanti) di proteine della famiglia IgSF, della famiglia B7 o della famiglia TNF che inibiscono l'attivazione delle cellule T o antagonisti di citochine che inibiscono l'attivazione delle cellule T (ad esempio IL-6, IL-10, TGF-β, VEGF; "citochine immunosoppressive") e/o (ii) agonisti di recettori stimolatori della famiglia IgSF, della famiglia B7 o della famiglia TNF o di citochine che stimolano l'attivazione delle cellule T, per stimolare una risposta immunitaria, ad esempio per trattare malattie proliferative, come un cancro.

Ancora altri agenti per le terapie di combinazione comprendono agenti che inibiscono o depletano i macrofagi o i monociti tra cui, ma senza limitazioni, antagonisti di CSF-1R, come anticorpi anti-CSF-1R antagonisti tra cui RG7155 (WO11/70024, WO11/107553, WO11/131407, WO13/87699, WO13/119716, WO13/132044) o FPA-008 (WO11/140249; WO13169264; WO14/036357).

Gli anticorpi anti-GITR possono anche essere somministrati con agenti che inibiscono la segnalazione di TGF-β.

Ulteriori agenti che possono essere combinati con un anticorpo anti-GITR comprendono agenti che potenziano la presentazione degli antigeni tumorali, ad esempio vaccini a base di cellule dendritiche, vaccini a base di cellule che secernono GM-CSF, oligonucleotidi di tipo CpG e imiquimod, o terapie che potenziano l'immunogenicità delle cellule tumorali (ad esempio antracicline).

Ancora altre terapie che possono essere combinate con un anticorpo anti-GITR comprendono terapie che depletano o bloccano le cellule Treg, ad esempio un agente che si lega specificatamente a CD25.

Un'altra terapia che può essere combinata con un anticorpo anti-GITR è una terapia che inibisce un enzima metabolico, come indolammina diossigenasi (IDO), diossigenasi, arginasi od ossido nitrico sintetasi.

Un'altra classe di agenti che possono essere usati con un anticorpo anti-GITR comprende agenti che inibiscono la formazione dell'adenosina o che inibiscono il recettore per l'adenosina A2A.

Altre terapie che possono essere combinate con un anticorpo anti-GITR nel trattamento di un cancro comprendono terapie che invertono/impediscono l'anergia o l'esaurimento delle cellule T, e terapie che innescano l'attivazione del sistema immunitario innato e/o che innescano infiammazione nel sito di un tumore.

Un anticorpo anti-GITR può essere combinato con più di un agente immuno-oncologico e, ad esempio, può essere combinato con un approccio di combinazione che prende a bersaglio molteplici elementi della via immunitaria, come uno o più dei seguenti: una terapia che potenzia la presentazione di un antigene tumorale (ad esempio un vaccino a base di cellule dendritiche, vaccini a base di cellule che secernono GM-CSF, oligonucleotidi di tipo CpG, imiquimod); una terapia che inibisce un'immunoregolazione negativa, ad esempio inibendo la via di CTLA-4 e/o la via di PD1/PD-L1/PD-L2 e/o depletando o bloccando le Treg o altre cellule immunosoppressorie; una terapia che stimola un'immunoregolazione positiva, ad esempio con agonisti che stimolano la via di CD-137, OX-40 e/o GITR e/o che stimolano la funzione effettrice delle cellule T; una terapia che aumenta sistemicamente la frequenza delle cellule T antitumorali; una terapia che depleta o inibisce le Treg, come le Treg nel tumore, ad esempio usando un antagonista di CD25 (ad esempio daclizumab) o tramite deplezione ex vivo con sferette anti-CD25; una terapia che influenza la funzione delle cellule mieloidi soppressorie nel tumore; una terapia che potenzia l'immunogenicità delle cellule tumorali (ad esempio antracicline); il trasferimento adottivo di cellule T o cellule NK, incluso di cellule geneticamente modificate, ad esempio cellule modificate con recettori antigenici chimerici (terapia CAR-T); una terapia che inibisce un enzima metabolico, come indolammina diossigenasi (IDO), diossigenasi, arginasi od ossido nitrico sintetasi; una terapia che inverte/impedisce l'anergia o l'esaurimento delle cellule T; una terapia che innesca l'attivazione del sistema

immunitario innato e/o che innesca infiammazione nel sito di un tumore; la somministrazione di citochine immunostimolatorie; o il blocco di citochine immunosoppressorie.

Gli anticorpi anti-GITR agonisti qui descritti possono essere usati insieme ad uno o più agenti agonisti che si legano a recettori co-stimolatori positivi, agenti bloccanti che attenuano la segnalazione attraverso recettori inibitori, antagonisti, e uno o più agenti che aumentano sistemicamente la frequenza delle cellule T antitumorali, agenti che superano vie immunosoppressive distinte all'interno del microambiente di un tumore (ad esempio le interazioni PD-L1/PD-1), depletano o inibiscono le Treg (ad esempio usando un anticorpo monoclonale anti-CD25 (ad esempio daclizumab) o tramite deplezione ex vivo con sferette anti-CD25), inibiscono enzimi metabolici, come IDO, o invertono/impediscono l'anergia o l'esaurimento delle cellule T, e agenti che innescano l'attivazione del sistema immunitario innato e/o che innescano infiammazione nei siti tumorali.

In certe forme esecutive, un anticorpo anti-GITR viene somministrato ad un soggetto insieme ad un inibitore di BRAF se il soggetto è positivo ad una mutazione in V600 di BRAF.

In certe forme esecutive, l'anticorpo anti-GITR che viene somministrato insieme ad un altro anticorpo immunostimolante è un anticorpo qui descritto. L'anticorpo anti-GITR che viene somministrato insieme ad un altro anticorpo immunostimolante può essere un anticorpo avente le sequenze di CDR di 6C8, ad esempio un anticorpo umanizzato avente le CDR di 6C8, come ad esempio descritto in WO2006/105021; un anticorpo comprendente le CDR di un anticorpo anti-GITR descritto in WO2011/028683; un anticorpo comprendente le CDR di un anticorpo anti-GITR descritto in JP2008278814, un anticorpo comprendente le CDR di un anticorpo anti-GITR descritto in WO2015/031667, o un altro anticorpo anti-GITR qui descritto o identificato.

Qui vengono forniti metodi per stimolare una risposta immunitaria in un soggetto, i metodi prevedendo di somministrare al soggetto una molecola anti-GITR agonista, ad esempio un anticorpo, e uno o più ulteriori anticorpi immunostimolanti, come un antagonista anti-PD-1, ad esempio un anticorpo antagonista, un antagonista anti-PD-L1, ad esempio un anticorpo antagonista, un antagonista anti-CTLA-4, ad esempio un anticorpo antagonista, e/o un antagonista anti-LAG3, ad esempio un anticorpo antagonista, in modo da stimolare una risposta immunitaria nel soggetto, ad esempio per inibire la crescita di un tumore o stimolare una risposta antivirale. In una forma esecutiva, il soggetto riceve

in somministrazione un anticorpo anti-GITR agonista e un anticorpo anti-PD-1 antagonista. In una forma esecutiva, il soggetto riceve in somministrazione un anticorpo anti-GITR agonista e un anticorpo anti-PD-L1 antagonista. In una forma esecutiva, il soggetto riceve in somministrazione un anticorpo anti-GITR agonista e un anticorpo anti-CTLA-4 antagonista. In una forma esecutiva, l'anticorpo anti-GITR è un anticorpo umano, come un anticorpo qui descritto. In alternativa, l'anticorpo anti-GITR può ad esempio essere un anticorpo chimerico o umanizzato (ad esempio preparato da un mAb anti-GITR murino), come quelli qui descritti in ulteriore dettaglio. In una forma esecutiva, l'almeno un anticorpo immunostimolante aggiuntivo (ad esempio un anticorpo anti-PD-1 antagonista, un anticorpo anti-PD-L1 antagonista, un anticorpo anti-CTLA-4 antagonista e/o un anticorpo anti-LAG3 antagonista) è un anticorpo umano. In alternativa, l'almeno un anticorpo immunostimolante aggiuntivo può essere, ad esempio, un anticorpo chimerico o umanizzato (ad esempio preparato da un anticorpo anti-PD-1, anti-PD-L1, anti-CTLA-4 e/o anti-LAG3 murino).

Qui vengono forniti un anticorpo anti-GITR agonista e un anticorpo anti-PD-1 antagonista per l'uso in metodi di trattamento di una malattia iperproliferativa (ad esempio un cancro). In certe forme esecutive, l'anticorpo anti-GITR viene somministrato ad una dose subterapeutica, l'anticorpo anti-PD-1 viene somministrato ad una dose subterapeutica, o entrambi vengono somministrati ad una dose subterapeutica. Qui vengono anche forniti un anticorpo anti-GITR e una dose subterapeutica di un anticorpo anti-PD-1 per l'uso in metodi per alterare un evento avverso associato al trattamento di una malattia iperproliferativa con un agente immunostimolante. In certe forme esecutive, il soggetto è un essere umano. In certe forme esecutive, l'anticorpo anti-PD-1 è un anticorpo monoclonale a sequenza umana e l'anticorpo anti-GITR è un anticorpo monoclonale a sequenza umana, come un anticorpo comprendente le CDR di 28F3 o le regioni variabili di 28F3, 19D3, 18E10, 3C3-1, 3C3-2, 2G6, 8A6, 9G7-1, 9G7-2, 14E3, 19H8-1, 19H8-2 e 6G10 qui descritte (ad esempio 28F3.IgG1 o 28F3.IgG1.1) o di un altro anticorpo anti-GITR agonista qui descritto.

Gli antagonisti di PD-1 adatti per l'uso nei metodi qui descritti comprendono, senza limitazioni, ligandi, anticorpi (ad esempio anticorpi monoclonali e anticorpi bispecifici) e agenti multivalenti. In una forma esecutiva, l'antagonista di PD-1 è una proteina di fusione, ad esempio una proteina di fusione a Fc, come AMP-244. In una forma esecutiva, l'antagonista di PD-1 è un anticorpo anti-PD-1 o anti-PD-L1.

Un anticorpo anti-PD-1 esemplificativo è nivolumab (BMS-936558) o un anticorpo che comprende le CDR o regioni variabili di uno degli anticorpi 17D8, 2D3, 4H1, 5C4, 7D3, 5F4 e 4A11 descritti in WO 2006/121168. In certe forme esecutive, un anticorpo anti-PD1 è MK-3475 (Lambrolizumab), descritto in WO2012/145493; e AMP-514, descritto in WO 2012/145493. Ulteriori anticorpi anti-PD-1 noti e altri inibitori di PD-1 comprendono quelli descritti in WO 2009/014708, WO 03/099196, WO 2009/114335, WO 2011/066389, WO 2011/161699, WO 2012/145493, nei brevetti US 7.635.757 e US 8.217.149, e nella pubblicazione di brevetto US 2009/0317368. È anche possibile adoperare uno qualsiasi degli anticorpi anti-PD-1 divulgati in WO2013/173223. I trattamenti di combinazione possono anche adoperare un anticorpo anti-PD-1 che compete per il legame con uno di questi anticorpi e/o che si lega allo stesso epitopo su PD-1 a cui si lega uno di questi anticorpi. Un altro approccio per prendere a bersaglio il recettore PD-1 è una proteina ricombinante, denominata AMP-224, che è costituita dal dominio extracellulare di PD-L2 (B7-DC) fuso alla porzione Fc di una IgG1.

In certe forme esecutive, l'anticorpo anti-PD-1 si lega al PD-1 umano con una K_D di 5×10^{-8} M o meno, si lega al PD-1 umano con una K_D di 1×10^{-8} M o meno, si lega al PD-1 umano con una K_D di 5×10^{-9} M o meno, o si lega al PD-1 umano con una K_D tra 1×10^{-8} M e 1×10^{-10} M o meno.

Qui vengono forniti un anticorpo anti-GITR agonista e un anticorpo anti-PD-L1 antagonista per l'uso in metodi di trattamento di una malattia iperproliferativa (ad esempio un cancro). In certe forme esecutive, l'anticorpo anti-GITR viene somministrato ad una dose subterapeutica, l'anticorpo anti-PD-L1 viene somministrato ad una dose subterapeutica, o entrambi vengono somministrati ad una dose subterapeutica. Qui vengono forniti un anticorpo anti-GITR e una dose subterapeutica di un anticorpo anti-PD-L1 per l'uso in metodi per alterare un evento avverso associato al trattamento di una malattia iperproliferativa con un agente immunostimolante. In certe forme esecutive, il soggetto è un essere umano. In certe forme esecutive, l'anticorpo anti-PD-L1 è un anticorpo monoclonale a sequenza umana e l'anticorpo anti-GITR è un anticorpo monoclonale a sequenza umana, come un anticorpo comprendente le CDR di 28F3 o le regioni variabili di 28F3, 19D3, 18E10, 3C3-1, 3C3-2, 2G6, 8A6, 9G7-1, 9G7-2, 14E3, 19H8-1, 19H8-2 e 6G10 qui descritte (ad esempio 28F3.IgG1 o 28F3.IgG1.1) o di un altro anticorpo anti-GITR agonista qui descritto.

In una forma esecutiva, l'anticorpo anti-PD-L1 è BMS-936559 (identificato come 12A4 in WO 2007/005874 e nel brevetto US 7.943.743), o un anticorpo che comprende le CDR o regioni variabili di 3G10, 12A4, 10A5, 5F8, 10H10, 1B12, 7H1, 11E6, 12B7 e 13G4 che sono descritti nella pubblicazione PCT WO 07/005874 e nel brevetto US 7.943.743. In certe forme esecutive, un anticorpo anti-PD-L1 è MEDI4736 (anche noto come Anti-B7-H1), MPDL3280A (anche noto come RG7446), MSB0010718C (WO2013/79174) o rHigM12B7. È anche possibile adoperare uno qualsiasi degli anticorpi anti-PD-L1 divulgati in WO2013/173223, WO2011/066389, WO2012/145493, nei brevetti US 7.635.757 e US 8.217.149 e nella pubblicazione US 2009/145493. I trattamenti di combinazione possono anche adoperare anticorpi anti-PD-L1 che competono per il legame con uno qualsiasi di questi anticorpi e/o che si legano allo stesso epitopo a cui si lega uno qualsiasi di questi anticorpi.

In certe forme esecutive, l'anticorpo anti-PD-L1 si lega al PD-L1 umano con una K_D di 5×10^{-8} M o meno, si lega al PD-L1 umano con una K_D di 1×10^{-8} M o meno, si lega al PD-L1 umano con una K_D di 5×10^{-9} M o meno, o si lega al PD-L1 umano con una K_D tra 1×10^{-8} M e 1×10^{-10} M o meno.

Qui vengono forniti un anticorpo anti-GITR qui descritto e un anticorpo anti-CTLA-4 antagonista per l'uso in metodi di trattamento di una malattia iperproliferativa (ad esempio un cancro). In certe forme esecutive, l'anticorpo anti-GITR viene somministrato ad una dose subterapeutica, l'anticorpo anti-CTLA-4 viene somministrato ad una dose subterapeutica, o entrambi vengono somministrati ad una dose subterapeutica. Qui vengono forniti un anticorpo anti-GITR e una dose subterapeutica di un anticorpo anti-CTLA-4 per l'uso in metodi per alterare un evento avverso associato al trattamento di una malattia iperproliferativa con un agente immunostimolante. In certe forme esecutive, il soggetto è un essere umano. In certe forme esecutive, l'anticorpo anti-CTLA-4 è un anticorpo selezionato dal gruppo di: Yervoy™ (ipilimumab o anticorpo 10D1, descritto nella pubblicazione PCT WO 01/14424), tremelimumab (ex ticilimumab, CP-675.206), un monoclonale, o un anticorpo anti-CTLA-4 descritto in una qualsiasi delle seguenti pubblicazioni: WO 98/42752; WO 00/37504; brevetto US 6.207.156; Hurwitz et al., (1998) Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 95(17):10067-10071; Camacho et al., (2004) J. Clin. Oncology 22(145): Abstract n° 2505 (anticorpo CP-675206); e Mokyr et al., (1998) Cancer Res. 58:5301-5304. È anche possibile adoperare uno qualsiasi degli anticorpi anti-CTLA-4 divulgati in WO2013/173223.

In certe forme esecutive, l'anticorpo anti-CTLA-4 si lega al CTLA-4 umano con una K_D di 5×10^{-8} M o meno, si lega al CTLA-4 umano con una K_D di 1×10^{-8} M o meno, si lega al CTLA-4 umano con una K_D di 5×10^{-9} M o meno, o si lega al CTLA-4 umano con una K_D tra 1×10^{-8} M e 1×10^{-10} M o meno.

Qui vengono forniti un anticorpo anti-GITR e un anticorpo anti-LAG-3 per l'uso in metodi di trattamento una malattia iperproliferativa (ad esempio un cancro). In ulteriori forme esecutive, l'anticorpo anti-GITR viene somministrato ad una dose subterapeutica, l'anticorpo anti-LAG-3 viene somministrato ad una dose subterapeutica, o entrambi vengono somministrati ad una dose subterapeutica. Qui vengono forniti un anticorpo anti-GITR e una dose subterapeutica di un anticorpo anti-LAG-3 per l'uso in metodi per alterare un evento avverso associato al trattamento di una malattia iperproliferativa con un agente immunostimolante. In certe forme esecutive, il soggetto è un essere umano. In certe forme esecutive, l'anticorpo anti-PD-L1 è un anticorpo monoclonale a sequenza umana e l'anticorpo anti-GITR è un anticorpo monoclonale a sequenza umana, come un anticorpo comprendente le CDR di 28F3 o le regioni variabili di 28F3, 19D3, 18E10, 3C3-1, 3C3-2, 2G6, 8A6, 9G7-1, 9G7-2, 14E3, 19H8-1, 19H8-2 o 6G10 qui descritte (ad esempio 28F3.IgG1 o 28F3.IgG1.1) o di un altro anticorpo anti-GITR agonista qui descritto. Esempi di anticorpi anti-LAG3 comprendono anticorpi comprendenti le CDR o regioni variabili degli anticorpi 25F7, 26H10, 25E3, 8B7, 11F2 o 17E5 che sono descritti nella pubblicazione di brevetto US US2011/0150892, in WO10/19570 e in WO2014/008218. In una forma esecutiva, un anticorpo anti-LAG-3 è BMS-986016. Altri anticorpi anti-LAG-3 riconosciuti nel ramo che possono essere usati comprendono IMP731 e IMP-321, che sono descritti in US 2011/007023, WO08/132601 e WO09/44273. I trattamenti di combinazione possono anche adoperare anticorpi anti-LAG-3 che competono per il legame con uno qualsiasi di questi anticorpi e/o che si legano allo stesso epitopo a cui si lega uno qualsiasi di questi anticorpi.

In certe forme esecutive, l'anticorpo anti-LAG-3 si lega al LAG-3 umano con una K_D di 5×10^{-8} M o meno, si lega al LAG-3 umano con una K_D di 1×10^{-8} M o meno, si lega al LAG-3 umano con una K_D di 5×10^{-9} M o meno, o si lega al LAG-3 umano con una K_D tra 1×10^{-8} M e 1×10^{-10} M o meno.

La somministrazione degli anticorpi anti-GITR qui descritti e di antagonisti, ad esempio di anticorpi antagonisti, che sono diretti contro uno o più secondi antigeni bersaglio, come LAG-3 e/o CTLA-4 e/o PD-1 e/o PD-L1,

può potenziare la risposta immunitaria contro le cellule cancerose nel paziente. I cancri la cui crescita può essere inibita attraverso l'uso degli anticorpi della presente invenzione comprendono cancri che tipicamente rispondono all'immunoterapia e cancri che tipicamente non rispondono all'immunoterapia. Esempi rappresentativi di cancri da trattare con la terapia di combinazione della presente divulgazione comprendono i cancri qui elencati.

In certe forme esecutive, la combinazione di anticorpi terapeutici qui discussa può essere somministrata simultaneamente come una singola composizione in un trasportatore farmaceuticamente accettabile, o può essere somministrata simultaneamente come composizioni separate di ciascun anticorpo in un trasportatore farmaceuticamente accettabile. In un'altra forma esecutiva, la combinazione di anticorpi terapeutici può essere somministrata in sequenza. Ad esempio, un anticorpo anti-CTLA-4 e un anticorpo anti-GITR possono essere somministrati in sequenza, ad esempio, l'anticorpo anti-CTLA-4 viene somministrato per primo e l'anticorpo anti-GITR per secondo, o l'anticorpo anti-GITR viene somministrato per primo e l'anticorpo anti-CTLA-4 per secondo. In aggiunta o in alternativa, un anticorpo anti-PD-1 e un anticorpo anti-GITR possono essere somministrati in sequenza, ad esempio, l'anticorpo anti-PD-1 viene somministrato per primo e l'anticorpo anti-GITR per secondo, o l'anticorpo anti-GITR viene somministrato per primo e l'anticorpo anti-PD-1 per secondo. In aggiunta o in alternativa, un anticorpo anti-PD-L1 e un anticorpo anti-GITR possono essere somministrati in sequenza, ad esempio, l'anticorpo anti-PD-L1 viene somministrato per primo e l'anticorpo anti-GITR per secondo, o l'anticorpo anti-GITR viene somministrato per primo e l'anticorpo anti-PD-L1 per secondo. In aggiunta o in alternativa, un anticorpo anti-LAG-3 e un anticorpo anti-GITR possono essere somministrati in sequenza, ad esempio, l'anticorpo anti-LAG-3 viene somministrato per primo e l'anticorpo anti-GITR per secondo, o l'anticorpo anti-GITR viene somministrato per primo e l'anticorpo anti-LAG-3 per secondo.

Inoltre, in caso di somministrazione sequenziale di più di una dose della terapia di combinazione, è possibile invertire o mantenere invariato l'ordine di somministrazione sequenziale in ogni punto temporale della somministrazione, è possibile combinare somministrazioni sequenziali con somministrazioni simultanee, o una qualsiasi combinazione delle due cose. Ad esempio, la prima somministrazione di una combinazione anticorpo anti-CTLA-4 e anticorpo anti-GITR può essere simultanea, la seconda somministrazione può essere sequenziale con l'anticorpo anti-CTLA-4 per primo e l'anticorpo anti-GITR per secondo, e la terza somministrazione può essere sequenziale con

l'anticorpo anti-GITR per primo e l'anticorpo anti-CTLA-4 per secondo, ecc. In aggiunta o in alternativa, la prima somministrazione di una combinazione anticorpo anti-PD-1 e anticorpo anti-GITR può essere simultanea, la seconda somministrazione può essere sequenziale con l'anticorpo anti-PD-1 per primo e l'anticorpo anti-GITR per secondo, e la terza somministrazione può essere sequenziale con l'anticorpo anti-GITR per primo e l'anticorpo anti-PD-1 per secondo, ecc. In aggiunta o in alternativa, la prima somministrazione di una combinazione anticorpo anti-PD-L1 e anticorpo anti-GITR può essere simultanea, la seconda somministrazione può essere sequenziale con l'anticorpo anti-PD-L1 per primo e l'anticorpo anti-GITR per secondo, e la terza somministrazione può essere sequenziale con l'anticorpo anti-GITR per primo e l'anticorpo anti-PD-L1 per secondo, ecc. In aggiunta o in alternativa, la prima somministrazione di una combinazione anticorpo anti-LAG-3 e anticorpo anti-GITR può essere simultanea, la seconda somministrazione può essere sequenziale con l'anticorpo anti-LAG-3 per primo e l'anticorpo anti-GITR per secondo, e la terza somministrazione può essere sequenziale con l'anticorpo anti-GITR per primo e l'anticorpo anti-LAG-3 per secondo, ecc. Un altro schema di dosaggio rappresentativo può prevedere una prima somministrazione sequenziale con l'anticorpo anti-GITR per primo e l'anticorpo anti-CTLA-4 (e/o l'anticorpo anti-PD-1 e/o l'anticorpo anti-PD-L1 e/o l'anticorpo anti-LAG-3) per secondo, mentre le somministrazioni successive possono essere simultanee.

In una forma esecutiva, un soggetto avente una malattia che può trarre beneficio da una stimolazione del sistema immunitario, ad esempio un cancro o una malattia infettiva, viene trattato somministrando al soggetto un anticorpo anti-GITR e un agente immuno-oncologico, in cui l'agente immuno-oncologico è un agonista di CD137 (4-1BB), come un anticorpo anti-CD137 agonista. Gli anticorpi anti-CD137 adatti comprendono, ad esempio, urelumab o PF-05082566 (WO12/32433).

In una forma esecutiva, un soggetto avente una malattia che può trarre beneficio da una stimolazione del sistema immunitario, ad esempio un cancro o una malattia infettiva, viene trattato somministrando al soggetto un anticorpo anti-GITR e un agente immuno-oncologico, in cui l'agente immuno-oncologico è un agonista di OX40, come un anticorpo anti-OX40 agonista. Gli anticorpi anti-OX40 adatti comprendono, ad esempio, MEDI-6383, MEDI-6469 o MOXR0916 (RG7888; WO06/029879).

In una forma esecutiva, un soggetto avente una malattia che può trarre beneficio da una stimolazione del sistema immunitario, ad esempio un cancro o una malattia infettiva, viene trattato somministrando al soggetto un anticorpo anti-GITR e un agente immuno-oncologico, in cui l'agente immuno-oncologico è un agonista di CD40, come un anticorpo anti-CD40 agonista. In certe forme esecutive, l'agente immuno-oncologico è un antagonista di CD40, come un anticorpo anti-CD40 antagonista. Gli anticorpi anti-CD40 adatti comprendono, ad esempio, lucatumumab (HCD122), dacetuzumab (SGN-40), CP-870.893 o Chi Lob 7/4.

In una forma esecutiva, un soggetto avente una malattia che può trarre beneficio da una stimolazione del sistema immunitario, ad esempio un cancro o una malattia infettiva, viene trattato somministrando al soggetto un anticorpo anti-GITR e un agente immuno-oncologico, in cui l'agente immuno-oncologico è un agonista di CD27, come un anticorpo anti-CD27 agonista. Gli anticorpi anti-CD27 adatti comprendono, ad esempio, varlilumab (CDX-1127).

In una forma esecutiva, un soggetto avente una malattia che può trarre beneficio da una stimolazione del sistema immunitario, ad esempio un cancro o una malattia infettiva, viene trattato somministrando al soggetto un anticorpo anti-GITR e un agente immuno-oncologico, in cui l'agente immuno-oncologico è MGA271 (contro B7H3) (WO11/109400).

In una forma esecutiva, un soggetto avente una malattia che può trarre beneficio da una stimolazione del sistema immunitario, ad esempio un cancro o una malattia infettiva, viene trattato somministrando al soggetto un anticorpo anti-GITR e un agente immuno-oncologico, in cui l'agente immuno-oncologico è un antagonista di KIR, come lirilumab.

In una forma esecutiva, un soggetto avente una malattia che può trarre beneficio da una stimolazione del sistema immunitario, ad esempio un cancro o una malattia infettiva, viene trattato somministrando al soggetto un anticorpo anti-GITR e un agente immuno-oncologico, in cui l'agente immuno-oncologico è un antagonista di IDO. Gli antagonisti di IDO adatti comprendono, ad esempio, INCB-024360 (WO2006/122150, WO07/75598, WO08/36653, WO08/36642), indoximod, NLG-919 (WO09/73620, WO09/1156652, WO11/56652, WO12/142237) o F001287.

In una forma esecutiva, un soggetto avente una malattia che può trarre beneficio da una stimolazione del sistema immunitario, ad esempio un cancro o una malattia infettiva, viene trattato somministrando al soggetto un

anticorpo anti-GITR e un agente immuno-oncologico, in cui l'agente immuno-oncologico è un agonista di un recettore Toll-simile, ad esempio un agonista di TLR2/4 (ad esempio Bacillus Calmette-Guerin); un agonista di TLR7 (ad esempio Hiltonol o Imiquimod); un agonista di TLR7/8 (ad esempio Resiquimod); o un agonista di TLR9 (ad esempio CpG7909).

In una forma esecutiva, un soggetto avente una malattia che può trarre beneficio da una stimolazione del sistema immunitario, ad esempio un cancro o una malattia infettiva, viene trattato somministrando al soggetto un anticorpo anti-GITR e un agente immuno-oncologico, in cui l'agente immuno-oncologico è un inibitore di TGF-β, ad esempio GC1008, LY2157299, TEW7197 o IMC-TR1.

In un aspetto, un anticorpo anti-GITR viene somministrato in sequenza prima di somministrare un secondo agente, ad esempio un agente immuno-oncologico. In un aspetto, un anticorpo anti-GITR viene somministrato simultaneamente al secondo agente, ad esempio un agente immuno-oncologico. In ancora un aspetto, un anticorpo anti-GITR viene somministrato in sequenza dopo la somministrazione del secondo agente. La somministrazione dei due agenti può iniziare in momenti che, ad esempio, sono distanziati di 30 minuti, 60 minuti, 90 minuti, 120 minuti, 3 ore, 6 ore, 12 ore, 24 ore, 36 ore, 48 ore, 3 giorni, 5 giorni, 7 giorni o una o più settimane, o la somministrazione del secondo agente può ad esempio iniziare 30 minuti, 60 minuti, 90 minuti, 120 minuti, 3 ore, 6 ore, 12 ore, 24 ore, 36 ore, 48 ore, 3 giorni, 5 giorni, 7 giorni o una o più settimane dopo la somministrazione del primo agente.

In certi aspetti, un anticorpo anti-GITR e un secondo agente, ad esempio un agente immuno-oncologico, vengono somministrati ad un paziente simultaneamente, ad esempio infusi simultaneamente, in un periodo di 30 o 60 minuti. Un anticorpo anti-GITR può essere co-formulato con un secondo agente, ad esempio un agente immuno-oncologico.

Opzionalmente, un anti-GITR come unico agente immunoterapeutico, o la combinazione di un anticorpo anti-GITR con uno o più anticorpi immunoterapeutici aggiuntivi (ad esempio un anti-CTLA-4 e/o un anti-PD-1 e/o anti-PD-L1 e/o anti-LAG-3 bloccante), può essere ulteriormente combinato/a con un agente immunogenico, come cellule cancerose, antigeni tumorali purificati (tra cui proteine ricombinanti, peptidi e molecole carboidratiche), cellule, e cellule trasfettate con geni codificanti per citochine immunostimolanti (He et al., (2004) J. Immunol. 173:4919-28).

Esempi non limitativi di vaccini tumorali che possono essere usati comprendono peptidi di antigeni del melanoma, come peptidi di gp100, antigeni di MAGE, Trp-2, MART1 e/o tirosinasi, o cellule tumorali trasfettate per esprimere la citochina GM-CSF (discusso ulteriormente sotto). Una combinazione attivazione di GITR più uno o più anticorpi aggiuntivi (ad esempio per il blocco di CTLA-4 e/o PD-1 e/o PD-L1 e/o LAG-3) può anche essere ulteriormente combinata con trattamenti oncologici standard. Ad esempio, una combinazione attivazione di GITR più uno o più anticorpi aggiuntivi (ad esempio per il blocco di CTLA-4 e/o PD-1 e/o PD-L1 e/o LAG-3) può essere efficacemente combinata con regimi chemioterapici. In questi casi, adoperando la combinazione della presente divulgazione, è possibile ridurre la dose dell'altro reagente chemioterapico somministrato (Mokyr et al., (1998) Cancer Research 58:5301-5304). Un esempio di tale combinazione è una combinazione anticorpo anti-GITR agonista con o senza un anticorpo aggiuntivo, come anticorpi anti-CTLA-4 e/o anticorpi anti-PD-1 e/o anticorpi anti-PD-L1 e/o anticorpi anti-LAG-3, in ulteriore combinazione con dacarbazina per il trattamento di un melanoma. Un altro esempio è una combinazione anticorpo anti-GITR agonista con o senza anticorpi anti-CTLA-4 e/o anticorpi anti-PD-1 e/o anticorpi anti-PD-L1 e/o anticorpi anti-LAG-3 in ulteriore combinazione con interleuchina-2 (IL-2) per il trattamento di un melanoma. La giustificazione scientifica dietro l'uso combinato dell'attivazione di GITR e del blocco di CTLA-4 e/o PD-1 e/o PD-L1 e/o LAG-3 con la chemioterapia è che la morte delle cellule, una conseguenza dell'azione citotossica della maggior parte dei composti chemioterapici, genererà livelli aumentati di antigene tumorale nella via di presentazione dell'antigene. Altre terapie di combinazione che possono dare luogo ad una sinergia con una combinazione attivazione di GITR con o senza blocco di CTLA-4 e/o PD-1 e/o PD-L1 e/o LAG-3 attraverso la morte cellulare comprendono radiazione, chirurgia e deprivazione ormonale. Ciascuno di questi protocolli crea una fonte di antigene tumorale nell'ospite. Anche gli inibitori dell'angiogenesi possono essere combinati con una combinazione attivazione di GITR più blocco di CTLA-4 e/o PD-1 e/o PD-L1 e/o LAG-3. L'inibizione dell'angiogenesi causa la morte delle cellule tumorali, dando luogo ad una fonte potenziale di antigene tumorale che viene alimentata nelle vie di presentazione dell'antigene dell'ospite.

Un anticorpo anti-GITR agonista come unico agente immunoterapeutico, o una combinazione anticorpo anti-GITR agonista più anticorpi anti-CTLA-4 e/o PD-1 e/o PD-L1 e/o LAG-3 bloccanti, può anche essere usato/a in

combinazione con anticorpi bispecifici che prendono a bersaglio cellule effettrici che esprimono recettori per Fcα o Fcγ sulle cellule tumorali (vedere ad esempio i brevetti US 5.922.845 e US 5.837.243). Gli anticorpi bispecifici possono essere usati per prendere a bersaglio due antigeni separati. Il braccio delle cellule T di queste risposte verrà potenziato dall'uso di una combinazione attivazione di GITR più blocco di CTLA-4 e/o PD-1 e/o PD-L1 e/o LAG-3.

In un altro esempio, un anticorpo anti-GITR agonista come unico agente immunoterapeutico, o una combinazione anticorpo anti-GITR agonista più un agente immunostimolante aggiuntivo, ad esempio un anticorpo anti-CTLA-4 e/o un anticorpo anti-PD-1 e/o un anticorpo anti-PD-L1 e/o un agente per LAG-3, ad esempio un anticorpo, può essere anche usato/a in associazione con un anticorpo anti-neoplastico, come Rituxan® (rituximab), Herceptin® (trastuzumab), Bexxar® (tositumomab), Zevalin® (ibritumomab), Campath® (alemtuzumab), Lymphocide® (eprtuzumab), Avastin® (bevacizumab), Tarceva® (erlotinib) e simili. A titolo esemplificativo e senza volersi legare alla teoria, è possibile che il trattamento con un anticorpo anti-cancro, o con un anticorpo anti-cancro coniugato ad una tossina, provochi la morte delle cellule cancerose (ad esempio delle cellule tumorali), potenziando così una risposta immunitaria mediata dall'agente immunostimolante, ad esempio dall'agente diretto contro GITR, CTLA-4, PD-1, PD-L1 o LAG-3, ad esempio dall'anticorpo. In una forma esecutiva esemplificativa, un trattamento di una malattia iperproliferativa (ad esempio un tumore canceroso) può comprendere un agente anti-cancro, ad esempio un anticorpo, in combinazione con un anti-GITR e in combinazione opzionale con un agente immunostimolante aggiuntivo, ad esempio un agente anti-CTLA-4 e/o anti-PD-1 e/o anti-PD-L1 e/o anti-LAG-3, ad esempio un anticorpo, somministrati in maniera simultanea, in maniera sequenziale o in qualsiasi loro combinazione, che possono potenziare una risposta immunitaria esercitata dall'ospite contro il tumore.

I tumori eludono la sorveglianza immunitaria dell'ospite attraverso una grande varietà di meccanismi. Molti di questi meccanismi possono essere superati attraverso l'inattivazione di proteine che vengono espresse dai tumori e che sono immunosoppressive. Queste comprendono, tra le altre, TGF-β (Kehrl et al., (1986) J. Exp. Med. 163: 1037-1050), IL-10 (Howard e O'Garra, (1992) Immunology Today 13: 198-200), e il ligando per Fas (Hahne et al., (1996) Science 274: 1363-1365). Gli anticorpi diretti contro ciascuna di queste entità possono essere ulteriormente combinati con un anticorpo anti-GITR con o senza un agente immunostimolante aggiuntivo, ad esempio un agente anti-CTLA-4 e/o anti-

PD-1 e/o anti-PD-L1 e/o anti-LAG-3, ad esempio un anticorpo, per neutralizzare gli effetti degli agenti immunosoppressivi e favorire le risposte immunitarie esercitate dall'ospite contro il tumore.

Un anticorpo anti-GITR con o senza un agente immunostimolante aggiuntivo, ad esempio un anticorpo anti-CTLA-4 e/o anti-PD-1 e/o anti-PD-L1 e/o anti-LAG-3, può anche essere adoperato in combinazione con altri agenti, ad esempio anticorpi, che possono essere usati per attivare la responsività immunitaria dell'ospite. Questi comprendono molecole, presenti sulla superficie delle cellule dendritiche, che attivano la funzione delle DC e la presentazione dell'antigene. Gli anticorpi anti-CD40 (Ridge et al., sopra) possono essere usati in combinazione con un anticorpo anti-GITR e in combinazione opzionale con un agente immunostimolante aggiuntivo, ad esempio un agente anti-CTLA-4 e/o anti-PD-1 e/o anti-PD-L1 e/o anti-LAG-3, ad esempio un anticorpo. Anche altri anticorpi attivanti diretti contro molecole co-stimolatorie delle cellule T, Weinberg et al., sopra, Melero et al., sopra, Hutloff et al., sopra, possono fornire livelli aumentati di attivazione delle cellule T.

Come discusso sopra, il trapianto di midollo osseo viene attualmente usato per il trattamento di una varietà di tumori di origine emopoietica. Un'immunoterapia anti-GITR da sola o combinata con il blocco di CTLA-4 e/o PD-1 e/o PD-L1 e/o LAG-3 può essere usata per aumentare l'efficacia delle cellule T tumore-specifiche che vengono innestate da un donatore.

Diversi protocolli di trattamento sperimentale prevedono l'attivazione e l'espansione ex vivo di cellule T antigene-specifiche e il trasferimento adottivo di queste cellule in riceventi allo scopo di stimolare cellule T antigene-specifiche contro un tumore (Greenberg & Riddell, sopra). Questi metodi possono essere anche usati per attivare le risposte delle cellule T contro agenti infettivi, come CMV. Ci si può aspettare che un'attivazione ex vivo in presenza di un anti-GITR con o senza una terapia immunostimolante aggiuntiva, ad esempio con anticorpi anti-CTLA-4 e/o anti-PD-1 e/o anti-PD-L1 e/o anti-LAG-3, aumenterà la frequenza e l'attività delle cellule T trasferite in maniera adottiva.

Qui vengono forniti metodi per modificare un evento avverso associato al trattamento di una malattia iperproliferativa (ad esempio un cancro) con un agente immunostimolante, i metodi prevedendo di somministrare un anticorpo anti-GITR con o senza un agente anti-CTLA-4 e/o anti-PD-1 e/o anti-PD-L1 e/o anti-LAG-3, ad esempio un anticorpo, ad un soggetto. Ad esempio, i metodi qui descritti forniscono un metodo per ridurre l'incidenza della colite o

diarrea indotta da un anticorpo terapeutico immunostimolante attraverso la somministrazione di uno steroide non assorbibile al paziente. Nel presente contesto, uno "steroide non assorbibile" è un glucocorticoide che mostra un estensivo metabolismo di primo passaggio tale per cui, dopo il metabolismo nel fegato, la biodisponibilità dello steroide è bassa, ovvero minore di circa 20%. In una forma esecutiva qui descritta, lo steroide non assorbibile è budesonide. Il budesonide è un glucocorticoide ad azione locale che viene estensivamente metabolizzato, principalmente dal fegato, a seguito della sua somministrazione orale. ENTOCORT EC® (Astra-Zeneca) è una formulazione orale pH- e tempo-dipendente di budesonide che è stata sviluppata per ottimizzare la distribuzione del farmaco nell'ileo e in tutto il colon. ENTOCORT EC® è approvato negli Stati Uniti per il trattamento del morbo di Crohn di grado da lieve a moderato che colpisce l'ileo e/o il colon ascendente. Il dosaggio orale abituale di ENTOCORT EC® per il trattamento del morbo di Crohn è 6 - 9 mg/giorno. ENTOCORT EC® viene rilasciato nell'intestino prima di essere assorbito e trattenuto nella mucosa intestinale. Una volta passato attraverso il tessuto bersaglio della mucosa intestinale, ENTOCORT EC® viene estensivamente metabolizzato dal sistema del citocromo P450 del fegato che lo converte in metaboliti con un'attività glucocorticoidea trascurabile. La sua biodisponibilità è dunque bassa (circa 10%). La bassa biodisponibilità del budesonide migliora il suo indice terapeutico rispetto ad altri glucocorticoidi con un metabolismo di primo passaggio meno estensivo. Il budesonide causa meno effetti avversi, tra cui una minore soppressione dell'asse ipotalamo-ipofisi, rispetto ai corticosteroidi ad azione sistemica. Tuttavia, la somministrazione cronica di ENTOCORT EC® può provocare effetti sistemici da glucocorticoidi, come ipercorticismo e soppressione surrenalica. Vedere PDR 58ª Edizione, 2004; 608-610.

In ancora altre forme esecutive, l'attivazione di GITR con o senza blocco di CTLA-4 e/o PD-1 e/o PD-L1 e/o LAG-3 (ovvero anticorpi terapeutici immunostimolanti anti-GITR e opzionalmente anticorpi anti-CTLA-4 e/o anti-PD-1 e/o anti-PD-L1 e/o anti-LAG-3) in associazione con uno steroide non assorbibile può essere ulteriormente combinata con un salicilato. I salicilati comprendono agenti a base di 5-ASA, come ad esempio: sulfasalazina (AZULFIDINE®, Pharmacia & UpJohn); olsalazina (DIPENTUM®, Pharmacia & UpJohn); balsalazide (COLAZAL®, Salix Pharmaceuticals, Inc.); e mesalamina (ASACOL®, Procter & Gamble Pharmaceuticals; PENTASA®, Shire US; CANASA®, Axcan Scandipharm, Inc.; ROWASA®, Solvay).

Secondo i metodi qui descritti, la somministrazione di un salicilato in combinazione con un anti-GITR con o senza anticorpi anti-CTLA-4 e/o anti-PD-1 e/o anti-PD-L1 e/o LAG-3 e con uno steroide non assorbibile può essere condotta somministrando il salicilato e lo steroide non assorbibile in qualsiasi modalità sovrapposta o sequenziale allo scopo di ridurre l'incidenza della colite indotta dagli anticorpi immunostimolanti. Segnatamente, i metodi per ridurre l'incidenza della colite indotta dagli anticorpi immunostimolanti qui descritti prevedono ad esempio di somministrare un salicilato e uno steroide non assorbibile in maniera simultanea o sequenziale (ad esempio somministrando il salicilato 6 ore dopo lo steroide non assorbibile) o in qualsiasi loro combinazione. Inoltre, un salicilato e uno steroide non assorbibile possono essere somministrati attraverso la stessa via (ad esempio, entrambi vengono somministrati per via orale) o attraverso vie differenti (ad esempio, un salicilato viene somministrato per via orale e uno steroide non assorbibile viene somministrato per via rettale), dette vie potendo essere diverse dalla/dalle vie usate per somministrare gli anticorpi anti-GITR e anti-CTLA-4 e/o anti-PD-1 e/o anti-PD-L1 e/o anti-LAG-3.

Gli anticorpi anti-GITR e le terapie di combinazione a base di anticorpi qui descritti/e possono anche essere usati/e in associazione con altre terapie ben note la cui selezione è basata sulla loro particolare utilità contro l'indicazione trattata (ad esempio un cancro). Le combinazioni comprendenti gli anticorpi anti-GITR qui descritti possono essere usate in sequenza con uno o più agenti farmaceuticamente accettabili noti.

Ad esempio, gli anticorpi anti-GITR e le terapie di combinazione a base di anticorpi qui descritti/e possono essere usati/e in combinazione (ad esempio simultaneamente o separatamente) con un ulteriore trattamento, come radiazione, chemioterapia (ad esempio usando camptotecina (CPT-11), 5-fluorouracile (5-FU), cisplatino, doxorubicina, irinotecan, paclitaxel, gemcitabina, cisplatino, paclitaxel, carboplatino-paclitaxel (taxolo), doxorubicina, 5-fu o camptotecina + apo21/TRAIL (combo 6X)), uno o più inibitori del proteasoma (ad esempio bortezomib o MG132), uno o più inibitori di Bcl-2 (ad esempio BH3I-2' (un inibitore di bcl-xl)), un inibitore della indolammina diossigenasi-1 (ad esempio INCB24360, indoximod, NLG-919 o F001287), A-101 (un R-(-)-gossipolo-derivato), ABT-263 (una piccola molecola), GX-15-070 (obatoclax), antagonisti di MCL-1 (proteina di differenziazione cellulare della leucemia mieloide-1), antagonisti di iAP (inibitore delle proteine apoptotiche) (ad esempio smac7, smac4, uno smac-mimetico a piccola molecola, peptidi smac sintetici (vedere Fulda et al., Nat. Med. 2002; 8:808-15), ISIS23722 (LY2181308) o

AEG-35156 (GEM-640)), inibitori di HDAC (istone deacetilasi), anticorpi anti-CD20 (ad esempio rituximab), inibitori dell'angiogenesi (ad esempio bevacizumab), agenti anti-angiogenici che prendono a bersaglio VEGF e VEGFR (ad esempio Avastin), triterpenoidi sintetici (vedere Hyer et al., Cancer Research 2005; 65:4799-808), modulatori di c-FLIP (proteina inibitoria di FLICE cellulare), ad esempio ligandi naturali e sintetici di PPARγ (recettore attivato da proliferatori perossisomiali γ, 5809354 o 5569100), inibitori di chinasi (ad esempio sorafenib), trastuzumab, cetuximab, temsirolimus, inibitori di mTOR, come rapamicina e temsirolimus, bortezomib, inibitori di JAK2, inibitori di HSP90, inibitori di PI3K-AKT, lenalidomide, inibitori di GSK3β, inibitori di IAP e/o farmaci genotossici.

Gli anticorpi anti-GITR e le terapie di combinazione a base di anticorpi qui descritti/e possono essere inoltre usati/e in combinazione con uno o più agenti citotossici antiproliferativi. Le classi di composti che possono essere usati come agenti citotossici antiproliferativi comprendono, ma senza limitazioni, le seguenti:

Agenti alchilanti (tra cui, ma senza limitazioni, mostarde azotate, etilenimmina-derivati, alchil solfonati, nitrosouree e triazeni): uracil mostarda, clormetina, ciclofosfammide (CYTOXAN™), fosfammide, melfalan, clorambucil, pipobroman, trietilenmelamina, trietilentiofosforammide, busulfan, carmustina, lomustina, streptozocina, dacarbazina e temozolomide.

Antimetaboliti (tra cui, senza limitazioni, antagonisti dell'acido folico, analoghi della pirimidina, analoghi della purina e inibitori della adenosina deamminasi): metotrexato, 5-fluorouracile, floxuridina, citarabina, 6-mercaptopurina, 6-tioguanina, fludarabina fosfato, pentostatina e gemcitabina.

Gli agenti antiproliferativi adatti per la combinazione con gli anticorpi anti-GITR agonisti comprendono, senza limitazioni, taxani, paclitaxel (il paclitaxel è disponibile in commercio come TAXOL™), docetaxel, discodermolide (DDM), dictiostatina (DCT), peloruside A, epotiloni, epotilone A, epotilone B, epotilone C, epotilone D, epotilone E, epotilone F, furanoepotilone D, desossiepotilone B1, [17]-deidrodesossiepotilone B, [18]-deidrodesossiepotiloni B, C12,13-ciclopropil-epotilone A, epotilone A C6-C8-pontato, trans-9,10-deidroepotilone D, cis-9,10-deidroepotilone D, 16-desmetilepotilone B, epotilone B10, discoderomolide, patupilone (EPO-906), KOS-862, KOS-1584, ZK-EPO, ABJ-789, XAA296A (discodermolide), TZT-1027 (soblidotin), ILX-651 (tasidotin cloridrato), alicondrina B, eribulina mesilato (E-7389), emiasterlina (HTI-286), E-7974, criptoficine, LY-355703, immunoconiugati con maitansinoidi

(DM-1), MKC-1, ABT-751, T1-38067, T-900607, SB-715992 (ispinesib), SB-743921, MK-0731, STA-5312, eleuterobina, 17-beta-acetossi-2-etossi-6-osso-B-omo-estra-1,3,5(10)-trien-3-olo, ciclostreptina, isolaulimalide, laulimalide, 4-epi-7-deidrossi-14,16-didemetil-(+)-discodermolidi e criptotilone 1, in aggiunta ad altri agenti stabilizzanti i microtubuli che sono noti nel ramo.

Quando è desiderabile rendere quiescenti le cellule che mostrano una proliferazione aberrante in associazione con o prima del trattamento con gli anticorpi anti-GITR qui descritti, il paziente può ricevere in somministrazione ormoni e steroidi (inclusi analoghi sintetici), come 17a-etinilestradiolo, dietilstilbestrolo, testosterone, prednisone, fluoximesterone, dromostanolone propionato, testolattone, megestrolacetato, metilprednisolone, metil-testosterone, prednisolone, triamcinolone, clorotrianisene, idrossiprogesterone, aminoglutetimide, estramustina, medrossiprogesterone acetato, leuprolide, flutamide, toremifene, ZOLADEX™. Se desiderato, durante l'uso dei metodi o delle composizioni qui descritti/e, è anche possibile somministrare altri agenti usati in un ambiente clinico per modulare la crescita o la metastatizzazione di un tumore, come antimimetici.

I metodi per la somministrazione sicura ed efficace degli agenti chemioterapici sono noti agli esperti nel ramo. La loro amministrazione è anche descritta nella letteratura standard. Ad esempio, la somministrazione di molti agenti chemioterapici è descritta nel Physicians' Desk Reference (PDR), ad esempio l'edizione del 1996 (Medical Economics Company, Montvale, N.J. 07645-1742, USA).

Lo/gli agenti chemioterapici e/o la radioterapia possono essere somministrati secondo protocolli terapeutici ben noti nel ramo. Agli esperti nel ramo risulterà evidente che la somministrazione dello/degli agenti chemioterapici e/o della radioterapia potrà varare a seconda della malattia trattata e degli effetti noti dello/degli agenti chemioterapici e/o della radioterapia su tale malattia. Inoltre, in base alla conoscenza del clinico esperto, i protocolli terapeutici (ad esempio le quantità di dosaggio e i tempi di somministrazione) potranno essere variati alla luce degli effetti osservati degli agenti terapeutici somministrati sul paziente e alla luce delle risposte osservate della malattia agli agenti terapeutici somministrati.

La divulgazione fornisce:

1. Un anticorpo monoclonale isolato che si lega al recettore per TNF inducibile da glucocorticoidi (GITR) umano, l'anticorpo comprendendo sequenze di CDR1, CDR2 e CDR3 di catena pesante rispettivamente comprendenti SEQ ID NO:20, 21 e 22 e sequenze di CDR1, CDR2 e CDR3 di catena leggera rispettivamente comprendenti SEQ ID NO:23, 24 e 25.

2. L'anticorpo o una sua porzione legante l'antigene della forma esecutiva 1, in cui l'anticorpo comprende una regione variabile di catena pesante comprendente la sequenza di amminoacidi riportata in SEQ ID NO:13 e una regione variabile di catena leggera comprendente la sequenza di amminoacidi riportata in SEQ ID NO:14.

3. Un anticorpo monoclonale isolato che si lega al recettore per TNF inducibile da glucocorticoidi (GITR) umano e che comprende sequenze di catena pesante e catena leggera selezionate dal gruppo costituito da:

(a) SEQ ID NO:15 e 16, rispettivamente;

(b) SEQ ID NO:17 e 19, rispettivamente;

(c) SEQ ID NO:18 e 19, rispettivamente.

4. L'anticorpo di una qualsiasi delle forme esecutive 1-3, in cui l'anticorpo si lega a PTGGPGCGPGRLLLGTGT (SEQ ID NO:217) e CRDYPGEE (SEQ ID NO:218) del GITR umano maturo (SEQ ID NO:4).

5. L'anticorpo di una qualsiasi delle forme esecutive 1-4, in cui l'anticorpo si lega sia al GITR umano che al GITR di cynomolgus.

6. L'anticorpo di una qualsiasi delle forme esecutive precedenti, in cui l'anticorpo è un anticorpo IgG1, IgG2 o IgG4, o una sua variante.

7. L'anticorpo della forma esecutiva 6, in cui l'anticorpo è un anticorpo IgG1.

8. L'anticorpo della forma esecutiva 6, in cui l'anticorpo comprende un Fc IgG1 senza funzione effettrice.

9. L'anticorpo della forma esecutiva 8, in cui l'anticorpo comprende un Fc IgG1 senza funzione effettrice che comprende le seguenti mutazioni: L234A, L235E, G237A, A330S e P331S.

10. L'anticorpo della forma esecutiva 6, in cui l'anticorpo comprende un Fc avente un legame potenziato ad un FcγR attivante.

11. L'anticorpo di una qualsiasi delle forme esecutive 1-10, in cui l'anticorpo è un anticorpo umano o umanizzato.

12. Una molecola bispecifica comprendente l'anticorpo di una qualsiasi delle forme esecutive precedenti collegato ad una molecola avente una seconda specificità di legame.

13. Un acido nucleico codificante per le regioni variabili di catena pesante e catena leggera dell'anticorpo di una qualsiasi delle forme esecutive 1-11.

14. Un vettore di espressione comprendente la molecola di acido nucleico della forma esecutiva 13.

15. Una cellula trasformata con un vettore di espressione della forma esecutiva 14.

16. Un immunoconiugato comprendente l'anticorpo secondo una qualsiasi delle forme esecutive 1-11 collegato ad un agente.

17. Una composizione comprendente l'anticorpo, la molecola bispecifica o l'immunoconiugato di una qualsiasi delle forme esecutive 1-12 e 16 e un trasportatore.

18. Un kit comprendente l'anticorpo, la molecola bispecifica o l'immunoconiugato di una qualsiasi delle forme esecutive 1-12 e 16 e istruzioni per l'uso.

19. Un metodo per preparare un anticorpo anti-GITR, che prevede di esprimere l'anticorpo, o una sua porzione legante l'antigene, nella cellula della forma esecutiva 15, e isolare l'anticorpo, o la sua porzione legante l'antigene, dalla cellula.

20. Un metodo per stimolare una risposta antigene-specifica di una cellula T, che prevede di mettere in contatto la cellula T con l'anticorpo, la molecola bispecifica o l'immunoconiugato di una qualsiasi delle forme esecutive 1-12 e 16 in modo da stimolare una risposta antigene-specifica della cellula T.

21. Un metodo per attivare o co-stimolare una cellula T effettrice, che prevede di mettere in contatto una cellula T effettrice con un anticorpo anti-GITR, una molecola bispecifica o un immunoconiugato di una qualsiasi delle forme esecutive 1-12 e 16 e con CD3, in cui la cellula T effettrice viene attivata o co-stimolata.

22. Un metodo per aumentare la produzione di IL-2 e/o IFN-γ in una cellula T, che prevede di mettere in contatto la cellula T con una quantità efficace dell'anticorpo, della molecola bispecifica o dell'immunoconiugato di una qualsiasi delle forme esecutive 1-12 e 16.

23. Un metodo per aumentare la proliferazione di una cellula T, che prevede di mettere in contatto la cellula con una quantità efficace dell'anticorpo, della molecola bispecifica o dell'immunoconiugato di una qualsiasi delle forme esecutive 1-43 e 47.

24. L'anticorpo, la molecola bispecifica o l'immunoconiugato di una qualsiasi delle forme esecutive 1-12 e 16 per l'uso in un metodo per aumentare la produzione di IL-2 e/o IFN-γ in cellule T.

25. L'anticorpo, la molecola bispecifica o l'immunoconiugato di una qualsiasi delle forme esecutive 1-12 e 16 per l'uso in un metodo per ridurre o depletare il numero di cellule T regolatorie in un tumore, in cui l'anticorpo ha una funzione effettrice o una funzione effettrice potenziata.

26. L'anticorpo, la molecola bispecifica o l'immunoconiugato di una qualsiasi delle forme esecutive 1-12 e 16 per l'uso in un metodo per stimolare una risposta immunitaria.

27. L'anticorpo, la molecola bispecifica o l'immunoconiugato per l'uso nel metodo della forma esecutiva 26, in cui il soggetto ha una tumore contro cui viene stimolata una risposta immunitaria.

28. L'anticorpo, la molecola bispecifica o l'immunoconiugato di una qualsiasi delle forme esecutive 1-12 e 16 per l'uso in un metodo per inibire la crescita di cellule tumorali.

29. L'anticorpo, la molecola bispecifica o l'immunoconiugato di una qualsiasi delle forme esecutive 1-12 e 16 per l'uso in un metodo di trattamento di un cancro.

30. L'anticorpo, la molecola bispecifica o l'immunoconiugato per l'uso nel metodo della forma esecutiva 29, in cui il cancro è selezionato dal gruppo costituito da: cancro della vescica, cancro della mammella, cancro dell'utero/della cervice, cancro dell'ovaio, cancro della prostata, cancro del testicolo, cancro dell'esofago, cancro gastrointestinale, cancro del pancreas, cancro del colon-retto, cancro del colon, cancro del rene, cancro di testa e collo, cancro del polmone, cancro dello stomaco, cancro a cellule germinali, cancro dell'osso, cancro del fegato, cancro della tiroide,

cancro della pelle, neoplasia del sistema nervoso centrale, linfoma, leucemia, mieloma, sarcoma e cancro virus-correlato.

31. L'anticorpo, la molecola bispecifica o l'immunoconiugato per l'uso nel metodo della forma esecutiva 29 o 30, in cui il cancro è un cancro metastatico, un cancro refrattario o un cancro recidivante.

32. L'anticorpo, la molecola bispecifica o l'immunoconiugato per l'uso nel metodo di una qualsiasi delle forme esecutive 25-31, che prevede inoltre di somministrare uno o più agenti terapeutici aggiuntivi.

33. L'anticorpo, la molecola bispecifica o l'immunoconiugato per l'uso nel metodo della forma esecutiva 32, in cui l'agente terapeutico aggiuntivo è un anticorpo anti-PD1, un anticorpo anti-LAG-3, un anticorpo anti-CTLA-4 o un anticorpo anti-PD-L1.

34. Un metodo per rilevare la presenza di un recettore per TNF inducibile da glucocorticoidi (GITR) in un campione, che prevede di mettere in contatto il campione con l'anticorpo di una qualsiasi delle forme esecutive 1-11 in condizioni che permettono la formazione di un complesso tra l'anticorpo, o una sua porzione legante l'antigene, e GITR, e rilevare la formazione di un complesso.

La presente divulgazione viene ulteriormente illustrata dai seguenti esempi.

ESEMPI

Esempio 1: Generazione di differenti anticorpi anti-GITR

Gli anticorpi monoclonali umani anti-GITR sono stati generati nei ceppi Hco7, Hco27, Hco20, Hco12, Hco17 e Hc2 di topi transgenici HuMAb® ("HuMAb" è un marchio commerciale di Medarex, Inc., Princeton, New Jersey) e topi KM (il ceppo KM Mouse® contiene il transcromosoma SC20 descritto nella pubblicazione PCT WO 02/43478). I topi HuMAb HC2/KCo27 e i topi KM sono stati generati come descritto nei brevetti US 5.770.429 e US 5.545.806.

94 topi in totale, che comprendevano 7 genotipi di topi transgenici (KM, Hco7, Hco27, Hco20, Hco12, Hco17 e Hc2), sono stati immunizzati con differenti strategie di immunizzazione (differente antigene, dose, durata, via di somministrazione (zampa (fp), intraperitoneale (ip) e sottocutanea (sc)), adiuvante (CFA/IFA, Ribi e anticorpo), ecc.). Sono state condotte e sottoposte a screening 36 fusioni in 54 topi. Tra queste 36 fusioni sono stati identificati 157

anticorpi che sono stati ulteriormente caratterizzati per ottenere l'isolamento di anticorpi di particolare interesse, inclusi gli anticorpi designati come 28F3, 19D3, 18E10, 3C3, 2G6, 8A6, 9G7, 14E3, 19H8 e 6G10.

Il sequenziamento dei cDNA identificava una singola catena pesante e una singola catena leggera per ciascuno degli anticorpi 28F3, 19D3, 18D10, 2G6, 8A6, 14E3 e 6G10, e una singola catena pesante catena e due catene leggere (catena leggera 1 o "L1" e catena leggera 2 o "L2") per ciascuno degli anticorpi 3C3, 9G7 e 19H8. Attraverso l'analisi delle proteine, è stata identificata una singola catena leggera per gli anticorpi 3C3 e 9G7 che, come indicato dal sequenziamento dell'N-terminale e dalla determinazione del peso molecolare, era la catena leggera L1 per 3C3 e la catena leggera L2 per 9G7. Con riferimento all'anticorpo 19H8, il 93% degli anticorpi espressi dall'ibridoma conteneva la catena leggera L1 e il 3% conteneva la catena leggera L2. Gli anticorpi 3C3-1 e 3C3-2 corrispondono all'anticorpo 3C3 con una catena leggera che è rispettivamente L1 e L2. Gli anticorpi 9G7-1 e 9G7-2 corrispondono all'anticorpo 9G73 con una catena leggera che è rispettivamente L1 e L2. Gli anticorpi 19H8-1 e 19H8-2 corrispondono all'anticorpo 19H8 con una catena leggera che è rispettivamente L1 e L2. Le sequenze di amminoacidi e di nucleotidi di ciascuna delle catene leggere dei 3 anticorpi sono fornite nella Tabella 11.

Le sequenze di amminoacidi delle regioni variabili e l'isotipo degli anticorpi 28F3, 19D3, 18E10, 3C3 (3C3-1 e 3C3-2), 2G6, 8A6, 9G7 (9G7-1 e 9G7-2), 14E3, 19H8 (19H8-1 e 19H8-2) e 6G10 sono riportati nelle Figg. 2-31. Le sequenze di amminoacidi e di nucleotidi delle catene leggere e pesanti di ciascuno degli anticorpi sono fornite nella Tabella 11. Le catene pesante e leggera di 28F3 sono costituite dalle sequenze di amminoacidi SEQ ID NO:15 e 16. Le catene pesante e leggera di 19D3 sono costituite dalle sequenze di amminoacidi SEQ ID NO:28 e 29. Le catene pesante e leggera di 18E10 sono costituite dalle sequenze di amminoacidi SEQ ID NO:41 e 42. Le catene pesante e leggera di 3C3 sono costituite dalle sequenze di amminoacidi SEQ ID NO:55 e 56. Le catene pesante e leggera di 2G6 sono costituite dalle sequenze di amminoacidi SEQ ID NO:73 e 74. Le catene pesante e leggera di 8A6 sono costituite dalle sequenze di amminoacidi SEQ ID NO:86 e 87. Le catene pesante e leggera di 9G7 sono costituite dalle sequenze di amminoacidi SEQ ID NO:100 e 101. Le catene pesante e leggera di 14E3 sono costituite dalle sequenze di amminoacidi SEQ ID NO:117 e 118. Le catene pesante e leggera di 19H8-1 sono costituite dalle sequenze di amminoacidi SEQ ID NO:131 e 132. Le catene pesante e leggera di 19H8-2 sono costituite dalle sequenze di amminoacidi SEQ ID NO:131 e

133. Le catene pesante e leggera di 6G10 sono costituite dalle sequenze di amminoacidi 337 e 338. Le sequenze di nucleotidi codificanti per queste proteine sono fornite nella Tabella 11.

Esempio 2: Legame degli anticorpi anti-GITR a cellule T umane e cyno attivate

Gli anticorpi monoclonali umani anti-GITR generati nell'Esempio 1 sono stati esaminati per il legame a cellule T umane e cyno attivate che esprimono GITR sulla loro superficie.

Le cellule mononucleate di sangue periferico (PBMC) isolate da un essere umano o da una scimmia cynomolgus sono state attivate con un anticorpo anti-CD3 rivestito su piastra (clone: UCHT1 per l'attivazione delle cellule T umane; clone: SP34 per l'attivazione delle cellule T di cynomolgus; entrambi di BD Biosciences) e con un anticorpo anti-CD28 solubile (clone: CD28.2 sia per l'essere umano che per la scimmia cynomolgus, BD Biosciences) per 4 giorni (essere umano) o 5 giorni (scimmia cynomolgus). Le cellule sono state esaminate per il legame dei mAb a GITR in un saggio basato sulla selezione cellulare attivata da fluorescenza (FACS) usando un anticorpo anti-IgG umana coniugato con ficoeritrina (PE) (Jackson ImmunoResearch). I campioni sono stati analizzati su un flussocitometro BD FACS Canto.

Gli anticorpi anti-GITR 3C3, 19D3, 18E10 e 28F3 si legavano alle cellule T umane attivate che alle cellule T di cynomolgus attivate. Come mostrato nella Figura 32, gli anticorpi 3C3, 19D3, 18E10 e 28F3 si legavano fortemente alle cellule T umane attivate, come riflesso da valori di EC50 rispettivamente di 0,04916 nM, 0,3633 nM, 0,1461 nM e 0,1916 nM. In analogia, gli anticorpi 18E10 e 28F3 si legavano alle cellule T di cynomolgus attivate, con valori di EC50 per 18E10 e 28F3 rispettivamente di 0,9134 nM e 1,044 nM (Figura 33). 3C3 non si legava alle cellule T di cynomolgus in maniera significativa.

Esempio 3: Legame degli anticorpi anti-GITR al GITR solubile

Il legame degli anticorpi anti-GITR al GITR solubile è stato determinato via Biacore. Gli anticorpi anti-GITR sono stati catturati su chip rivestiti con kappa umana (~5K RU; Southernbiotech, cat. n° 2060-01) e, attraverso il chip, è stato fatto fluire un GITR umano ricombinante (rhGITR/Fc: R&D Systems, cat n° 689-GR) a concentrazioni di 500 nM, 250 nM, 125 nM, 62 nM e 31 nM. La concentrazione di cattura del mAb/volume era 2-40 µg/mL (5 µL a 10 µL/min.). Il tempo di associazione all'antigene era 5 minuti a 15 µL/min. e il tempo di dissociazione dall'antigene era 6 minuti, ed

è stata condotta una rigenerazione con HCl 50 mM/NaOH 50 mM (12 µL ciascuno a 100 µL/min.). La Tabella 5 mostra i risultati ottenuti con 28F3 e con diversi altri anticorpi anti-GITR.

Tabella 5: K_{on} (k_a), K_{off} (k_d) e K_D degli anticorpi anti-GITR

	Antigene GITR umano (cattura dell'anticorpo con anti-kappa)		
mAb anti-GITR	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
2G6	1,23E+05	1,47E-03	1,20E-08
3C3, subclone 1	4,14E+05	5,52E-03	1,33E-08
18E10	1,82E+05	2,41 E-03	1,33E-08
3C3, subclone 2	4,30E+05	6,20E-03	1,44E-08
28F3	3,97E+05	5,89E-03	1,48E-08
19D3	2,76E+05	4,50E-03	1,63E-08
9G7	2,14E+05	7,48E-03	3,50E-08
6G10	3,83E+05	7,15E-04	1,87E-09

I risultati indicano che gli anticorpi anti-GITR si legano al GITR solubile con una K_D nell'intervallo da 1,2 10^{-8} a 3,5 10^{-8} M. Vengono forniti i dati per 2 subcloni di 3C3 con una K_D nell'intervallo da 1,33 10^{-8} a 1,44 10^{-8} M.

In un esperimento separato in Biacore, sono state determinate le caratteristiche di legame di anticorpi aventi le regioni variabili di 28F3 con tre regioni costanti differenti. Il primo anticorpo 28F3 ha una regione costante IgG1 di tipo selvatico ("g1f", anche identificata come "g1" o "IgG1" o "IgG1f" con catena pesante avente SEQ ID NO:17 e catena leggera avente SEQ ID NO:19). Il suffisso "f" identifica l'allotipo. Il secondo anticorpo ha una regione costante IgG1 senza funzione effettrice avente tre mutazioni nella regione Fc ("g1.1f", anche identificata come "g1.1", "IgG1.1" e "IgG1.1f" avente L234A, L235E, G237A; catena pesante avente SEQ ID NO:18 e catena leggera avente SEQ ID NO:19); e il terzo anticorpo 28F3 ha una regione costante IgG1 avente una mutazione N297A.

L'esperimento in Biacore è stato eseguito come descritto sopra eccetto per il fatto che i chip sono stati rivestiti con un anti-CHI (Invitrogen, rif. n° 054500). I risultati, mostrati nella Tabella 6, indicano che tutti e tre gli anticorpi hanno caratteristiche di legame simili con una K_D nell'intervallo da 3,93 x 10^{-8} M a 4,39 x 10^{-8} M.

Tabella 6: Caratteristiche cinetiche di anticorpi 28F3 aventi varie Fc

Campione	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	Concentrazione funzionale
28F3-g1f	8,85E+4	3,88 E-3	4,39 E-8	100%
28F3-IgG1.1	9,09 E+4	3,58 E-3	3,93 E-8	100%
28F3-N297A	7,88 E+4	3,36 E-3	4,26 E-8	100%

Esempio 4: Affinità di legame degli anticorpi anti-GITR per cellule T umane attivate e cellule 3A9-huGITR

Attraverso l'analisi di Scatchard, è stato determinato il legame degli anticorpi anti-GITR a GITR su cellule T umane attivate e sulla linea cellulare di ibridoma di cellule T murine 3A9 che esprime il GITR umano per via ectopica (3A9-hGITR). Questo saggio è stato condotto con 28F3.IgG1.1 (SEQ ID NO:18 per la catena pesante e SEQ ID NO:19 per la catena leggera) a 4,59 mg/mL.

L'analisi di Scatchard sulle cellule T umane attivate è stato condotto nel seguente modo. Le cellule T ottenute da un donatore umano sono state lavate una volta con terreno di coltura (RPMI con FBS 10%, L-glutammina 2 mM, piruvato di sodio, 2-mercaptoetanolo) e risospese nello stesso terreno di coltura integrato con un anti-CD28 1 µg/mL (CD28.2, BD n° 555725) e con IL-2 100 U/ml (Peprotech, n° 200-02) a 10^6 cellule/mL. Le cellule sono state piastrate su tre pozzetti di una piastra a 6 pozzetti rivestita con 20 µg di un anti-CD3 (5 mL, 4 µg/mL, una notte a 4°C; UCHT-1, BD, n° 555329) a 5x10^6 cellule per pozzetto. Le cellule sono state incubate per 3 giorni a 37°C, e metà di queste cellule è stata usata per l'analisi di Scatchard ("giorno 3" dell'analisi). Il terreno esaurito dell'altra metà è stato sostituito con 5 mL di terreno fresco, e le cellule sono state incubate per un altro giorno prima di usare queste cellule per l'analisi di Scatchard ("giorno 4" dell'analisi).

Per l'analisi di Scatchard, 28F3.IgG1.1 è stato radio-iodurato con ^{125}I-Na (Perkin Elmer, n° NEZ033H001MC (1 mCi) usando il reagente di iodurazione in fase solida IODO-GEN® (1,3,4,6-tetracloro-3a-6a-difenilglicourile; Pierce,

n° 28601). Lo ioduro in eccesso è stato rimosso usando una colonna di dissalazione (Pierce, n° 43243). Le frazioni di anticorpo marcato sono state raccolte e analizzate per la radioattività su un contatore gamma Wizard 1470 (Perkin-Elmer). La concentrazione di ^{125}I-28F3.IgG1.1 in ciascuna frazione è stata calcolata usando il fluorimetro Qubit™ di Invitrogen. La radiopurezza è stata stabilita sottoponendo le frazioni proteiche e radioattive di picco a cromatografia su strato sottile (Pinestar Technology, n° 151-005).

Il legame dell'anticorpo 28F3.IgG1.1 radio-iodurato alle cellule T umane attivate è stato dimostrato incubando le cellule T umane attivate con una titolazione di ^{125}I-28F3.IgG1.1. Il legame aspecifico è stato determinato in base al legame in presenza di una titolazione di un eccesso molare 100-X dell'anticorpo non marcato, ed è stato sottratto dalle CPM totali per calcolare il legame specifico. Usando una curva standard lineare della concentrazione di ^{125}I-28F3.IgG1.1 in funzione delle CPM, è stata estrapolata la quantità massima di ^{125}I-28F3.IgG1.1 legato in nM da cui è stato calcolato il numero di recettori per cellula. Il numero di molecole GITR umane per cellula T CD4+ umana stimolata era circa 8.400 il giorno 3 e circa 13.200 il giorno 4. I risultati dell'analisi di Scatchard indicano che 28F3.IgG1.1 si lega specificatamente alle cellule T CD4+ umane stimolate per 3 giorni con una K_D di 0,7 nM e alle cellule T CD4+ umane stimolate per 4 giorni con una K_D di 0,87 nM.

Il legame dell'anticorpo 28F3.IgG1.1 radio-iodurato alle cellule 3A9-huGITR è stato dimostrato incubando le cellule 3A9-huGITR con una titolazione di ^{125}I-28F3.IgG1.1. Il legame aspecifico è stato determinato in base al legame in presenza di una titolazione di un eccesso molare 100-X dell'anticorpo non marcato, ed è stato sottratto dalle CPM totali per calcolare il legame specifico. Usando una curva standard lineare della concentrazione di ^{125}I-28F3.IgG1.1 in funzione delle CPM, è stata estrapolata la quantità massima di ^{125}I-28F3.IgG1.1 legato in nM da cui è stato calcolato il numero di recettori per cellula. Il numero di molecole GITR umane per cellula 3A9-huGITR era circa 180.000. I risultati dell'analisi di Scatchard indicano che 28F3.IgG1.1 si lega specificatamente alle cellule 3A9-huGITR con una K_D di 0,5 nM.

In un altro esperimento, è stato determinato il legame di 28F3.IgG1 e 28F3.IgG1.1 a cellule T CD4$^+$ e CD8$^+$ attivate di donatori umani e cyno. Le cellule T CD4$^+$ e CD8$^+$ umane e cyno sono state isolate da donatori umani e cyno e trattate con anticorpi anti-CD3 e anti-CD28 per l'attivazione. I risultati indicano che 28F3.IgG1 e 28.IgG1.1 si legano

alle cellule $CD4^+$ umane attivate in maniera simile con rispettive EC50 di 0,55 nM e 0,67 nM, e si legano alle cellule $CD8^+$ umane attivate in maniera simile, con rispettive EC50 di 0,56 nM e 0,65 nM. 28F3.IgG1 e 28.IgG1.1 si legano alle cellule $CD4^+$ cyno attivate con rispettive EC50 di 1 nM e 0,86 nM, e si legano alle cellule $CD8^+$ cyno attivate in maniera simile, con rispettive EC50 di 1,26 nM e 0,74 nM.

Esempio 5: Gli anticorpi monoclonali umani anti-GITR inibiscono il legame di GITR-L a GITR

Per determinare se gli anticorpi HuMab anti-GITR fossero in grado di inibire il legame del ligando per GITR a GITR, la linea cellulare di ibridoma di cellule T murine 3A9 che esprime il GITR umano per via ectopica (cellule GITR-3A9) è stata pre-incubata con mAb anti-GITR a concentrazioni nell'intervallo da 10^{-4} µg/mL a 100 µg/mL prima di incubarla con il ligando per GITR (R&D Systems n°6987-GL) ad una concentrazione di 10 ng/mL. Il legame del ligando per GITR sulle cellule è stato determinato in un saggio basato su FACS usando un anticorpo anti-etichetta di emoagglutinina (HA) coniugato con PE, e i campioni sono stati analizzati su un flussocitometro BD FACS Canto. Come mostrato nelle Figure 34A e 34B, a queste condizioni, tutti gli anticorpi 19D3, 28F3 e GITR.3 (3C3) bloccavano il legame di GITR-L alle cellule GITR-3A9 con rispettivi valori di EC50 di 0,7546, 0,2783 e 0,06934. I risultati ottenuti con l'anticorpo 19H8 erano simili.

È stata condotta un'altra serie di esperimenti in condizioni differenti per valutare ulteriormente la misura in cui gli anticorpi anti-GITR bloccano il legame di GITR-L a GITR. In questi esperimenti, un hGITR-L solubile trimerico ricombinante aggiunto a cellule T umane attivate a concentrazioni tra 1,06 x 10^{-9} e 100 mg/ml si legava alle cellule T $CD4^+$ e $CD8^+$ in maniera dose-dipendente con valori di EC50 di 0,016 µg/ml (Figura 34C). L'esperimento è stato condotto nel seguente modo: Un hGITR-L trimerico ricombinante (R&D Systems, cat. 6987-GL) è stato aggiunto a cellule T attivate con PHA ad una concentrazione da 1,06e-9 a 100 µg/mL. Dopo un'incubazione primaria di 30 minuti, il GITR-L legato alle cellule è stato rilevato usando un anti-etichetta di HA coniugato con PE (Miltenyi, cat. 120-002-687). I campioni sono stati acquisiti su un flussocitometro FACS Canto (BD, San Jose) e analizzati con il software FlowJo (Tree Star, Inc., Ashland, OR).

Il pre-legame di rhGITR-L a concentrazioni da 1,06 x 10^{-9} a 100 µg/ml sulle cellule T attivate bloccava il successivo legame di 28F3-hIgG1 0,5 µg/ml (circa 90% di saturazione) con una IC50 di 0,0024 µg/ml. Poiché la MFI

non andava al basale (IgG di controllo) a 100 µg/ml, l'inibizione era parziale (Figura 34D). L'esperimento è stato condotto nel seguente modo: Le cellule T attivate con PHA sono state innanzitutto trattate con una titolazione 3-X a 24 punti di un GITR-L trimerico ricombinante (R&D Systems, 6987-GL), partendo da 100 µg/mL, per 30 minuti. Alla miscela cellulare è stato poi aggiunto 28F3-hIgG1 ad una concentrazione fissa di 0,5 µg/mL, e la miscela è stata ulteriormente incubata per 30 minuti. Il 28F3-hIgG1 legato alle cellule è stato rilevato usando un anticorpo secondario coniugato con PE che era diretto contro l'Fc IgG umano (Jackson ImmunoResearch, cat. 109-116-098). Come controllo isotipico per 28F3-hIgG1 è stato usato un Ab hIgG1 non correlato e, per mostrare il legame di 28F3-hIgG1 in assenza del bloccaggio, è stato incluso un campione senza pre-incubazione con GITR-L. I campioni sono stati acquisiti su un flussocitometro FACS Canto (BD, San Jose) e analizzati con il software FlowJo (Tree Star, Inc., Ashland, OR).

Quando le cellule T attivate venivano pre-incubate con 28F3-hIgG1 a concentrazioni nell'intervallo da 1,06 x 10^{-9} a 100 µg/ml, il legame di GITR-L a 0,6 µg/ml (circa 90% di saturazione) non veniva influenzato (Figura 34E). Tuttavia, quando GITR-L veniva aggiunto ad una concentrazione più bassa di 20 ng/ml, prossima alla sua EC50, il suo legame veniva parzialmente bloccato dal 28F3-hIgG1 pre-legato con una IC50 di 0,076 mg/ml (Figura 34F). Gli esperimenti sono stati condotti nel seguente modo: Le cellule T attivate con PHA sono state pre-incubate con 28F3-hIgG1 a concentrazioni nell'intervallo da 0,00056 a 100 µg/mL prima di aggiungere GITR-L a 0,6 µg/ml o 20 ng/mL. Il GITR-L legato alle cellule è stato rilevato usando un anti-etichetta di HA coniugato con PE. Come controllo isotipico per 28F3-hIgG1 è stata inclusa una hIgG1 non correlata e, per mostrare il legame di GITR-L senza bloccaggio, è stato usato un campione senza anticorpo primario. I campioni sono stati acquisiti su un flussocitometro FACS Canto (BD, San Jose) e analizzati con il software FlowJo (Tree Star, Inc., Ashland, OR).

Questi dati dimostrano che 28F3-hIgG1 è un bloccante parziale del ligando che, in vivo, può permettere un certo impegno di GITR-L a GITR.

Esempio 6: Tutti gli anticorpi anti-GITR ricadono in un singolo gruppo

Sono stati condotti esperimenti di categorizzazione degli anticorpi con i seguenti anticorpi anti-GITR umano: 28F3, 18E10, 19D3, 14E3, 8A6, 9G7, 3C3 e 6G10.

Gli anticorpi anti-GITR sono stati immobilizzati sulle superfici flowce112, flowce113 e flowce114 di un chip Sensor Chip CM5 (Serie S, GE Healthcare, cat n° BR-1005-30) (5000 RU) usando invece flowce111 come controllo negativo. Gli anticorpi sono stati diluiti a 120 µg/mL (2X) partendo dalla concentrazione iniziale. Diluendo 1:3 la concentrazione di anticorpo con tampone per otto concentrazioni differenti (120 µg/ml-0,0 µg/ml, 2X), è stata prodotta una serie di diluizioni per ottenere una curva di titolazione. Ciascuna concentrazione di anticorpo nella serie è stata divisa in due metà. Nella prima metà della serie di concentrazioni, è stato aggiunto un antigene GITR 40 nM (2X) (rhGITR/Fc, cat n° 689-GR) per ottenere la serie di concentrazioni finali (60 µg/ml-0,0 µg/ml) e una concentrazione finale di antigene di 20 nM in ciascun pozzetto. Nella seconda metà della serie di concentrazioni, al posto dell'antigene, è stato aggiunto il tampone in modo da diluire l'anticorpo alla stessa concentrazione, e questa metà è stata trattata come bianco. I complessi sono stati incubati per 2 ore. Aliquote da 40 µL dei complessi sono state iniettate sulla superficie rivestita con l'anticorpo ad una portata di 30 µL/min. È stato usato uno strumento Biacore T200, e il tampone di corsa era HBE-EP, GE Healthcare, cat n° BR-1001-88, filtrato e degassato, HEPES 0,01 M, pH 7,4, NaCl 0,15, EDTA 3 mM, tensioattivo P20 0,005%. La superficie è stata rigenerata con NaOH 25 mM (codice ordine: BR-1003-58, GE Healthcare) a 100 µL/min. per 5 secondi. I dati sono stati analizzati in Microsoft Excel rappresentando graficamente la serie di concentrazioni di anticorpi in funzione della corrispondente unità di risposta per ottenere le curve di titolazione.

I risultati mostrano che tutti gli anticorpi esaminati ricadono in un singolo gruppo, indicando che tutti si legano ad un dominio simile nella regione extracellulare del GITR umano.

Esempio 7: Gli anticorpi anti-GITR si legano ad un epitopo conformazionale

Questo Esempio mostra che gli anticorpi anti-GITR 28F3 e 3C3 si legano al GITR umano non denaturato ma non al GITR umano denaturato, e che il legame non è influenzato dalla glicosilazione N- od O-collegata.

Il legame degli anticorpi anti-GITR al GITR nativo o denaturato con o senza glicosilazione N-collegata è stato determinato nel seguente modo. I campioni di GITR umano nativo (ovvero non denaturato) e denaturato sono stati incubati con o senza l'enzima N-glicanasi PNGasi F a 37°C in PBS per una notte allo scopo di rimuovere la N-glicosilazione. La denaturazione di GITR è stata ottenuta mediante riduzione a 37°C in ditiotreitolo 50 mM e guanidina cloridrato 4M per 45 minuti e successiva alchilazione in iodoacetammide 100 mM a temperatura ambiente per 20

minuti. I campioni di GITR umano nativo con o senza glicosilazione N-collegata sono stati sottoposti ad elettroforesi su gel SDS, mentre i campioni di GITR denaturato con o senza glicosilazione N-collegata sono stati sottoposti ad elettroforesi su gel SDS denaturante. Le proteine sono state trasferite su una membrana di nitrocellulosa per l'analisi in Western blot. La membrana è stata incubata con l'anticorpo 28F3. Il legame è stato rilevato mediante incubazione con un anticorpo secondario coniugato con perossidasi di rafano (marcato con HRP) che era specifico perle catene pesanti e leggere anti-IgG umana (Jackson ImmunoResearch Laboratories, Inc.) prima di rilevare la luminescenza catturandola su una pellicola. I risultati, mostrati nella Figura 35, indicano che l'Ab anti-GITR 28F3 si lega solo al GITR nativo e non alla sua forma denaturata, e che la presenza o l'assenza della glicosilazione non influenza il legame. I risultati ottenuti con l'anticorpo anti-GITR 3C3 erano simili.

Segnatamente, gli anticorpi anti-GITR 28F3 e 3C3 si legano ad un epitopo che è conformazionale e indipendente dalla glicosilazione N-collegata e O-collegata.

Esempio 8: Pattern di legame di 28F3 e 3C3 a peptidi GITR umani nativi

Il pattern di legame di 28F3 e 3C3 al GITR umano è stato studiato esaminando il legame di questi anticorpi a peptidi generati dal GITR umano nativo via SDS-PAGE e analisi in Western blot. L'esperimento è stato condotto nel seguente modo. Il primo passo prevedeva di sottoporre il GITR umano nativo a proteolisi incubandolo con l'endoproteinasi Arg-C, l'endoproteinasi Lys-C, la tripsina, l'endoproteinasi Glu-C o l'endoproteinasi Asp-N ad un rapporto di 2% p/p a 37°C in PBS per 5 ore in assenza di reagenti denaturanti. L'intera miscela di reazione, 2 µg per ogni digestione, è stata poi sottoposta ad elettroforesi su SDS-PAGE non denaturante e trasferita su nitrocellulosa per l'analisi in Western blot. I Western blot sono state poi incubati con l'anticorpo 28F3 o 3C3, e il legame è stato rilevato mediante incubazione con un anticorpo secondario coniugato con perossidasi di rafano (marcato con HRP) che era specifico per le catene pesanti e leggere anti-IgG umana (Jackson ImmunoResearch Laboratories, Inc.) prima di rilevare la luminescenza catturandola su una pellicola. I risultati, mostrati nella Figura 36, indicano che i pattern di legame di 28F3 e 3C3 sono differenti, suggerendo che questi anticorpi non si legano esattamente alla stessa regione del GITR umano.

Esempio 9: L'anticorpo anti-GITR 28F3 si lega all'N-terminale del dominio extracellulare del GITR umano

La posizione della regione sul GITR umano a cui 28F3 si lega è stata determinata esaminando il legame in soluzione dell'anticorpo a vari frammenti non denaturati del GITR umano. L'esperimento è stato condotto nel seguente modo: I frammenti peptidici del GITR umano sono stati generati mediante incubando il GITR umano con l'endoproteinasi Arg-C, l'endoproteinasi Lys-C, la tripsina, l'endoproteinasi Glu-C o l'endoproteinasi Asp-N ad un rapporto di 2% p/p a 37°C in PBS per cinque ore in assenza di reagenti denaturanti. La miscela peptidica è stata poi incubata con sferette rivestite con un Ab anti-GITR in PBS a temperatura ambiente per due ore. Alcuni campioni sono stati sottoposti a taglio secondario in situ incubandoli con un enzima differente in PBS per un'ora. I peptidi non legati sono stati rimossi lavando due volte con PBS le sferette rivestite con l'Ab anti-GITR. I peptidi che si legavano all'Ab anti-GITR 28F3 sono stati eluiti con acido formico 2% e poi sottoposti ad identificazione della sequenza via LC-MS. I risultati, mostrati nella mappa termica della Figura 37, indicano che 28F3 si lega ad un epitopo conformazionale all'interno del seguente tratto di amminoacidi N-terminale:

QRPTGGPGCGPGRLLLGTGTDARCCRVHTTRCCRDYPGE (SEQ ID NO:215),

che corrisponde ai residui di amminoacido da 1 a 39 del GITR umano maturo (SEQ ID NO:4), o all'interno del frammento più corto

QRPTGGPGCGPGRLLLGTGTDARCCRVHTTR (SEQ ID NO:370).

Esempio 10: La glicosilazione O-collegata sul GITR umano non interferisce con il legame di 28F3

Non è nota né è stata documentata una glicosilazione O-collegata sul dominio extracellulare del GITR umano. Tuttavia, i residui T18 e T20 di SEQ ID NO:215 contengono una sequenza consenso per la O-glicosilazione. Questi residui sono sottolineati nella sequenza dell'epitopo: QRPTGGPGCGPGRLLLGTGT DARCCRVHTTRCCRDYPGE (SEQ ID NO:215). È stato quindi determinato se la glicosilazione O-collegata fosse in grado di influenzare il legame di 28F3 al GITR umano.

Il legame di 28F3 ad un peptide glicosilato o non glicosilato costituito da SEQ ID NO:215 è stato condotto nel seguente modo: I peptidi N-terminali parzialmente glicosilati e non glicosilati del GITR umano sono stati generati mediante proteolisi del dominio extracellulare del GITR umano nativo intatto collegato ad un Fc murino. Inoltre, usando la sintesi organica, è stato generato un peptide di GITR non glicosilato che era costituito dai residui di

amminoacido da 1 a 39 di SEQ ID NO:215. Le procedure per il legame di 28F3 ai peptidi sono state descritte nella sezione precedente (usando sferette rivestite con 28F3). Come mostrato nella Figura 38B, è stato riscontrato che due peptidi si legavano alle sferette rivestite con 28F3 e, via LC-MS, è stato scoperto che uno di tali peptidi era il peptide N-terminale senza glicosilazione O-collegata (Figura 38A) e l'altro era lo stesso peptide N-terminale con glicosilazione O-collegata su T18 e/o T20 di SEQ ID NO:215 (Figura 38D).

Segnatamente, 28F3 si lega alla regione N-terminale del GITR umano a prescindere dal fatto che tale regione abbia o no uno zucchero O-collegato sull'amminoacido T18 e/o T20.

Esempio 11: Legame dell'anticorpo anti-GITR 28F3 ad un 20-mero

Come parte dell'esperimento descritto nell'Esempio precedente, un peptide sintetico avente SEQ ID NO:215 senza glicosilazione O-collegata è stato prima legato su sferette rivestite con 28F3 e poi ulteriormente tagliato mediante digestione in situ con l'endoproteinasi Asp-N. Il peptide rimanente, costituito dalla sequenza di amminoacidi QRPTGGPGCGPGRLLLGTGT (SEQ ID NO:216) e contenente i residui di amminoacido T18 e T20 senza glicosilazione O-collegata, si legava a 28F3 (Figura 38E). Segnatamente, 28F3 si lega ad un 20-mero costituito da SEQ ID NO:216.

Esempio 12: Mappatura dell'epitopo via HDX-MS

Il metodo della spettrometria di massa con scambio idrogeno/deuterio (HDX-MS) sonda la conformazione e la dinamica conformazionale di una proteina in soluzione monitorando la velocità e il grado di scambio con deuterio degli atomi di idrogeno ammidici dello scheletro. Il livello di HDX dipende dall'accessibilità del solvente agli atomi di idrogeno ammidici dello scheletro e dai legami idrogeno presenti nella proteina. L'aumento di massa della proteina dopo lo scambio HDX può essere misurato con precisione via MS. Accoppiando questa tecnica alla digestione enzimatica, è possibile risolvere le caratteristiche strutturali a livello peptidico, cosa che permette di differenziare i peptidi esposti in superficie da quelli ripiegati all'interno. La procedura prevede tipicamente di eseguire gli esperimenti di marcatura con deuterio e successivo spegnimento prima di digerire in linea con pepsina, separare i peptidi e analizzarli via MS.

Prima di mappare l'epitopo del mAb 28F3.IgG1 (avente una catena pesante e una catena leggera rispettivamente costituite da SEQ ID NO: 17 e 19) su GITR via HDX-MS, sono stati condotti esperimenti senza deuterio per generare un elenco di peptidi peptici comuni per il GITR umano ricombinante/Fc (R&D Systems, 10 μM, che contiene la sostituzione di amminoacido T20A) e per il complesso proteico GITR umano ricombinante/Fc + mAb 28F3.IgG1 (rapporto molare 1:2, 10 μM e 20 μM), ottenendo una copertura di sequenza di 86% per la regione N-terminale di GITR (Figura 39A). In questo esperimento, durante il passaggio di marcatura, è stato usato tampone fosfato 10 mM (pH 7,0) prima di aggiungere un tampone di spegnimento (tampone fosfato 200 mM con GdnCl 4 M e TCEP 0,5 M, pH 2,5, 1:1, v/v). Per gli esperimenti di mappatura dell'epitopo, 5 μL di ciascuno dei campioni (GITR/Fc o GITR/Fc + mAb 28F3.IgG1 (rapporto molare 1:2)) sono stati diluiti in 55 μL di tampone D_2O (tampone fosfato 10 mM, D_2O, pD 7,0) per iniziare le reazioni di marcatura a temperatura ambiente. Le reazioni sono state eseguite per periodi di tempo differenti: 20 s, 1 min., 10 min., 60 min. e 240 min. Entro la fine di ciascun periodo di reazione di marcatura, la reazione è stata spenta attraverso l'aggiunta del tampone di spegnimento (1:1 v/v), e 50 μL del campione spento sono stati iniettati in un sistema HDX-MS Waters per l'analisi. I peptidi peptici comuni osservati sono stati monitorati per i loro livelli di captazione del deuterio in assenza/presenza del mAb 28F3.IgG1.

I dati sperimentali mostrati nelle Figure 39B e 39C che sono ottenuti dalle misurazioni via HDX-MS sul mAb 28F3.IgG1 in GITR indicano che il mAb 28F3.IgG1 ha un epitopo discontinuo che è costituito da (o che si trova all'interno di) due regioni peptidiche nella regione N-terminale di GITR:

Regione peptidica 1: PTGGPGCGPGRLLLGTGA (SEQ ID NO:217)

Regione peptidica 2: CRDYPGEE (SEQ ID NO:218)

Basandosi sui cambiamenti dei livelli relativi di captazione del deuterio, le due regioni peptidiche possono essere classificate come regione 1 > 2, con la regione 1 che mostra i cambiamenti più significativi nella captazione del deuterio e la regione 2 che è statisticamente significativa.

Esempio 13: Gli anticorpi anti-GITR inducono la secrezione di IL-2 e IFN-γ dalle cellule T

Gli anticorpi anti-GITR sono stati esaminati per la loro capacità di potenziare l'attività delle cellule T in vitro misurando la quantità di IL-2 e IFN-γ secreta da parte di cellule T incubate con gli anticorpi.

La linea cellulare di ibridoma di cellule T murine 3A9, che esprime il GITR umano per via ectopica (3A9-hGITR), è stata coltivata su piastre rivestite con un anticorpo monoclonale anti-CD3 in presenza di quantità crescenti degli anticorpi 19D3, 18E10 e 28F3. 5 x 10^4 cellule 3A9-hGITR sono state coltivate su piastre rivestite con anticorpo anti-CD3 1 µg/ml (clone 145-2C11; BD Biosciences) e trattate con le concentrazioni indicate degli anticorpi per 24 ore. Come mostrato nella Figura 40, tutti gli anticorpi 3C3 (GITR.3), 28F3, 19D3 e 18E10 potenziavano la secrezione di IL-2 dalle cellule T in maniera dipendente dalla dose. Come previsto, gli anticorpi hIgG1 e hIgG2 di controllo non aumentavano la secrezione di IL-2 dalle cellule 3A9-hGITR.

Poiché gli anticorpi anti-GITR potenziavano la secrezione di IL-2 dalle cellule 3A9-hGITR in presenza di un segnale CD3 stimolatorio, è stata esaminata la capacità degli anticorpi di potenziare la secrezione di IL-2 da cellule 3A9-hGITR attivate da uno specifico antigene. 5 x 10^4 cellule 3A9-hGITR sono state co-coltivate con 2,5 x 10^4 cellule presentanti l'antigene LK35.2 in presenza del peptide HEL48-63 a 0,4 µM e degli anticorpi indicati per 24 ore. Come mostrato nelle Figure 41A e 41B, gli anticorpi 18E10, 13H2 (lo stesso anticorpo di 28F3), 28F3, 3C3 e 19D3 potenziavano la secrezione di IL-2 dalle cellule 3A9-hGITR in maniera dipendente dalla dose.

In altri esperimenti, l'effetto di 28F3 sulla secrezione di IL-2 e IFN-γ da parte delle cellule T è stato esaminato su cellule T di donatore umano stimolate con cellule CHO che esprimevano un scFv anti-CD3 (OKT3). Le cellule CHO esprimevano bassi livelli di OKT3 in modo da promuovere una stimolazione subottimale e dunque permettere di osservare l'agonismo esercitato dagli anticorpi anti-GITR. In una prima serie di esperimenti, le cellule T CD3+ di un donatore sono state stimolate con cellule CHO che esprimevano OKT3 e con un anticorpo anti-GITR prima di misurare la secrezione di IFN-γ mentre, in una seconda serie di esperimenti, le cellule T CD4+ di 2 donatori (differenti dal donatore delle cellule T CD3+) sono state stimolate con cellule CHO che esprimevano OKT3 e con un anticorpo anti-GITR prima di misurare la secrezione di IL-2 e IFN-γ. Gli esperimenti sono stati condotti nel seguente modo. Le cellule Pan T sono state ottenute da PBMC umane isolate su gradiente di Ficoll (Amersham Bioscience, 17-1440-03) usando un kit di isolamento delle cellule Pan T (Miltenyi, n° 130-091-156) secondo il protocollo del produttore. Per gli esperimenti con le cellule T CD4+, le cellule T CD4+ sono state ottenute da PBMC umane (donatori 1 e 2) usando il cocktail di arricchimento delle cellule T CD4+ umane RosetteSep (StemCell Technology, n° 15062) secondo il

protocollo del produttore. Le cellule CHO che esprimevano un scFv anti-CD3 (OKT3) (CHO-OKT3) sono state lavate due volte con terreno RPMI e irraggiate con una dose di 50K Rad. Le cellule sono state raccolte e risospese in terreno di coltura (RPMI-1640 integrato con siero bovino fetale 10%, L-glutammina 2 mM, β-mercaptoetanolo 55 nM, piruvato di sodio 1 mM e penicillina/streptomicina 100 U/mL) a $2,5x10^5$/mL. Le cellule CHO-OKT3 e le cellule T sono state seminate su una piastra a 96 pozzetti con fondo piatto di grado TC (Costar) rispettivamente a $2,5X10^4$ e $1x10^5$. Le cellule sono state incubate con una titolazione 3-X a 8 punti di un anticorpo anti-GITR partendo da 20 μg/mL. Come controllo isotipico, è stata aggiunta una hIgG1 non correlata a 20 μg/mL. Per mostrare l'attività basale in assenza di trattamento, è stato incluso un campione che conteneva solo le cellule. Il sovranatante di ciascuno dei campioni è stato raccolto il giorno 2 per la misurazione di IL-2 (solo per i saggi con le cellule T CD4+) (kit ELISA per la IL-2 umana BD optEIA; BD Bioscience, n° 555190) e il giorno 3 per la misurazione di IFN-γ (kit ELISA per l'IFN-γ umano BD optEIA; BD Bioscience, n° 555142).

I risultati, mostrati nelle Figure 42B-E, indicano un aumento della secrezione di IL-2 e IFN-γ da parte delle cellule T CD4+ di entrambi i donatori, l'aumento dipendendo dalla dose di 28F3.

È stata anche dimostrata la secrezione di IFN-γ da parte di cellule T di donatore stimolate con altri anticorpi anti-GITR. Il saggio è stato condotto come descritto sopra. Come mostrato nella Figura 42A, tutti gli anticorpi 28F3, 3C3, 19D3 e 18E10 potenziavano la secrezione di IFN-γ da parte delle cellule T CD3+ in maniera dipendente dalla dose, con gli anticorpi 28F3 e 3C3 che mostrano l'effetto più alto tra gli anticorpi esaminati.

In un altro esperimento, è stata osservata la proliferazione delle cellule T in presenza di anticorpi anti-GITR, in particolare di 28F3, in reazioni linfocitarie miste (MLR).

Presi insieme, questi dati indicano che gli anticorpi 18E10, 19D3 e 28F3 agiscono da anticorpi anti-GITR agonisti che potenziano la secrezione delle citochine dalle cellule T.

Esempio 14: Gli anticorpi anti-GITR attivano le risposte delle cellule T in maniera indipendente dall'interazione con FcR in vitro

È stato riportato che gli anticorpi anti-TNFR agonisti richiedono il co-impegno di FcγRIIB per la loro attività in vivo (Li et al., Cell Cycle 2012; 11:3343-3344). Per determinare se questo requisito valesse anche per gli anticorpi

anti-GITR, le cellule 3A9-hGITR sono state co-coltivate con le cellule LK35.2 e con il peptide HEL48-63 come descritto nell'Esempio 13, sono state trattate con l'anticorpo anti-GITR 28F3 a tutta lunghezza (hIgG2), con il frammento F(ab')2 di 28F3 o con il frammento Fab di 28F3, e sono state valutate per la produzione di mIL-2. I risultati, riportati nella Figura 43, mostrano che sia l'anticorpo 28F3 a tutta lunghezza che il frammento F(ab')2 di 28F3 potenziavano la produzione di mIL-2, mentre il frammento Fab di 28F3 aveva un effetto più debole, suggerendo che l'impegno che contribuisce all'effetto dell'anticorpo anti-GITR 28F3 è bivalente ma non monovalente. Presi insieme, questi risultati suggeriscono che, benché il co-impegno di FcγRIIB non sia necessario per gli effetti di potenziamento delle cellule T mostrati in vitro dagli anticorpi anti-GITR agonisti, l'impegno del recettore FcγRIIB può potenziare l'attività da agonista. Gli anticorpi anti-GITR possono essere ingegnerizzati per aumentare il legame al recettore FcγRIIB e dunque potenziare il loro agonismo.

Esempio 15: L'anticorpo anti-GITR 28F3 marca i linfociti nella tonsilla umana

Per determinare i tessuti che esprimono GITR, è stato adoperato l'anticorpo anti-GITR 28F3 per rilevare GITR in vari tessuti usando l'immunoistochimica. Non veniva riscontrata una colorazione specifica nei tessuti non linfoidi (tra cui cuore, fegato, polmone, rene, pelle, nervo periferico, tiroide, testicolo, prostata). La colorazione positiva veniva solo osservata in sottoinsiemi sparpagliati di linfociti e/o cellule mononucleate nei tessuti linfoidi (tra cui tonsilla, milza e timo) e nei tessuti ricchi di linfociti (lamina propria del colon, stomaco, utero). La colorazione nella tonsilla è mostrata nella Figura 44. Veniva osservata una colorazione positiva in linfociti sparpagliati nella regione inter/para-follicolare e nel centro germinale. Anche cluster sparpagliati di cellule mononucleate (sotto l'epitelio) e di linfociti infiltranti l'epitelio si coloravano positivamente.

Esempio 16: Attività antitumorale di isotipi anti-GITR varianti nel modello di tumore MC38

DTA-1 è un anticorpo di ratto anti-GITR murino agonista (Shimizu et al., 2002; eBioscience, San Diego, CA). È stato dimostrato che questo anticorpo IgG2b modula sia le T_{reg} che le T_{eff} durante il trattamento del melanoma B16. Inoltre, affinché DTA-1 mostri tutto il suo potenziale, è necessario che GITR venga espresso sia dalle T_{eff} che dalle T_{reg}. Cohen et al. (2010) hanno suggerito che, benché il legame di GITR da parte di DTA-1 non abroghi globalmente l'attività soppressiva delle T_{reg}, esso pregiudica l'infiltrazione delle T_{reg} nel tumore e induce una perdita di espressione di

Foxp3 nelle T_{reg} intratumorali, causando così un'abrogazione localizzata della soppressione. Il risultato netto è un aumento del rapporto T_{eff}:T_{reg} intratumorale e livelli più alti di attivazione e funzione delle T_{eff} all'interno del tumore. DTA-1 blocca l'interazione tra GITR e il ligando per GITR (GITRL), e l'anticorpo solubile è efficace a promuovere una risposta cellulare in vitro. Esso è anche efficace ad inibire la crescita tumorale in vari modelli di tumore (vedere ad esempio Turk et al., 2004; Cohen et al., 2010).

a) Esperimento con MC38 n° 1

L'attività antitumorale dei differenti isotipi anti-GITR (DTA-1) è stata valutata in un modello tumorale di adenocarcinoma del colon MC38 stadiato. Le cellule di tumore MC38 sono state iniettate per via sottocutanea in topi C57BL/6 a 2 x 10^6 cellule per topo. Dopo 7 giorni, i topi sono stati randomizzati in 5 gruppi di trattamento, e gli anticorpi di test sono stati somministrati IP i giorni 7, 10 e 14 a 200 µg per dose in un volume di 200 µl nel seguente modo: Gruppo 1: IgG1 murina di controllo (IgG); Gruppo 2: Ab anti-GITR IgG2b di ratto (DTA-rG2b); Gruppo 3: Ab anti-GITR IgG1 murino (DTA-mG1); e Gruppo 4: Ab anti-GITR IgG2a murino (DTA-mG2a). I tumori e le milze sono stati raccolti il giorno 15.

La Figura 45C mostra che i tumori trattati con l'anti-GITR IgG1 crescevano ad una velocità equiparabile a quella dei tumori trattati con la IgG1 murina di controllo (Figura 45A), con nessuno dei 10 topi che era libero da tumore (TF) entro la conclusione del monitoraggio dei topi. Al contrario, DTA-rG2b (Figura 45B) e DTA-mG2a (Figura 45D) riducevano significativamente la velocità di crescita del tumore, rispettivamente con 3 e 2 topi su 10 che erano TF.

I cambiamenti dei volumi tumorali medi e dei volumi tumorali mediani nei topi dei gruppi trattati con i differenti isotipi anti-GITR sono rappresentati graficamente nelle Figure 46A e 46B. Questi grafici confermano i dati mostrati nella Figura 45 per i singoli topi, ovvero che l'isotipo IgG2b dell'anticorpo anti-GITR mostra l'effetto inibitorio più potente sulla crescita del tumore MC38, con l'isotipo IgG2a che è solo leggermente meno potente. L'isotipo IgG1 mostra una scarsa inibizione della crescita del tumore, con i volumi tumorali medi e mediani che sono simili a quelli nei topi trattati con la IgG murina di controllo.

Sono stati inoltre determinati gli effetti degli isotipi anti-GITR sui sottoinsiemi delle cellule T nei TIL e nelle milze in MC38. Sono state confrontate le popolazioni di sottoinsiemi delle cellule T nei TIL e nelle milze dei topi

portatori di MC38 che erano stati trattati con i differenti isotipi anti-GITR. Nella milza, DTA-m2a e DTA-r2b causavano una leggera riduzione del livello delle cellule $CD8^+$, mentre 9D9-m2a (un anticorpo anti-CTLA-4) e DTA-m1 non alteravano i livelli delle cellule T $CD8^+$ (Figura 47A). Nessuna delle varianti isotipiche esaminate aveva un effetto significativo sulla percentuale di cellule $CD4^+$ o $CD4^+Foxp3^+$ nella milza (Figure 47B e 47C).

Nei TIL, 9D9-m2a induceva un aumento di almeno 2-X nella percentuale di cellule $CD8^+$ rispetto alla IgG1 murina di controllo (Figura 47D). DTA-m2a aveva un effetto meno pronunciato, aumentando la percentuale delle cellule $CD8^+$ di circa 50%, mentre DTA-m1 e DTA-r2b non causavano aumenti, o causavano solo aumenti marginali, della percentuale di cellule $CD8^+$ rispetto all'isotipo IgG1 murino di controllo (Figura 47D). 9D9-m2a induceva un piccolo aumento della percentuale di cellule $CD4^+$ rispetto all'isotipo IgG1 murino di controllo, mentre DTA-m1 non causava cambiamenti nelle $CD4^+$ (Figura 47E). Per contro, sia DTA-m2a che DTA-r2b riducevano del 40-50% le percentuali di $CD4^+$ rispetto all'isotipo IgG1 murino (Figura 47E).

Gli effetti più netti venivano osservati nei livelli di T_{reg} $CD4^+Foxp3^+$ tra i TIL. Mentre DTA-m1 non aveva effetti su questa popolazione di cellule T, 9D9-m2a e DTA-m2a inducevano una riduzione di circa 6-X nel livello delle T_{reg} $CD4^+Foxp3^+$ rispetto all'isotipo IgG1 e a DTA-m1 (Figura 47F). Questi dati dimostrano che la variante IgG2a dell'anti-GITR riduce specificatamente il livello delle T_{reg} nell'ambiente tumorale. Segnatamente, l'isotipo anti-GITR IgG2a induce un aumento delle T_{eff} $CD8^+$ e una diminuzione delle T_{reg} nel sito del tumore, elevando così il rapporto tra T_{eff} e T_{reg} che è indicativo di una robusta attività antitumorale. Anche DTA-r2b induceva una riduzione significativa del livello delle T_{reg} $CD4^+Foxp3^+$ rispetto alla IgG1 di controllo, benché non così pronunciata come quella indotta da 9D9-m2a e DTA-m2a, coerentemente con la minore capacità di legame della regione Fc della IgG2b di ratto agli FcγR attivanti murini. Questi dati dimostrano che l'anticorpo anti-GITR agonista richiede l'impegno di FcγR attivanti per l'attività di deplezione.

La misurazione flussocitometrica del livello di espressione di GITR sui differenti sottoinsiemi delle cellule T nei TIL e nelle milze in MC38 mostrava che GITR veniva espresso al livello più alto sulle T_{reg} nel sito del tumore, detto livello di espressione essendo più alto di quello sulle T_{reg} nella periferia o sulle T_{eff} $CD8^+$ nel sito del tumore, il quale era a sua volta più alto di quello sulle T_{eff} $CD8^+$ o $CD4^+$ nella periferia. Le T_{eff} $CD4^+$ nel sito del tumore mostravano il

livello relativo più basso di espressione di GITR. Questi dati suggeriscono un meccanismo attraverso cui l'attività di deplezione delle cellule T contribuisce a stimolare una risposta delle cellule T e dunque a potenziare l'efficacia antitumorale di una proteina di fusione a Fc se il bersaglio della proteina di fusione a Fc viene espresso ad un alto livello sulle T_{reg} nel sito del tumore rispetto all'espressione del bersaglio sulle T_{eff} nel sito del tumore, con la proteina di fusione a Fc che si lega ad un FcR attivante che media la deplezione della cellula bersaglio.

b) Esperimento con MC38 n° 2

A causa dell'aggregazione sperimentata con le varianti di DTA-1 (ad eccezione della forma originale di DTA-r2b ottenuta in commercio), è stata reingegnerizzata una nuova serie di varianti isotipiche allo scopo di ottenere anticorpi DTA-1 che non mostrassero aggregazione. L'aggregazione osservata è stata ricondotta ad un amminoacido supplementare che era stato inavvertitamente incorporato nella catena leggera delle varianti isotipiche ingegnerizzate, e il problema è stato attenuato rimuovendo questo amminoacido estraneo. Gli anticorpi reingegnerizzati sono stati usati in questo Esperimento n° 2. L'attività antitumorale degli isotipi anti-GITR reingegnerizzati (DTA-1; serie GITR.7) è stata valutata usando un modello di MC38 stadiato. Le cellule MC38 sono state impiantate per via sottocutanea in topi C57BL/6 a 2 x 10^6 cellule per topo. Dopo 7 giorni, i topi sono stati randomizzati in 7 gruppi di trattamento in modo da avere volumi tumorali medi equiparabili (circa 148 $mm^3/2$), e gli anticorpi di test sono stati somministrati IP i giorni 7, 10 e 14 a 200 μg per dose (fatta eccezione per la mIgG di controllo che è stata somministrata ad una dose di 200 μg) nel seguente modo: Gruppo 1: IgG1 murina di controllo (mIgG o "isotipo"); Gruppo 2: anti-GITR IgG1Ab murino (mGITR.7.mg1); Gruppo 3: anti-GITR IgG1-D265A murino (mGITR.7.mg1-D265A); Gruppo 4: Ab anti-GITR IgG2a murino (mGITR.7.mg2a); Gruppo 5: Ab anti-GITR IgG2b murino (mGITR.7.mg2b); e Gruppo 6: Ab anti-GITR IgG2b di ratto (mGITR.7.r2b o DTA-1-rG2b). I tumori e le milze sono stati raccolti il giorno 15.

Le Figure 48B e 48C mostrano che i tumori trattati con gli anti-GITR IgG1 e IgG1-D265A crescevano ad una velocità equiparabile a quella dei tumori trattati con la IgG1 murina di controllo (Figura 48A). In ogni caso, nessuno dei 9 topi era TF entro la conclusione del monitoraggio dei topi 35 giorni dopo l'impianto. Tuttavia, in analogia ai risultati ottenuti nell'Esperimento con MC38 n° 1, mGITR.7.mg2a (Figura 48D) induceva il più alto livello di inibizione della crescita tumorale, con 2 topi su 9 che erano TF. Anche gli anticorpi anti-GITR-2b di topo e di ratto riducevano

significativamente la velocità di crescita tumorale nella stessa misura (Figure 48E e 48F), benché l'anticorpo di tipo 2b di ratto producesse 1 topo TF e l'anticorpo di tipo 2b non producesse topi TF a 35 giorni post-impianto.

I cambiamenti dei volumi tumorali medi e dei volumi tumorali mediani sono mostrati nelle Figure 49A e 49B. Le tendenze sono simili a quelle osservate nell'Esperimento con MC38 n° 1, eccetto per il fatto che l'isotipo anti-GITR IgG2a era l'inibitore più potente della crescita del tumore MC38, mentre l'isotipo IgG2b mostra una potenza di inibizione della crescita tumorale che era significativa ma più bassa. Gli isotipi IgG1 e IgG1-D265A mostravano un basso livello di inibizione della crescita tumorale rispetto alla IgG murina di controllo.

La Figura 50 mostra gli effetti dei differenti isotipi anti-GITR sulle popolazioni di T_{reg} nei TIL e nelle milze dei topi trattati. Come osservato nell'Esperimento n° 1, nessuna delle varianti isotipiche esaminate aveva un grande effetto sulla percentuale di T_{reg} $CD4^+Foxp3^+$ nella milza: l'effetto più notevole era un aumento minore del 40% indotto dal trattamento con l'anti-GITR di isotipo IgG2b di ratto, mentre l'anti-GITR di isotipo IgG2b murino riduceva marginalmente la percentuale di T_{reg} $CD4^+Foxp3^+$. Gli altri isotipi anti-GITR esaminati e l'anticorpo anti-CTLA-4 di tipo IgG2a (9D9-mG2a) aumentavano marginalmente la percentuale di T_{reg} (Figura 50A).

Viceversa, nei TIL, ad eccezione dell'isotipo IgG1 che non causava alcun cambiamento rispetto al controllo isotipico, tutti gli anticorpi esaminati inducevano riduzioni significative della percentuale di T_{reg}. L'anticorpo anti-CTLA-4 9D9-mG2a causava una riduzione di circa 4-X del livello di T_{reg} $CD4^+Foxp3^+$ rispetto all'isotipo IgG1; gli anti-GITR di isotipo 2a e 2b murino e di isotipo 2b di ratto abbassavano tutti il livello di T_{reg} di circa 2-X, mentre il mutante IgG1-D265A induceva una riduzione leggermente più bassa (Figura 50B). Questi dati confermano gli effetti osservati nell'Esperimento n° 1, e dimostrano che gli isotipi anti-GITR mG2a, mG2b e rG2b inducono una deplezione significativa delle T_{reg} nell'ambiente tumorale che è correlata ad un'inibizione della crescita tumorale.

I dati ottenuti nell'Esperimento con MC38 n° 2 sono assolutamente coerenti con quelli ottenuti nell'Esperimento n° 1, suggerendo che l'aggregazione degli anticorpi non interferisce indebitamente con le attività degli anticorpi. Una possibilità è che gli anticorpi aggregati vengono rapidamente rimossi dalla circolazione nei topi e che, di conseguenza, l'aggregazione degli anticorpi possa non rappresentare un problema significativo nei presenti saggi in vivo.

Esempio 17: Attività antitumorale di isotipi anti-GITR varianti in un modello di tumore Sa1N stadiato

L'attività antitumorale degli anti-GITR è stata anche valutata in un modello di sarcoma Sa1N in topi A/J. Le cellule Sa1N sono state iniettate per via sottocutanea in topi a 2 x 10^6 cellule per impianto. Dopo 7 giorni, sono stati determinati i volumi dei tumori, e i topi sono stati randomizzati in gruppi di trattamento in modo da avere volumi tumorali medi equiparabili (circa 75 $mm^3/2$). Gli anticorpi anti-GITR (DTA-1) ingegnerizzati per avere differenti isotipi come descritto nell'Esempio 10, Esperimento con MC38 n° 1, sono stati somministrati IP i giorni 7, 10 e 12 a 200 μg per dose.

Gli effetti sulla crescita tumorale sono mostrati nella Figura 51. Il trattamento con l'anticorpo anti-GITR di tipo IgG2a inibiva completamente la crescita tumorale, con 10 topi su 10 che erano TF entro circa il giorno 20 post-impianto (Figura 51B), e l'isotipo IgG2b di ratto aveva un effetto simile, con 9 topi su 10 che erano TF entro circa il giorno 20 (Figura 51C). Gli isotipi IgG1 (Figura 51D) e IgG1D265A (Figura 51E) inibivano i tumori in una certa misura rispetto alla crescita non inibita dei tumori trattati con l'isotipo IgG1 di controllo (Figura 51A), ma questa inibizione era molto più bassa di quella osservata con gli isotipi mIgG2a e rIgG2b. I cambiamenti dei volumi tumorali medi e dei volumi tumorali mediani, mostrati nelle Figure 52A e 52B, confermano l'effetto inibitorio pressoché completo degli anticorpi mIgG2a e rIgG2b sulla crescita tumorale rispetto all'inibizione molto più bassa esercitata dagli isotipi mIgG1 e mIgG1-D265A sulla crescita tumorale.

Presi insieme, i dati presentati nelle Figure 51 e 52 confermano i dati ottenuti con il modello di tumore MC38 (Esempio 10) e mostrano che, al contrario degli isotipi mIgG1 (e mIgG1-D265A), che evidenziano un'attività antitumorale molto più bassa, gli isotipi anti-GITR mIgG2a e rIgG2b evidenziano una potente attività antitumorale. L'attività antitumorale degli anticorpi varianti mIgG1 e D265A nel modello Sa1N è coerente con gli effetti di un agonismo di GITR senza deplezione delle T_{reg}.

La Figura 53 mostra gli effetti dei differenti isotipi anti-GITR sulle popolazioni di T_{reg} nei TIL e nelle milze dei topi trattati in Sa1N. Tutte le varianti isotipiche anti-GITR esaminate inducevano aumenti relativamente bassi, circa 20-40%, del livello di T_{reg} $CD4^+Foxp3^+$ nella milza. L'aumento più alto veniva indotto dal trattamento con l'anti-GITR di isotipo IgG2a murino, che causava lo stesso aumento del trattamento con gli anticorpi anti-CTLA-4 IgG2b (9D9-G2b) e

IgG1-D265A (9D9-G1-D265A) (Figura 53A). Questi ultimi isotipi anti-CTLA-4 sono stati usati come controlli positivi in questo studio su GITR perché l'isotipo IgG2b si era già dimostrato in grado di depletare le T_{reg}.

A differenza dell'effetto sulle T_{reg} nella periferia, gli isotipi anti-GITR m2a e r2b, alla pari degli isotipi anti-CTLA-4 2b, abbassavano tutti il livello di T_{reg} di almeno 3,5-X nel sito del tumore (Figura 53B). L'isotipo anti-GITR IgG1 e il mutante IgG1-D265A inducevano entrambi riduzioni più modeste, circa 35%, della percentuale di T_{reg}, mentre il mutante anti-CTLA-4 IgG1-D265A non causava cambiamenti nella percentuale di T_{reg} nei TIL (Figura 53B). Segnatamente, come osservato nel modello di tumore MC38, gli isotipi anti-GITR mG2a e rG2b inducono una significativa deplezione delle T_{reg} nell'ambiente tumorale che è molto più alta di quella indotta dagli anticorpi IgG1 e IgG1-D265A, tale deplezione essendo correlata ad un'inibizione della crescita tumorale.

Esempio 18: Attività sinergica usando un anticorpo anti-GITR in combinazione con un anticorpo anti-PD1 antagonista

Per determinare se fosse possibile ottenere un effetto antitumorale sinergico combinando l'anticorpo DTA-1 con un anticorpo che antagonizza PD-1, una molecola che fornisce un segnale inibitorio per meccanismi antitumorali, è stato valutato l'effetto degli anticorpi combinati sul volume tumorale usando un modello di adenocarcinoma del colon MC38 stadiato. I topi sono stati trattati con (A) una mIgG1 di controllo, (B) mIgG + DTA-1, (C) mIgG + PD-1 (clone 4H2, BMS), e (D) PD-1 + DTA-1 i giorni 7, 10 e 14.

Gli effetti sulla crescita tumorale sono mostrati nella Figura 54. Quando gli anticorpi venivano usati singolarmente, il trattamento con l'anticorpo DTA-1 o con l'anticorpo anti-PD-1 inibiva la crescita tumorale in una certa misura, con 2 topi su 10 che erano TF in ciascun caso. Per contro, la combinazione anticorpo DTA-1 + anticorpo anti-PD-1 aumentava sostanzialmente il numero di topi TF entro il giorno 30, con 7 topi su 10 che erano TF. Come previsto, tra i topi che avevano ricevuto la somministrazione della mIgG di controllo, nessuno era TF.

Questi risultati suggeriscono che la combinazione anticorpi anti-GITR agonisti + anticorpi anti-PD-1 antagonisti agisce sinergicamente per inibire la crescita tumorale.

Esempio 19: Effetto di mutazioni di amminoacido nelle CDR sull'affinità di legame

Questo Esempio mostra che certi residui di amminoacido nella VHCDR3 di 28F3 possono essere mutati in un altro amminoacido senza influenzare significativamente l'affinità di legame dell'anticorpo.

Sono stati creati 48 mutanti di 28F3 mutando uno o più dei seguenti amminoacidi nella VHCDR3: M102, D106 ed M111 (numerazione secondo SEQ ID NO:13), e sono state esaminate le seguenti attività: legame alle cellule 3A9-hGITR, e secrezione di IL-2 da parte delle cellule 3A9-hGITR in presenza di un anti-CD3 legato alla piastra. Gli esperimenti sono stati condotti come descritto sopra.

I risultati sono mostrati nelle Figure 55A e 55B (legame alle cellule 3A9-hGITR), nelle Figure 56A-F (secrezione di IL-2) e nella Tabella 7.

Tabella 7: Effetti di mutazioni di amminoacido nelle CDR sull'affinità di legame

Riferimenti nelle Figg. 55 e 56	Mutazione/i	EC50 per l'attività dell'anticorpo in cellule 3A9	EC50 per il legame dell'anticorpo via FACS
A1	M98V, M111L	1,731	0,5297
B1	M98F, M111L		7,762
C1	M98L, M111L	0,674	0,101
D1	M98I, M111L	0,218	0,155
E1	M98Q, M111L	3,274	3,259
F1	M98S, M111L		9,037
G1	M98A, M111L		28,02
H1	M98Y, M111L		92,92
A2	M98V, M111F	1,338	0,5543
B2	M98F, M111F		-399,9
C2	M98L, M111F		0,2066
D2	M98I, M111F	0,1326	0,1999
E2	M98Q, M111F		2,489
F2	M98S, M111F		36,81

G2	M98A, M111F		25,59
H2	M98Y, M111F		36,83
A3	M98V, D106E, M111L	0,7144	0,4297
B3	M98F, D106E, M111L		62,56
C3	M98L, D106E, M111L	1,037	0,1824
D3	M98I, D106E, M111L	0,0883	0,1602
E3	M98Q, D106E, M111L		3,054
F3	M98S, D106E, M111L		~187,0
G3	M98A, D106E, M111L		9,292
H3	M98Y, D106E, M111L		27,37
A4	M98V, D106E, M111F		0,1157
B4	M98F, D106E, M111F		8,097
C4	M98L, D106E, M111F	0,2618	0,09559
D4	M98Q, D106E, M111F	0,4539	0,4984
E4	M98S, D106E, M111F		~5,77e+006
F4	M98A, D106E, M111F	0,2613	2,86
G4	M98Y, D106E, M111F		6,752
H4	M98V, D106E	0,01499	0,08696
A5	M98F, D106E		0,1024
B5	M98L, D106E	0,02552	0,04658
C5	M98I, D106E	0,02048	0,05227

D5	M98Q, D106E	0,04963	0,1451
E5	M98S, D106E	1,01	0,3437
F5	M98A, D106E	0,06304	0,06008
G5	M98Y, D106E	1,081	0,1196
H5	M98V	0,05336	0,05104
A6	M98F		0,1194
B6	M98L	0,1104	0,1136
C6	M98I	0,1104	0,2126
D6	M98Q	0,08124	0,2155
E6	M98S	0,1226	0,526
F6	M98A	3,491	0,225
G6	M98Y		0,252
H6	28F3 non mutato	0,0418	0,05002

I risultati indicano che diversi mutanti hanno un legame e un'attività equiparabili a quelli di 28F3, mentre altre mutazioni riducono il legame o la secrezione di IL-2, o entrambe le cose. I seguenti mutanti hanno dati di legame e attività che sono equiparabili: M98V; M98V/D106E; M98L/D106E; M98I/D160E; e M98A/D106E.

Esempio 20: Effetti di modifiche nella regione costante sull'attività da agonista degli anticorpi anti-GITR

Questo Esempio dimostra che gli anticorpi anti-GITR comprendenti una cerniera IgG2 hanno una capacità aumentata di indurre la secrezione di IL-2 e IFN-γ dalle cellule T rispetto agli stessi anticorpi aventi una cerniera IgG1.

Nei saggi con CHO-OKT3 e 3A9 descritti sopra era stato osservato che gli anticorpi derivati da ibridoma che avevano una regione costante IgG2 mostravano una stimolazione più potente della secrezione delle citochine rispetto agli stessi anticorpi con la regione costante della catena pesante passata dall'isotipo IgG2 all'isotipo IgG1 o IgG1 senza

funzione effettrice (IgG1.1). Pertanto, questi saggi hanno ulteriormente esaminato l'effetto di una regione costante o cerniera IgG2 sugli anticorpi anti-GITR.

La regione variabile di catena pesante di un anticorpo anti-GITR umano è stata collegata alle seguenti regioni costanti di catena pesante:

Tabella 8: Configurazioni delle regioni costanti degli anticorpi anti-GITR esemplificati

Nome anticorpo	CH1	Cerniera	CH2	CH3	SEQ ID NO*
anti-GITR	IgG2	IgG2	IgG2	IgG2	SEQ ID NO:221
	SEQ ID NO:279	SEQ ID NO:291	SEQ ID NO:297	SEQ ID NO:298	
anti-GITR-IgG2	IgG2	IgG2	IgG2	IgG2	SEQ ID NO:221
	SEQ ID NO:279	SEQ ID NO:291	SEQ ID NO:297	SEQ ID NO:298	
anti-GITR-IgG1	IgG1	IgG1	IgG1	IgG1	SEQ ID NO:7
	SEQ ID NO:278	SEQ ID NO:295	SEQ ID NO:280	SEQ ID NO:282	
anti-GITR-IgG1.1	IgG1.1	IgG1.1	IgG1.1	IgG1.1	SEQ ID NO:11
	SEQ ID NO:278	(L234A/L235E/G237A) SEQ ID NO:296	(A330S/P331S) SEQ ID NO:281	SEQ ID NO:282	
anti-GITR-IgG2-IgG1 o anti-GITR g2.g1	IgG2	ibrido IgG2/IgG1	IgG1	IgG1	SEQ ID NO:223
	SEQ ID NO:279	SEQ ID NO:293	SEQ ID NO:280	SEQ ID NO:282	
anti-GITR-IgG2-IgG1.1 o anti-GITR g2.g1.1	IgG2	IgG2	IgG1.1	IgG1	SEQ ID NO:224
	SEQ ID NO:279	SEQ ID NO:291	(A330S/P331S) SEQ ID NO:281	SEQ ID NO:282	

Il primo passo prevedeva di confrontare le affinità di legame di questi anticorpi anti-GITR con quelle di anticorpi anti-GITR aventi una cerniera IgG1. Le affinità di legame sono state determinate come descritto nell'Esempio 2. Come mostrato nella Figura 57, tutti e tre gli anticorpi anti-GITR con una cerniera IgG2 avevano affinità per le cellule T attivate che erano simili a quelle dei due anticorpi anti-GITR con una cerniera IgG1.

Successivamente, gli anticorpi anti-GITR aventi una regione costante IgG1 o una combinazione cerniera IgG2/dominio Fc IgG1 sono stati esaminati per la loro capacità di indurre la secrezione di IL-2 e IFN-γ da cellule T stimolate con cellule CHO che esprimevano OKT3 come descritto nell'Esempio 13. Come mostrato nelle Figure 58A e 58B, l'anticorpo con la combinazione cerniera IgG2/dominio Fc IgG1 ("anti-GITR.G2.g1f") induceva le cellule T a secernere sia IFN-γ che IL-2 a livelli più alti di quelli indotti dall'anticorpo con la regione costante IgG1 ("anti-GITR.g1f"). I risultati ottenuti con le versioni senza funzione effettrice di questi domini costanti erano simili (Figura 58C).

Per confermare ulteriormente l'attivazione aumentata delle cellule T da parte degli anticorpi anti-GITR comprendenti una cerniera IgG2, la secrezione di IL-2 è stata esaminata in un formato sperimentale differente. In questo esperimento è stata esaminata la capacità degli anticorpi anti-GITR di indurre la secrezione di IL-2 da cellule 3A9-hGITR (linea cellulare di ibridoma di cellule T murine 3A9 che esprime il GITR umano per via ectopica) come descritto nell'Esempio 13. Come mostrato nella Figura 59, tutti gli anticorpi aventi la cerniera IgG2 (anti-GITR.g2, anti-GITR.g2.g1f e anti-GITR.g2.g1.1f) inducevano la secrezione di IL-2 da parte delle cellule 3A9-hGITR ad un livello più alto di quello indotto dalle loro controparti contenenti una regione costante IgG1 (anti-GITR.g1f e anti-GITR.g1.1f").

Presi insieme, questi risultati suggeriscono che gli anticorpi anti-GITR aventi una cerniera IgG2 e regioni costanti g1 o g1.1 sono più potenti degli stessi anticorpi aventi una cerniera IgG1. Un meccanismo potenziale per spiegare gli effetti migliorati degli anticorpi anti-GITR contenenti una cerniera IgG2 è che questi anticorpi mostrano un grado più alto di internalizzazione e/o formano più complessi sulla superficie cellulare rispetto agli stessi anticorpi che comprendono una cerniera IgG1.

Esempio 21: La proliferazione indotta dagli anticorpi anti-GITR è intrinseca per le cellule T_{eff}

GITR viene espresso sulle cellule T regolatorie (T_{reg}) sia murine che umane. I dati della letteratura hanno mostrato che gli anticorpi anti-GITR agonisti orchestrano la proliferazione delle cellule T effettrici (T_{eff}) CD4+Foxp3- murine in presenza delle cellule T_{reg}. Inoltre, è stato suggerito che questo effetto è principalmente orchestrato dal legame degli anticorpi anti-GITR alle cellule T_{eff} anziché da effetti diretti sulla funzione di soppressione delle cellule T_{reg}. Altre pubblicazioni mostrano che gli anticorpi anti-GITR orchestrano la proliferazione delle cellule T_{reg} e possono indurre un'instabilità caratterizzata dalla perdita di Fopx3 nel lignaggio delle cellule T_{reg}.

Per esaminare gli effetti degli anticorpi anti-GITR sulla funzione delle cellule T_{reg}, è stato condotto un saggio di soppressione delle cellule T_{reg} murine che prevedeva di stimolare le cellule T_{eff} con un anti-CD3 e con vari isotipi del mAb anti-GITR murino DTA-1 in presenza di APC e di titolare le cellule T_{reg}. I risultati mostravano che il trattamento con l'anticorpo DTA-1 aumentava la proliferazione rispetto ad un controllo isotipico. Inoltre, gli isotipi IgG1, 2a, 2b e IgG1 inerte di D265A erano tutti efficaci nell'aumentare la proliferazione delle cellule T_{eff}, dimostrando così che questo sistema non richiede il legame a FcR per la funzione degli anticorpi anti-GITR.

Dall'esperimento precedente non era chiaro se la proliferazione aumentata delle T_{eff} fosse dovuta all'azione degli anticorpi anti-GITR sulle cellule T_{reg} e/o sulle cellule T_{eff}. Per rispondere a questa domanda, sono stati usati topi "knock-in" per il GITR umano (huGITR-KI). In questi topi, il gene codificante per il GITR murino, Tnfrsf18, è sostituito con il gene TNFRSF18 umano, e il GITR umano viene espresso in maniera simile al muGITR nei topi di tipo selvatico; il GITR umano viene espresso sia sulle cellule T_{eff} che sulle cellule T_{reg}, queste ultime esprimendo livelli più alti. È stato riscontrato che il mAb anti-GITR umano 28F3 era in grado di orchestrare la proliferazione delle cellule T_{eff} nei topi huGITR-KI. Poiché 28F3 si lega al GITR umano ma non al GITR murino, è stato possibile impostare un sistema di saggio di soppressione delle T_{reg} in cui il GITR sulle cellule T_{eff} e sulle cellule T_{reg} poteva essere preso selettivamente a bersaglio. Questo sistema ci ha anche permesso di esaminare le differenze funzionali tra anticorpi 28F3 con una regione Fc umana di isotipo IgG1 o di isotipo IgG1.1 inerte.

Le cellule T_{reg} e T_{eff} dei topi huGITR-KI e WT sono state separate in base all'espressione di CD4 e CD25. Le cellule T_{reg} e T_{eff} WT e huGITR sono state miscelate in combinazioni che permettevano di prendere a bersaglio le cellule T_{reg} o le cellule T_{eff} con 28F3 in maniera monocompartimentale (cellule T_{eff} huGITR-KI con cellule T_{reg} di tipo

selvatico, ecc.). Come controlli, sono state incluse condizioni in cui 28F3 poteva legarsi sia alle cellule T_{reg} che alle cellule T_{eff} o a nessuna di esse. Le colture contenenti le cellule T_{eff} e T_{reg} sono state stimolate con un anti-CD3 in presenza di APC e di uno tra 28F3 IgG1, 28F3 IgG1.1 o un controllo isotipico.

I risultati sono forniti nella Figura 60. Come previsto, è stato osservato che la proliferazione delle cellule T_{eff} aumentava quando 28F3 poteva legare sia le cellule T_{reg} che le cellule T_{eff}, e questo effetto rimaneva invariato quando 28F3 poteva legare solo le cellule T_{eff}. Per contro, quando 28F3 poteva legare solo le cellule T_{reg}, la proliferazione delle T_{eff} non mostrava alcun aumento rispetto al controllo isotipico. Per quanto riguarda l'isotipo, l'Fc IgG1 non mostrava differenze rispetto all'Fc IgG1.1 alle condizioni in cui 28F3 mostrava un effetto. Ciò è coerente con i dati descritti sopra che mostrano che la reticolazione di Fc non è necessaria per l'agonismo esercitato da un anti-GITR. Nel complesso, in questo sistema, gli anticorpi anti-GITR agiscono principalmente attraverso la loro capacità di modulare la funzione delle cellule T_{eff}, e non attraverso l'inibizione della capacità di soppressione delle cellule T_{reg}. Tuttavia, ciò non esclude un ruolo della segnalazione di GITR sulle cellule T_{reg} in vivo, dato che gli anticorpi anti-GITR possono orchestrare la proliferazione delle cellule T_{reg} o fornire un bersaglio T_{reg}-specifico per ADCC o ADCP.

Esempio 22: Citotossicità cellulo-mediata anticorpo-dipendente (ADCC)

L'attività ADCC in vitro di 28F3.IgG1f e 28F3.IgG1.1f è stata valutata usando cellule NK92/CD16 o cellule NK primarie come cellule effettrici e una varietà di cellule note per esprimere GITR come bersagli.

Tre giorni prima del saggio, i sottoinsiemi di cellule T CD4+ e CD8+ bersaglio sono stati isolati mediante selezione negativa, e le T_{reg} sono state ulteriormente isolate dalle cellule T CD4+ mediante selezione positiva con CD25. Ciascuno dei sottoinsiemi di cellule T è stato stimolato per tre giorni con sferette rivestite con CD2/CD3/CD28 (Miltenyi Biotec) allo scopo di indurre la sovraregolazione di GITR. Un giorno prima del saggio, le cellule NK primarie sono state isolate dalle PBMC fresche mediante selezione negativa (StemCell Technologies, Inc) e incubate per una notte in terreno MyeloCult H5100 (StemCell) integrato con IL-2 ricombinante 500 IU/ml (R&D Systems) e idrocortisone 1 μM (StemCell). Il giorno del saggio, le cellule effettrici (cellule NK primarie o NK92/CD16) sono state incubate con cellule T attivate e marcate con calceina AM a rapporti cellule effettrici:cellule bersaglio specificati in presenza di 28F3.IgG1f e 28F3.IgG1.1f a 1 μg/mL.

Usando le cellule NK primarie o le cellule NK92/CD16 come cellule effettrici, 28F3.IgG1 induceva la lisi delle cellule T effettrici CD4+ attivate e delle cellule T_{reg}, mentre la lisi osservata delle cellule T CD8+ attivate era minore (Figura 61). Come previsto, usando le cellule NK92 o le cellule NK primarie come cellule effettrici, 28F3.IgG1.1 non mediava la ADCC di alcuna cellula bersaglio. Segnatamente, 28F3.IgG1 induceva la lisi delle cellule T effettrici CD4+ attivate e delle cellule T_{reg} e, in misura minore, delle cellule T CD8+ attivate, e il livello di lisi indotto da 28F3.IgG1 appare proporzionale al livello di espressione di GITR sulle cellule bersaglio.

Esempio 23: Attività dell'anticorpo 28F3.IgG1 in topi knock-in per il GITR umano

Questo Esempio mostra che 28F3.IgG1 e 28F3IgG1.1 hanno un'attività antitumorale su tumori MC38 in topi C57BL/6 aventi un sistema immunitario umano e una proteina GITR umana, e che l'attività antitumorale è più forte con 28F3.IgG1.

Generazione dei topi knock-in per il GITR umano: I topi C57BL/6 sono stati geneticamente ingegnerizzati per esprimere il dominio extracellulare (ECD) del GITR umano al posto dell'ECD del GITR murino mantenendo intatta la sequenza transmembrana e quella citoplasmatica del topo. L'espressione del GITR umano/murino chimerico è stata confermata dalla colorazione con un anticorpo anti-GITR umano di cellule di milza attivate con anti-CD3/CD28.

Le cellule MC38 sono state coltivate in terreno DMEM contenente siero bovino fetale (FBS) inattivato al calore 10%, L-glutammina 2 mM, glucosio 4,5 g/L (45%) (10 mL/L) e piruvato di sodio 1 mM (10 mL/L). Le cellule sono state divise 1:10 ogni 2 giorni. Sono state usate due coorti di topi e, per entrambe le coorti, le cellule MC38 sono state impiantate per via sottocutanea nei fianchi destri dei topi, a 0,75 milioni di cellule per topo in 0,2 mL di PBS, usando una siringa da 1 cm^3 e un ago da mezzo pollice calibro 25. Per la coorte 1, il giorno 7 post-impianto, 40 topi sono stati randomizzati in 3 gruppi di 12-13 topi ciascuno in base al volume tumorale (L×W×H/2). Tutti i gruppi avevano volumi tumorali medi di circa 174 $mm^{3/2}$. I giorni 7, 10 e 14, è stato somministrato il veicolo di controllo o il mAb a 10 mg/kg. Per la coorte 2, il giorno 7 post-impianto, 10 topi sono stati randomizzati in 2 gruppi di 5 topi ciascuno in base al volume tumorale (L×W×H/2). Tutti i gruppi avevano volumi tumorali medi di circa 69 $mm^{3/2}$. I giorni 7, 10 e 14, è stato somministrato il veicolo di controllo o il mAb 28F3.IgG1 a 10 mg/kg.

I topi sono stati dosati per via intraperitoneale (IP) alle concentrazioni e nelle date riepilogate nella Tabella 9.

Tabella 9.

Gruppi	Giorni post-impianto
IgG1, isotipo, 10 mg/kg	7, 10 e 14
28F3.IgG1, 10 mg/kg	7, 10 e 14
28F3.IgG1.1f, 10 mg/kg	7, 10 e 14

I pesi dei tumori e i pesi corporei sono stati misurati due volte alla settimana fino alla conclusione dello studio. I tumori sono stati misurati in 3 dimensioni con un calibro digitale elettronico Fowler (modello 62379-531; Fred V. Fowler Co., Newton, MA), e i dati sono stati registrati elettronicamente usando il software StudyDirector di Studylog Systems, Inc. (South San Francisco, CA).

In questo studio sui tumori, la coorte 1 è stata terminata il giorno 52 post-impianto. Per calcolare i valori di media, deviazione standard (DS) e mediana dei volumi dei tumori e dei pesi corporei, è stato usato Microsoft Excel. I valori medi e mediani sono stati calcolati quando gli animali che rimanevano in ciascun gruppo di trattamento erano rispettivamente 100% e almeno 60%. I tumori dei topi nella coorte 2 sono stati raccolti il giorno 15.

I risultati indicano che, il giorno 22 post-impianto del tumore, l'ultimo giorno in cui tutti i topi dello studio erano vivi, la dose di 10 mg/kg di 28F3.IgG1 mostrava un'inibizione media della crescita tumorale(TGI) di 67% sugli xenotrapianti di MC38 rispetto all'anticorpo di controllo isotipico. La Tabella 10 riepiloga la TGI tumorale per gruppo di trattamento. Le curve di crescita tumorale per gruppo di trattamento sono mostrate nelle Figure 62A-62C. Le curve di crescita tumorale media e mediana per gruppo di trattamento sono presentate nelle Figure 63A-63B. Nessun gruppo di trattamento mostrava tossicità evidenti, come testimoniato dalle variazioni medie e mediane dei pesi corporei che erano minori di 20%. I pesi corporei dei topi e le percentuali di variazione nel tempo sono mostrati nelle Figure 64A-64B.

Tabella 10.

Gruppo di trattamento	Giorno 22		Giorno 25	
	Volume tumorale mediano (mm^3)	TGI (%)	Volume tumorale mediano (mm^3)	TGI (%)

IgG1, isotipo, 10 mg/kg	1342	N/A	1790	N/A
28F3.IgG1, 10 mg/kg	447	67	380	79
28F3.IgG1.1f, 10 mg/kg	1049	22	1064	41

I risultati mostrano che, il giorno 22 post-impianto, 28F3.IgG1 aveva una TGI di 67% mentre 28F3.IgG1.1f aveva una TGI di 22%, indicando che entrambi gli anticorpi riducevano la crescita tumorale nel modello di tumore MC38. Inoltre, i risultati suggeriscono che il legame di Fc da parte di 28F3.IgG1 migliora la potenza antitumorale nel modello di tumore MC38.

Per studiare l'effetto di 28F3.IgG1 sulle popolazioni delle cellule T, il giorno 15 post-impianto, sono stati raccolti i tessuti di 5 topi per ciascun gruppo di trattamento. Le milze e i tumori sono stati trattati su un gentleMACS Octo Dissociator™ (Miltenyi, San Diego, CA). Le sospensioni di singole cellule sono state colorate per i marcatori delle cellule T in flussocitometria (FACS). La fluorescenza degli anticorpi è stata rilevata via flussocitometria su Fortessa (BD Biosciences, San Jose, CA), e i risultati sono stati analizzati con il programma per computer Flowjo (Flowjo, LLC, Ashland, OR).

I risultati, mostrati nelle Figure 65 e 66, mostrano una percentuale ridotta di cellule T_{reg} che è coerente con la deplezione avvenuta nei topi trattati con 28F3.IgG1 rispetto al controllo isotipico (Figura 65). Al contrario, il gruppo con 28F3.IgG1 mostrava una percentuale aumentata di cellule T CD8+ (Figura 66).

Segnatamente, l'immuno-monitoraggio dei topi trattati con 28F3.IgG1 rispetto al controllo isotipico suggerisce che la TGI può essere mediata da una deplezione delle T_{reg} e da un aumento delle cellule T CD8+.

Esempio 24: 28F3.IgG1 mostra una potenza aumentata perché reticolato

Questo Esempio mostra che la reticolazione di 28F3.IgG1 incrementa la sua potenza, aumentando la secrezione di IFN-γ da parte delle cellule T e promuovendo la proliferazione delle cellule T.

Le cellule T sono state co-coltivate con cellule CHO-OKT3 o CHO-OKT3-CD32a^{alto} in presenza di varie concentrazioni di anticorpi anti-GITR o di reagenti di controllo prima di misurare i livelli di secrezione di interferone-γ

(IFN-γ) e di proliferazione cellulare. La linea cellulare CHO-OKT3-CD32a^{alto} ha un livello molto alto del recettore per Fc CD32a, e mostra un'espressione leggermente più alta di OKT3 rispetto al suo clone CHO-OKT3 d'origine.

Il saggio è stato condotto nel seguente modo. Le cellule T rispondenti sono state ottenute da PBMC umane isolate su gradiente di Ficoll (Amersham Bioscience, 17-1440-03) usando un kit di isolamento delle cellule T CD4 (Life Technologies, cat. 113.31D) e microsferette rivestite con CD25 (Miltenyi, cat. 130-092-983) secondo il protocollo del produttore. Le cellule CHO che esprimevano un scFv anti-CD3 (OKT3) (CHO-OKT3) o le cellule CHO che esprimevano l'scFv anti-CD3 e CD32a sono state lavate due volte con terreno RPMI e irraggiate con una dose di 50K Rad. Le cellule sono state raccolte e risospese in terreno di coltura (RPMI-1640 integrato con siero bovino fetale 10%, L-glutammina 2 mM, β-mercaptoetanolo 55 nM, piruvato di sodio 1 mM e penicillina/streptomicina 100 U/mL) a $2,5x10^5$/mL. Le cellule CHO e le cellule T sono state seminate su una piastra a 96 pozzetti con fondo piatto di grado TC (Costar) rispettivamente a $2,5X10^4$ e $1x10^5$. Le cellule sono state incubate con una titolazione 4-X a 8 punti di un anticorpo anti-GITR partendo da 20 µg/mL. Come controllo isotipico, è stata aggiunta una hIgG1 non correlata a 20 µg/mL. Per mostrare l'attività basale in assenza di trattamento, è stato incluso un campione che conteneva solo le cellule. Il giorno 3, il sovranatante di ciascuno dei campioni è stato raccolto allo scopo di misurare IFN-γ (kit ELISA per IFN-γ umano BD optEIA; BD Bioscience, n° 555142). La proliferazione cellulare è stata valutata in base all'incorporazione della ^{3}H-timidina durante le ultime 8 ore di incubazione. I risultati, mostrati nelle Figure 67 e 68, indicano che, in presenza di 28F3.IgG1, la quantità di IFN-γ secreta dalle cellule T co-coltivate con le cellule CHO-OKT3-CD32a^{alto} era più alta di quella ottenuta dalla co-coltivazione con le cellule CHO-OKT3 (Figura 67). Come previsto, non venivano osservate differenze significative con l'anticorpo 28F3.IgG1.1f senza funzione effettrice, che non si lega a CD32a. Inoltre, in presenza di 28F3.IgG1, il livello di proliferazione delle cellule T osservato nelle cellule T co-coltivate con CHO-OKT3-CD32a^{alto} era più alto di quello ottenuto dalla co-coltivazione con le cellule CHO-OKT3; questo effetto non veniva osservato con l'anticorpo 28F3.IgG1.1f senza funzione effettrice (Figura 68). Segnatamente, la reticolazione di 28F3.IgG1 incrementa la sua potenza, aumentando la secrezione di IFN-γ da parte delle cellule T e promuovendo la proliferazione delle cellule T. Questo effetto di potenziamento veniva anche osservato sulla proliferazione delle cellule T con le cellule CHO-OKT3 che esprimevano livelli più bassi di CD32a. GITR.6 g1.1f

mostra livelli più alti di IFN-γ quando reticolato che non quando solubile. Questo è probabilmente un riflesso del livello leggermente più alto di OKT3 che viene espresso sulle cellule CHO-OKT3-CD32a^{alto} rispetto alle cellule CHO-OKT3. L'aumento osservato con il GITR.6 g1f reticolato è più grande di quello osservato con l'isotipo inerte, suggerendo un beneficio positivo della reticolazione. La versione g1f promuove alti livelli di IFN-γ anche a basse dosi, dove gli anticorpi solubili dimostravano un agonismo modesto sopra lo sfondo, suggerendo ancora una volta un ruolo positivo della reticolazione.

Segnatamente, benché sia l'anticorpo 28F3.IgG1 che l'anticorpo 28F3.IgG1 senza funzione effettrice stimolino la produzione di IFN-γ e stimolino la proliferazione delle cellule T, la reticolazione di 28F3.IgG1 incrementa ulteriormente la sua potenza, aumentando la secrezione di IFN-γ da parte delle cellule T e promuovendo la proliferazione delle cellule T.

TABELLA 11: RIEPILOGO DEL LISTATO DI SEQUENZE

SEQ ID	Descrizione	Sequenza
1	GITR umano, isoforma 1	MAQHGAMGAFRALCGLALLCALSLGQRPTGGPGCGPGRLLLGTGTD ARCCRVHTTRCCRDYPGEECCSEWDCMCVQPEFHCGDPCCTTCRHH PCPPGQGVQSQGKFSFGFQCIDCASGTFSGGHEGHCKPWTDCTQFG FLTVFPGNKTHNAVCVPGSPPAEPLGWLTVVLLAVAACVLLLTSAQ LGLHIWQLRSQCMWPRETQLLLEVPPSTEDARSCQFPEEERGERSA EEKGRLGDLWV
2	GITR umano, isoforma 2	MAQHGAMGAFRALCGLALLCALSLGQRPTGGPGCGPGRLLLGTGTD ARCCRVHTTRCCRDYPGEECCSEWDCMCVQPEFHCGDPCCTTCRHH PCPPGQGVQSQGKFSFGFQCIDCASGTFSGGHEGHCKPWTDCCWRC RRRPKTPEAASSPRKSGASDRQRRRGGWETCGCEPGRPPGPPTAAS PSPGAPQAAGALRSALGRALLPWQQKWVQEGGSDQRPGPCSSAAAA GPCRRERETQSWPPSSLAGPDGVGS
3	GITR umano, isoforma 3	MAQHGAMGAFRALCGLALLCALSLGQRPTGGPGCGPGRLLLGTGTD ARCCRVHTTRCCRDYPGEECCSEWDCMCVQPEFHCGDPCCTTCRHH PCPPGQGVQSQGKFSFGFQCIDCASGTFSGGHEGHCKPWTDCTQFG FLTVFPGNKTHNAVCVPGSPPAEPLGWLTVVLLAVAACVLLLTSAQ LGLHIWQLRKTQLLLEVPPSTEDARSCQFPEEERGERSAEEKGRLG DLWV

4	GITR umano (maturo)	QRPTGGPGCGPGRLLLGTGTDARCCRVHTTRCCRDYPGEECCSEWD CMCVQPEFHCGDPCCTTCRHHPCPPGQGVQSQGKFSFGFQCIDCAS GTFSGGHEGHCKPWTDCTQFGFLTVFPGNKTHNAVCVPGSPPAEP
5	GITR di cynomolgus	MCASGTLCCLALLCAASLGQRPTGGPGCGPGRLLLGTGKDARCCRV HPTRCCRDYQGEECCSEWDCVCVQPEFHCGNPCCTTCQHHPCPSGQ GVQPQGKFSFGFRCVDCALGTFSRGHDGHCKPWTDCTQFGFLTVFP GNKTHNAVCVPGSPPAEPPGWLTIILLAVAACVLLLTSAQLGLHIW QLRSQPTGPRETQLLLEVPPSTEDASSCQFPEEERGERLAEEKGRL GDLWV
6	GITR-L umano	MTLHPSPITCEFLFSTALISPKMCLSHLENMPLSHSRTQGAQRSSW KLWLFCSIVMLLFLCSFSWLIFIFLQLETAKEPCMAKFGPLPSKWQ MASSEPPCVNKVSDWKLEILQNGLYLIYGQVAPNANYNDVAPFEVR LYKNKDMIQTLTNKSKIQNVGGTYELHVGDTIDLIFNSEHQVLKNN TYWGIILLANPQFIS
7	IgG1 umana, dominio costante	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPG
8	IgG1 umana, dominio costante (variante allotipica)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPG

9	IgG1 umana, dominio costante con mutazioni L234A, L235E e G237A	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
10	IgG1 umana, dominio costante con mutazioni A330S e P331S	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
11	IgG1.1 umana, dominio costante (mutazioni L234A, L235E, G237A, A330S e P331S)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPG
12	IgG1 umana, catena leggera kappa, regione costante (CL)	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC
13	28F3 (VH)	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLE WVAVIWYEGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARGGSMVRGDYYYGMDVWGQGTTVTVSS
14	28F3 (VL)	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKL LIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFN SYPYTFGQGTKLEIK

15	28F3 (catena pesante di tipo selvatico a tutta lunghezza) La regione costante è sottolineata	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLE WVAVIWYEGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARGGSMVRGDYYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPC SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVEC PPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEY KCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
16	28F3 (catena leggera di tipo selvatico a tutta lunghezza) La regione costante è sottolineata	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKL LIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFN SYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
17	28F3.IgG1 (VH + IgG1)	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLE WVAVIWYEGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARGGSMVRGDYYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
18	28F3.IgG1.1 (VH + IgG1.1)	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLE WVAVIWYEGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARGGSMVRGDYYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKT HTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

19	28F3.IgG1 (VL + CL)	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKL LIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFN SYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
20	28F3, VH, CDR1	SYGMH
21	28F3, VH, CDR2	VIWYEGSNKYYADSVKG
22	28F3, VH, CDR3	GGSMVRGDYYYGMMDV
23	28F3, VL, CDR1	RASQGISSALA
24	28F3, VL, CDR2	DASSLES
25	28F3, VL, CDR3	QQFNSYPYT
26	19D3 (VH)	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGFHWVRQAPGKGLE WVAVIWYAGSNKFYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARGGQLDYYYYYVMDVWGQGTTVTVSS
27	19D3 (VL)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPEKAPKS LIYAASSLQSGVP SRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSYPYTFGQGTKLE IK
28	19D3 (catena pesante di tipo selvatico a tutta lunghezza) La regione costante è sottolineata	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGFHWVRQAPGKGLE WVAVIWYAGSNKFYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARGGQLDYYYYYVMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCS RSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECP PCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQ FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYK CKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

29	19D3 (catena leggera di tipo selvatico a tutta lunghezza) La regione costante è sottolineata	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPEKAPKS LIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYN SYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
30	19D3.IgG1 (VH + IgG1)	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGFHWVRQAPGKGLE WVAVIWYAGSNKFYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARGGQLDYYYYYVMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
31	19D3.IgG1.1 (VH + IgG1.1)	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGFHWVRQAPGKGLE WVAVIWYAGSNKFYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARGGQLDYYYYYVMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
32	19D3.IgG1 (VL + CL)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPEKAPKS LIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYN SYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
33	19D3, VH, CDR1	SYGFH
34	19D3, VH, CDR2	VIWYAGSNKFYADSVKG
35	19D3, VH, CDR3	GGQLDYYYYYVMDV

36	19D3, VL, CDR1	RASQGISSWLA
37	19D3, VL, CDR2	AASSLQS
38	19D3, VL, CDR3	QQYNSYQS
39	18E10 (VH)	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLE WVAVIWYAGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARGGRIAVAFYYSMDVWGQGTTVTVSS
40	18E10 (VL)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPEKAPKS LIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYN SYPYTFGQGTKLEIK
41	18E10 (catena pesante di tipo selvatico a tutta lunghezza) La regione costante è sottolineata	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLE WVAVIWYAGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARGGRIAVAFYYSMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCS RSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECP PCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQ FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYK CKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
42	18E10 (catena leggera di tipo selvatico a tutta lunghezza) La regione costante è sottolineata	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPEKAPKS LIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYN SYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

43	18E10.IgG1 (VH + IgG1)	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLE WVAVIWYAGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARGGRIAVAFYYSMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
44	18E10.IgG1.1 (VH + IgG1.1)	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLE WVAVIWYAGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARGGRIAVAFYYSMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
45	18E10.IgG1 (VL + CL)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPEKAPKS LIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYN SYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
46	18E10, VH, CDR1	SYGMH
47	18E10, VH, CDR2	VIWYAGSNKYYADSVKG
48	18E10, VH, CDR3	GGRIAVAFYYSMDV
49	18E10, VL, CDR1	RASQGISSWLA
50	18E10, VL, CDR2	AASSLQS

51	18E10, VL, CDR3	QQYNSYPYT
52	3C3 (VH)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWTWIRQPPGKGLE WIGKINHSGNTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAV YYCARLGAFDAFDIWGQGTMVTVSS
53	3C3 (VL1)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPEKAPKS LIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYN SYPYTFGQGTKLEIK
54	3C3 (VL2)	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQGVSSYLAWYQQKPGQAPRL LIYDASNRATGIPARFSGSGPGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRS NWHTFGQGTKLEIK
55	3C3 (catena pesante di tipo selvatico a tutta lunghezza) La regione costante è sottolineata	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWTWIRQPPGKGLE WIGKINHSGNTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAV YYCARLGAFDAFDIWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCP APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
56	3C3, L1 (catena leggera 1 di tipo selvatico a tutta lunghezza) La regione costante è sottolineata	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPEKAPKS LIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYN SYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
57	3C3, L2 (catena leggera 2 di tipo selvatico a tutta lunghezza) La regione costante è sottolineata	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQGVSSYLAWYQQKPGQAPRL LIYDASNRATGIPARFSGSGPGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRS NWHTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNF YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

58	3C3.IgG1 (VH + IgG1)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWTWIRQPPGKGLE WIGKINHSGNTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAV YYCARLGAFDAFDIWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCP APELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
59	3C3.IgG1.1 (VH + IgG1.1)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWTWIRQPPGKGLE WIGKINHSGNTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAV YYCARLGAFDAFDIWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCP APEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
60	3C3.IgG1 (VL1 + CL)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPEKAPKS LIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYN SYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
61	3C3IgG1.2 (VL2 + CL)	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQGVSSYLAWYQQKPGQAPRL LIYDASNRATGIPARFSGSGPGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRS NWHTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNF YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
62	3C3, VH, CDR1	GYYWT
63	3C3, VH, CDR2	KINHSGNTNYNPSLKS

64	3C3, VH, CDR3	LGAFDAFDI
65	3C3, VL1, CDR1	RASQGISSWLA
66	3C3, VL1, CDR2	AASSLQS
67	3C3, VL1, CDR3	QQYNSYPYT
68	3C3, VL2, CDR1	RASQGVSSYLA
69	3C3, VL2, CDR2	DASNRAT
70	3C3, VL2, CDR3	QQRSNWHT
71	2G6 (VH)	QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFILSDYGMHWVRQAPGKGLE WVTVIWYDGSNKFYVDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRVEDTA VYYCARGGRLATGHFYYVMDVWGQGTTVTVSS
72	2G6 (VL)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPEKAPKS LIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYN SYPYTFGQGTKLEIK
73	2G6 (catena pesante di tipo selvatico a tutta lunghezza) La regione costante è sottolineata	QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFILSDYGMHWVRQAPGKGLE WVTVIWYDGSNKFYVDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRVEDTA VYYCARGGRLATGHFYYVMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPC SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVEC PPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEY KCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
74	2G6 (catena leggera di tipo selvatico a tutta lunghezza) La regione costante è sottolineata	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPEKAPKS LIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYN SYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

75	2G6.IgG1 (VH + IgG1)	QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFILSDYGMHWVRQAPGKGLE WVTVIWYDGSNKFYVDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRVEDTA VYYCARGGRLATGHFYYVMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
76	2G6.IgG1.1 (VH + IgG1.1)	QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFILSDYGMHWVRQAPGKGLE WVTVIWYDGSNKFYVDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRVEDTA VYYCARGGRLATGHFYYVMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKT HTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLIVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
77	2G6.IgG1 (VL + CL)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPEKAPKS LIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYN SYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
78	2G6, VH, CDR1	DYGMH
79	2G6, VH, CDR2	VIWYDGSNKFYVDSVKG
80	2G6, VH, CDR3	GGRLATGHFYYVMDV
81	2G6, VL, CDR1	RASQGISSWLA
82	2G6, VL, CDR2	AASSLQS

83	2G6, VL, CDR3	QQYNSYPYT
84	8A6 (VH)	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCTASGFTFSSYGMQWVRQAPGKGLE WVAVIWYEGSNKYYADSVKGRFTISRENSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARGGLMVRGLFYYGMDVWGQGTTVTVSS
85	8A6 (VL)	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKF LIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFN SYPYTFGQGTKLEIK
86	8A6 (catena pesante di tipo selvatico a tutta lunghezza) La regione costante è sottolineata	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCTASGFTFSSYGMQWVRQAPGKGLE WVAVIWYEGSNKYYADSVKGRFTISRENSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARGGLMVRGLFYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPC SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVEC PPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEY KCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
87	8A6 (catena leggera di tipo selvatico a tutta lunghezza) La regione costante è sottolineata	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKF LIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFN SYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
88	8A6.IgG1 (VH + IgG1)	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCTASGFTFSSYGMQWVRQAPGKGLE WVAVIWYEGSNKYYADSVKGRFTISRENSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARGGLMVRGLFYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

89	8A6.IgG1.1 (VH + IgG1.1)	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCTASGFTFSSYGMQWVRQAPGKGLE WVAVIWYEGSNKYYADSVKGRFTISRENSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARGGLMVRGLFYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKT HTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
90	8A6.IgG1 (VL + CL)	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKF LIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFN SYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
91	8A6, VH, CDR1	SYGMQ
92	8A6, VH, CDR2	VIWYEGSNKYYADSVKG
93	8A6, VH, CDR3	GGLMVRGLFYYGMDV
94	8A6, VL, CDR1	RASQGISSALA
95	8A6, VL, CDR2	DASSLES
96	8A6, VL, CDR3	QQFNSYPYT
97	9G7 (VH)	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSTVWMSWVRQAPGKGLE WVGRIKSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLHTED TAVYYCTTGQLIPYSYYYGMDVWGQGTSVTVSS
98	9G7 (VL1)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY GSSPWTFGQGTKVEIK

99	9G7 (VL2)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVTSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPERFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY GSSPITFGQGTRLEIK
100	9G7 (catena pesante di tipo selvatico a tutta lunghezza) La regione costante è sottolineata	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSTVWMSWVRQAPGKGLE WVGRIKSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLHTED TAVYYCTTGQLIPYSYYYGMDVWGQGTSVTVSSASTKGPSVFPLAP CSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPP CPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDP EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSR LTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
101	9G7, L2 (catena leggera 2 di tipo selvatico a tutta lunghezza) La regione costante è sottolineata	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVTSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPERFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY GSSPITFGQGTRLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
102	9G7.IgG1 (VH + IgG1)	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSTVWMSWVRQAPGKGLE WVGRIKSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLHTED TAVYYCTTGQLIPYSYYYGMDVWGQGTSVTVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDK THTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

103	9G7.IgG1.1 (VH + IgG1.1)	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSTVWMSWVRQAPGKGLE WVGRIKSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLHTED TAVYYCTTGQLIPYSYYYGMDVWGQGTSVTVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDK THTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
104	9G7.IgG1 (VL1 + CL)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY GSSPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
105	9G7.IgG1.2 (VL2 + CL)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVTSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPERFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY GSSPITFGQGTRLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
106	9G7, VH, CDR1	TVWMS
107	9G7, VH, CDR2	RIKSKTDGGTTDYAAPVKG
108	9G7, VH, CDR3	GQLIPYSYYYGMDV
109	9G7, VL1, CDR1	RASQSVSSSYLA
110	9G7, VL1, CDR2	GASSRAT
111	9G7, VL1, CDR3	QQYGSSPWT
112	9G7, VL2, CDR1	RASQSVTSSYLA

113	9G7, VL2, CDR2	GASSRAT
114	9G7, VL2, CDR3	QQYGSSPIT
115	14E3 (VH)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEINHSGNTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQLSLKLSSVTAADTAV YYCARFGSNDAFDIWGQGTMVTVSS
116	14E3 (VL)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPEKAPKS LIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYN SYPPTFGQGTKVEIK
117	14E3 (catena pesante di tipo selvatico a tutta lunghezza) La regione costante è sottolineata	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEINHSGNTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQLSLKLSSVTAADTAV YYCARFGSNDAFDIWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCP APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
118	14E3 (catena leggera di tipo selvatico a tutta lunghezza) La regione costante è sottolineata	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPEKAPKS LIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYN SYPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

119	14E3.IgG1 (VH + IgG1)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEINHSGNTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQLSLKLSSVTAADTAV YYCARFGSNDAFDIWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCP APELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
120	14E3.IgG1.1 (VH + IgG1.1)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEINHSGNTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQLSLKLSSVTAADTAV YYCARFGSNDAFDIWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCP APEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
121	14E3.IgG1 (VL + CL)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPEKAPKS LIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYN SYPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
122	14E3, VH, CDR1	GYYWS
123	14E3, VH, CDR2	EINHSGNTYYNPSLKS
124	14E3, VH, CDR3	FGSNDAFDI
125	14E3, VL, CDR1	RASQGISSWLA
126	14E3, VL, CDR2	AASSLQS

127	14E3, VL, CDR3	QQYNSYPPT
128	19H8 (VH)	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPGKGLE WMAVIWYGGSNKFYADSVKGRFTISRDNSKNSLSLQMNSLRAEDTA VYYCARGGAMVRGVYYYGMDVWGQGTTVTVSS
129	19H8 (VL1)	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKF LIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFN SYPQTFGQGTKVEIK
130	19H8 (VL2)	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRL LIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRS NWPLTFGGGTKVEIK
131	19H8 (catena pesante di tipo selvatico a tutta lunghezza) La regione costante è sottolineata	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPGKGLE WMAVIWYGGSNKFYADSVKGRFTISRDNSKNSLSLQMNSLRAEDTA VYYCARGGAMVRGVYYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPC SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVEC PPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEY KCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
132	19H8, L1 (catena leggera 1 di tipo selvatico a tutta lunghezza) La regione costante è sottolineata	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKF LIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFN SYPQTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
133	19H8, L2 (catena leggera 2 di tipo selvatico a tutta lunghezza)	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRL LIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRS NWPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

134	19H8.IgG1 (VH + IgG1)	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPGKGLE WMAVIWYGGSNKFYADSVKGRFTISRDNSKNSLSLQMNSLRAEDTA VYYCARGGAMVRGVYYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
135	19H8.IgG1.1 (VH + IgG1.1)	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPGKGLE WMAVIWYGGSNKFYADSVKGRFTISRDNSKNSLSLQMNSLRAEDTA VYYCARGGAMVRGVYYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKT HTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
136	19H8.IgG1 (VL1 + CL)	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKF LIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFN SYPQTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
137	19H8.IgG1.2 (VL2 + CL)	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRL LIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRS NWPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
138	19H8, VH, CDR1	NYGMH
139	19H8, VH, CDR2	VIWYGGSNKFYADSVKG

140	19H8, VH, CDR3	GGAMVRGVYYYGMDV
141	19H8, VL1, CDR1	RASQGISSALA
142	19H8, VL1, CDR2	DASSLES
143	19H8, VL1, CDR3	QQFNSYPQT
144	19H8, VL2, CDR1	RASQSVSSYLA
145	19H8, VL2, CDR2	DASNRAT
146	19H8, VL2, CDR3	QQRSNWPLT
147	28F3 (VH), sequenza di nucleotidi	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGA GGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTAG CTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAG TGGGTGGCAGTTATATGGTATGAAGGAAGTAATAAATATTATGCAG ACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAA CACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCT GTGTATTACTGTGCGAGAGGGGGGAGTATGGTTCGGGGGGACTACT ACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTC CTCA
148	28F3 (VL), sequenza di nucleotidi	GCCATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAG GAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATTAGCAG TGCTTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCTCCTAAGCTC CTGATCTATGATGCCTCCAGTTTGGAAAGTGGGGTCCCATCAAGGT TCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAG CCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCAACAGTTTAAT AGTTACCCGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAA

149	28F3 (catena pesante di tipo selvatico a tutta lunghezza), sequenza di nucleotidi La sequenza codificante per la regione costante è sottolineata	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGA GGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTAG CTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAG TGGGTGGCAGTTATATGGTATGAAGGAAGTAATAAATATTATGCAG ACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAA CACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCT GTGTATTACTGTGCGAGAGGGGGGAGTATGGTTCGGGGGGACTACT ACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTC CTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCGCCCTGC TCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCA AGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGC TCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCAGCTGTCCTACAGTCCTCA GGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAACT TCGGCACCCAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAA CACCAAGGTGGACAAGACAGTTGAGCGCAAATGTTGTGTCGAGTGC CCACCGTGCCCAGCACCACCTGTGGCAGGACCGTCAGTCTTCCTCT TCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGA GGTCACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCGAGGTC CAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGA CAAAGCCACGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTTCCGTGTGGTCAG CGTCCTCACCGTTGTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAA CCATCTCCAAAACCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACAC CCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTG ACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGT GGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACACCTCC CATGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACC GTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCG TGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTC CCTGTCTCCGGGTAAA

150	28F3 (catena leggera di tipo selvatico a tutta lunghezza), sequenza di nucleotidi La sequenza codificante per la regione costante è sottolineata	GCCATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAG GAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATTAGCAG TGCTTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCTCCTAAGCTC CTGATCTATGATGCCTCCAGTTTGGAAAGTGGGGTCCCATCAAGGT TCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAG CCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCAACAGTTTAAT AGTTACCCGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAAC GAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGA GCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAAC TTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCC TCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAA GGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCA GACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGG GCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT

151	28F3.IgG1 (VH + IgG1), sequenza di nucleotidi	caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtatg aaggaagtaa taaatattat gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagaggggggg agtatggttc ggggggacta ctactacggt atggacgtct ggggccaagg gaccacggtc accgtctcct cagctagcac caagggccca tcggtcttcc ccctggcacc ctcctccaag agcacctctg ggggcacagc ggccctgggc tgcctggtca aggactactt ccccgaaccg gtgacggtgt cgtggaactc aggcgccctg accagcggcg tgcacacctt cccggctgtc ctacagtcct caggactcta ctccctcagc agcgtggtga ccgtgccctc cagcagcttg ggcacccaga cctacatctg caacgtgaat cacaagccca gcaacaccaa ggtggacaag agagttgagc ccaaatcttg tgacaaaact cacacatgcc caccgtgccc agcacctgaa ctcctggggg gaccgtcagt cttcctcttc cccccaaaac ccaaggacac cctcatgatc tcccggaccc ctgaggtcac atgcgtggtg gtggacgtga gccacgaaga ccctgaggtc aagttcaact ggtacgtgga cggcgtggag gtgcataatg ccaagacaaa gccgcgggag gagcagtaca acagcacgta ccgtgtggtc agcgtcctca ccgtcctgca ccaggactgg ctgaatggca aggagtacaa gtgcaaggtc tccaacaaag ccctcccagc ccccatcgag aaaaccatct ccaaagccaa agggcagccc cgagaaccac aggtgtacac cctgccccca tcccgggagg agatgaccaa gaaccaggtc agcctgacct gcctggtcaa aggcttctat cccagcgaca tcgccgtgga gtgggagagc aatgggcagc cggagaacaa ctacaagacc acgcctcccg tgctggactc cgacggctcc ttcttcctct atagcaagct caccgtggac aagagcaggt ggcagcaggg gaacgtcttc tcatgctccg tgatgcatga ggctctgcac aaccactaca cgcagaagag cctctccctg tccccgggtt ga

152	28F3.IgG1.1 (VH + IgG1.1), sequenza di nucleotidi	caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtatg aaggaagtaa taaatattat gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagaggggggg agtatggttc ggggggacta ctactacggt atggacgtct ggggccaagg gaccacggtc accgtctcct cagctagcac caagggccca tcggtcttcc ccctggcacc ctcctccaag agcacctctg ggggcacagc ggccctgggc tgcctggtca aggactactt ccccgaaccg gtgacggtgt cgtggaactc aggcgccctg accagcggcg tgcacacctt cccggctgtc ctacagtcct caggactcta ctccctcagc agcgtggtga ccgtgccctc cagcagcttg ggcacccaga cctacatctg caacgtgaat cacaagccca gcaacaccaa ggtggacaag agagttgagc ccaaatcttg tgacaaaact cacacatgcc caccgtgccc agcacctgaa gccgaagggg ccccgtcagt cttcctcttc cccccaaaac ccaaggacac cctcatgatc tcccggaccc ctgaggtcac atgcgtggtg gtggacgtga gccacgaaga ccctgaggtc aagttcaact ggtacgtgga cggcgtggag gtgcataatg ccaagacaaa gccgcgggag gagcagtaca acagcacgta ccgtgtggtc agcgtcctca ccgtcctgca ccaggactgg ctgaatggca aggagtacaa gtgcaaggtc tccaacaaag ccctcccaag cagcatcgag aaaaccatct ccaaagccaa agggcagccc cgagaaccac aggtgtacac cctgccccca tcccgggagg agatgaccaa gaaccaggtc agcctgacct gcctggtcaa aggcttctat cccagcgaca tcgccgtgga gtgggagagc aatgggcagc cggagaacaa ctacaagacc acgcctcccg tgctggactc cgacggctcc ttcttcctct atagcaagct caccgtggac aagagcaggt ggcagcaggg gaacgtcttc tcatgctccg tgatgcatga ggctctgcac aaccactaca cgcagaagag cctctccctg tccccgggtt ga

153	28F3.IgG1 (VL + CL), sequenza di nucleotidi	gccatccagt tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc atcacttgcc gggcaagtca gggcattagc agtgctttag cctggtatca gcagaaacca gggaaagctc ctaagctcct gatctatgat gcctccagtt tggaaagtgg ggtcccatca aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct gaagattttg caacttatta ctgtcaacag tttaatagtt acccgtacac ttttggccag gggaccaagc tggagatcaa acgtacggtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gttag
154	19D3 (VH), sequenza di nucleotidi	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAACCTGGGA GGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTAG CTATGGCTTCCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAG TGGGTGGCAGTTATATGGTATGCTGGAAGTAATAAATTCTATGCAG ACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAA CACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTAAGAGCCGAGGACACGGCT GTGTATTACTGTGCGAGAGGGGGACAGTTGGACTACTACTACTATT ACGTTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTC A
155	19D3 (VL), sequenza di nucleotidi	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCACTGTCTGCATCTGTAG GAGACAGAGTCACCATCACTTGTCGGGCGAGTCAGGGTATTAGCAG CTGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGAGAAAGCCCCTAAGTCC CTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGT TCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAG CCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGCCAACAGTATAAT AGTTACCCGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAA

156	19D3 (catena pesante di tipo selvatico a tutta lunghezza), sequenza di nucleotidi La sequenza codificante per la regione costante è sottolineata	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAACCTGGGA GGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTAG CTATGGCTTCCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAG TGGGTGGCAGTTATATGGTATGCTGGAAGTAATAAATTCTATGCAG ACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAA CACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTAAGAGCCGAGGACACGGCT GTGTATTACTGTGCGAGAGGGGGACAGTTGGACTACTACTACTATT ACGTTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTC AGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCC AGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGG ACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCTCT GACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCAGCTGTCCTACAGTCCTCAGGA CTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAACTTCG GCACCCAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACAC CAAGGTGGACAAGACAGTTGAGCGCAAATGTTGTGTCGAGTGCCCA CCGTGCCCAGCACCACCTGTGGCAGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCC CCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGT CACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCGAGGTCCAG TTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAA AGCCACGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTTCCGTGTGGTCAGCGT CCTCACCGTTGTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAG TGCAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCA TCTCCAAAACCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCT GCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACC TGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGG AGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACACCTCCCAT GCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTG GACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCT GTCTCCGGGTAAA

157	19D3 (catena leggera di tipo selvatico a tutta lunghezza), sequenza di nucleotidi La sequenza codificante per la regione costante è sottolineata	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCACTGTCTGCATCTGTAG GAGACAGAGTCACCATCACTTGTCGGGCGAGTCAGGGTATTAGCAG CTGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGAGAAAGCCCCTAAGTCC CTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGT TCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAG CCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGCCAACAGTATAAT AGTTACCCGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAAC GAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGA GCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAAC TTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCC TCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAA GGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCA GACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGG GCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT
158	18E10 (VH), sequenza di nucleotidi	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGA GGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTAG CTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAG TGGGTGGCAGTTATATGGTATGCTGGAAGTAATAAATACTATGCAG ACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAA CACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCT GTGTATTACTGTGCGAGAGGGGGGCGTATAGCAGTGGCCTTCTACT ACAGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTC A
159	18E10 (VL), sequenza di nucleotidi	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCACTGTCTGCATCTGTAG GAGACAGAGTCACCATCACTTGTCGGGCGAGTCAGGGTATTAGCAG CTGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGAGAAAGCCCCTAAGTCC CTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGT TCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAG CCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGCCAACAGTATAAT AGTTACCCGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAA

160	18E10 (catena pesante di tipo selvatico a tutta lunghezza), sequenza di nucleotidi	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGA GGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTAG CTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAG TGGGTGGCAGTTATATGGTATGCTGGAAGTAATAAATACTATGCAG ACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAA CACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCT GTGTATTACTGTGCGAGAGGGGGGCGTATAGCAGTGGCCTTCTACT ACAGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTC AGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCC AGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGG ACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCTCT GACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCAGCTGTCCTACAGTCCTCAGGA CTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAACTTCG GCACCCAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACAC CAAGGTGGACAAGACAGTTGAGCGCAAATGTTGTGTCGAGTGCCCA CCGTGCCCAGCACCACCTGTGGCAGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCC CCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGT CACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCGAGGTCCAG TTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAA AGCCACGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTTCCGTGTGGTCAGCGT CCTCACCGTTGTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAG TGCAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCA TCTCCAAAACCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCT GCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACC TGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGG AGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACACCTCCCAT GCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTG GACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCT GTCTCCGGGTAAA

161	18E10 (catena leggera di tipo selvatico a tutta lunghezza), sequenza di nucleotidi	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCACTGTCTGCATCTGTAG GAGACAGAGTCACCATCACTTGTCGGGCGAGTCAGGGTATTAGCAG CTGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGAGAAAGCCCCTAAGTCC CTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGT TCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAG CCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGCCAACAGTATAAT AGTTACCCGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAAC GAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGA GCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAAC TTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCC TCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAA GGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCA GACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGG GCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT
162	3C3 (VH), sequenza di nucleotidi	CAGGTGCAACTACAGCAGTGGGGCGCAGGACTGTTGAAGCCTTCGG AGACCCTGTCCCTCACCTGCGCTGTCTATGGTGGGTCCTTCAGTGG TTACTACTGGACCTGGATCCGCCAGCCCCCAGGGAAGGGGCTGGAG TGGATTGGGAAAATCAATCATAGTGGAAACACCAACTACAACCCGT CCCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCAGTAGACACGTCCAAGAACCA GTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGCGGACACGGCTGTG TATTACTGTGCGAGACTGGGGGCCTTTGATGCTTTTGATATCTGGG GCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
163	3C3 (VL1), sequenza di nucleotidi	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCACTGTCTGCATCTGTAG GAGACAGAGTCACCATCACTTGTCGGGCGAGTCAGGGTATTAGCAG CTGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGAGAAAGCCCCTAAGTCC CTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGT TCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAG CCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGCCAACAGTATAAT AGTTACCCGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAA
164	3C3 (VL2), sequenza di nucleotidi	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGGGTGTTAGCAG CTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTC CTCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGT TCAGTGGCAGTGGGCCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAG CCTAGAGCCTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTCAGCAGCGTAGC AACTGGCACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAA

165	3C3 (catena pesante di tipo selvatico a tutta lunghezza), sequenza di nucleotidi La sequenza codificante per la regione costante è sottolineata	CAGGTGCAACTACAGCAGTGGGGCGCAGGACTGTTGAAGCCTTCGG AGACCCTGTCCCTCACCTGCGCTGTCTATGGTGGGTCCTTCAGTGG TTACTACTGGACCTGGATCCGCCAGCCCCCAGGGAAGGGGCTGGAG TGGATTGGGAAAATCAATCATAGTGGAAACACCAACTACAACCCGT CCCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCAGTAGACACGTCCAAGAACCA GTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGCGGACACGGCTGTG TATTACTGTGCGAGACTGGGGGCCTTTGATGCTTTTGATATCTGGG GCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCAGCCTCCACCAAGGGCCC ATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGC ACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGG TGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACAC CTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGC GTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCT GCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGT TGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCA GCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAA AACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATG CGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAAC TGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGC GGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCAC CGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAG GTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCA AAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCC ATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTG GTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCA ATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGA CTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAG AGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATG AGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCC GGGTAAA

166	3C3, L1 (catena leggera di tipo selvatico a tutta lunghezza), sequenza di nucleotidi La sequenza codificante per la regione costante è sottolineata	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCACTGTCTGCATCTGTAG GAGACAGAGTCACCATCACTTGTCGGGCGAGTCAGGGTATTAGCAG CTGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGAGAAAGCCCCTAAGTCC CTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGT TCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAG CCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGCCAACAGTATAAT AGTTACCCGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAAC GAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGA GCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAAC TTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCC TCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAA GGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCA GACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGG GCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT
167	3C3, L2 (catena leggera di tipo selvatico a tutta lunghezza), sequenza di nucleotidi La sequenza codificante per la regione costante è sottolineata	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGGGTGTTAGCAG CTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTC CTCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGT TCAGTGGCAGTGGGCCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAG CCTAGAGCCTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTCAGCAGCGTAGC AACTGGCACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAACGAA CTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCA GTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTC TATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCC AATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGA CAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGAC TACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCC TGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT
168	2G6 (VH), sequenza di nucleotidi	CAGGTTCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGG GGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCATCTTGAGTGA CTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGACTGGAG TGGGTGACAGTTATCTGGTATGATGGAAGTAATAAATTCTATGTAG ACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAA CACGTTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGTCGAGGACACGGCT GTGTATTACTGTGCGAGAGGGGGACGTCTAGCAACAGGTCACTTCT ACTACGTTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTC CTCA

169	2G6 (VL), sequenza di nucleotidi	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCACTGTCTGCATCTGTAG GAGACAGAGTCACCATCACTTGTCGGGCGAGTCAGGGTATTAGCAG CTGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGAGAAAGCCCCTAAGTCC CTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGT TCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAG CCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGCCAACAGTATAAT AGTTACCCGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAA
170	2G6 (catena pesante di tipo selvatico a tutta lunghezza), sequenza di nucleotidi La sequenza codificante per la regione costante è sottolineata	CAGGTTCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGG GGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCATCTTGAGTGA CTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGACTGGAG TGGGTGACAGTTATCTGGTATGATGGAAGTAATAAATTCTATGTAG ACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAA CACGTTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGTCGAGGACACGGCT GTGTATTACTGTGCGAGAGGGGGACGTCTAGCAACAGGTCACTTCT ACTACGTTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTC CTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCGCCCTGC TCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCA AGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGC TCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCAGCTGTCCTACAGTCCTCA GGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAACT TCGGCACCCAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAA CACCAAGGTGGACAAGACAGTTGAGCGCAAATGTTGTGTCGAGTGC CCACCGTGCCCAGCACCACCTGTGGCAGGACCGTCAGTCTTCCTCT TCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGA GGTCACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCGAGGTC CAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGA CAAAGCCACGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTTCCGTGTGGTCAG CGTCCTCACCGTTGTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAA CCATCTCCAAAACCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACAC CCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTG ACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGT GGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACACCTCC CATGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACC GTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCG TGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTC CCTGTCTCCGGGTAAA

171	2G6 (catena leggera di tipo selvatico a tutta lunghezza), sequenza di nucleotidi La sequenza codificante per la regione costante è sottolineata	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCACTGTCTGCATCTGTAG GAGACAGAGTCACCATCACTTGTCGGGCGAGTCAGGGTATTAGCAG CTGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGAGAAAGCCCCTAAGTCC CTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGT TCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAG CCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGCCAACAGTATAAT AGTTACCCGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAAC GAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGA GCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAAC TTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCC TCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAA GGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCA GACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGG GCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT
172	8A6 (VH), sequenza di nucleotidi	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGA GGTCCCTGAGACTCTCCTGTACAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTAG CTATGGCATGCAGTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAG TGGGTGGCAGTTATATGGTATGAAGGAAGTAATAAATACTATGCAG ACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGAAAATTCCAAGAA CACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCT GTGTATTACTGTGCGAGAGGCGGTCTTATGGTTCGGGGTCTCTTCT ACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCAC CGTCTCCTCA
173	8A6 (VL), sequenza di nucleotidi	GCCATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAG GAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATTAGCAG TGCTTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCTCCTAAGTTC CTGATCTATGATGCCTCCAGTTTGGAAAGTGGGGTCCCATCAAGGT TCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAG CCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCAACAGTTTAAT AGTTACCCGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAA

174	8A6 (catena pesante di tipo selvatico a tutta lunghezza), sequenza di nucleotidi La sequenza codificante per la regione costante è sottolineata	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGA GGTCCCTGAGACTCTCCTGTACAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTAG CTATGGCATGCAGTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAG TGGGTGGCAGTTATATGGTATGAAGGAAGTAATAAATACTATGCAG ACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGAAAATTCCAAGAA CACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCT GTGTATTACTGTGCGAGAGGCGGTCTTATGGTTCGGGGTCTCTTCT ACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTC CTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCGCCCTGC TCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCA AGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGC TCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCAGCTGTCCTACAGTCCTCA GGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAACT TCGGCACCCAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAA CACCAAGGTGGACAAGACAGTTGAGCGCAAATGTTGTGTCGAGTGC CCACCGTGCCCAGCACCACCTGTGGCAGGACCGTCAGTCTTCCTCT TCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGA GGTCACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCGAGGTC CAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGA CAAAGCCACGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTTCCGTGTGGTCAG CGTCCTCACCGTTGTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAA CCATCTCCAAAACCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACAC CCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTG ACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGT GGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACACCTCC CATGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACC GTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCG TGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTC CCTGTCTCCGGGTAAA

175	8A6 (catena leggera di tipo selvatico a tutta lunghezza), sequenza di nucleotidi La sequenza codificante per la regione costante è sottolineata	GCCATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAG GAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATTAGCAG TGCTTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCTCCTAAGTTC CTGATCTATGATGCCTCCAGTTTGGAAAGTGGGGTCCCATCAAGGT TCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAG CCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCAACAGTTTAAT AGTTACCCGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAAC GAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGA GCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAAC TTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCC TCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAA GGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCA GACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGG GCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT
176	9G7 (VH), sequenza di nucleotidi	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTAGTAAAGCCTGGGG GGTCCCTTAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACTTTCAGTAC CGTCTGGATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAG TGGGTTGGCCGTATTAAAAGCAAAACTGATGGTGGGACAACAGACT ACGCTGCACCCGTGAAAGGCAGATTCACCATCTCAAGAGATGATTC AAAAAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCACACCGAGGAC ACAGCCGTGTATTACTGTACCACAGGGCAGCTGATCCCTTACTCCT ACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCTCGGT CACCGTCTCCTCA
177	9G7 (VL1), sequenza di nucleotidi	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAG CAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGG CTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACA GGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAG CAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTAT GGTAGCTCACCGTGGACGTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCA AA

178	9G7 (VL2), sequenza di nucleotidi	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTACCAG CAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGG CTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGAGA GGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAG CAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTAT GGTAGCTCACCGATCACCTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGATTA AA
179	9G7 (catena pesante di tipo selvatico a tutta lunghezza), sequenza di nucleotidi La sequenza codificante per la regione costante è sottolineata	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTAGTAAAGCCTGGGG GGTCCCTTAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACTTTCAGTAC CGTCTGGATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAG TGGGTTGGCCGTATTAAAAGCAAAACTGATGGTGGGACAACAGACT ACGCTGCACCCGTGAAAGGCAGATTCACCATCTCAAGAGATGATTC AAAAAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCACACCGAGGAC ACAGCCGTGTATTACTGTACCACAGGGCAGCTGATCCCTTACTCCT ACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCTCGGTCACCGT CTCCTCAGCTTCCACCAAGGGCCCATCCGTCTTCCCCCTGGCGCCC TGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGG TCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGG CGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCC TCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCA GCTTGGGCACGAAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCCAG CAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGTCCAAATATGGTCCCCCA TGCCCATCATGCCCAGCACCTGAGTTCCTGGGGGGACCATCAGTCT TCCTGTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACTCTCATGATCTCCCGGAC CCCTGAGGTCACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAAGACCCC GAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCATAATG CCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTACCGTGT GGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAG GAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCCGTCCTCCATCG AGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAGCCACAGGT GTACACCCTGCCCCCATCCCAGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTC AGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCG TGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCAC GCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAGG CTAACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGGAGGGGAATGTCTTCTCAT GCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACACAGAAGAG CCTCTCCCTGTCTCTGGGTAAA

180	9G7, L2 (catena leggera di tipo selvatico a tutta lunghezza), sequenza di nucleotidi La sequenza codificante per la regione costante è sottolineata	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTACCAG CAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGG CTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGAGA GGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAG CAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTAT GGTAGCTCACCGATCACCTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGATTA AACGAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGA TGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAAT AACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACG CCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAG CAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAA GCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATC AGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTG T
181	9G7, L1 (catena leggera di tipo selvatico a tutta lunghezza), sequenza di nucleotidi La sequenza codificante per la regione costante è sottolineata	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAG CAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGG CTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACA GGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAG CAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTAT GGTAGCTCACCGTGGACGTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCA AACGAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGA TGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAAT AACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACG CCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAG CAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAA GCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATC AGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTG T
182	14E3 (VH), sequenza di nucleotidi	CAGGTGCAGCTACAGCAGTGGGGCGCAGGACTGTTGAAGCCTTCGG AGACCCTGTCCCTCACCTGCGCTGTCTATGGTGGGTCCTTCAGTGG TTACTACTGGAGCTGGATCCGCCAGCCCCCAGGGAAGGGGCTGGAG TGGATTGGAGAAATCAATCATAGTGGAAACACCTACTACAACCCGT CCCTCAAGAGTCGCGTCACCATATCAGTAGACACGTCCAAGAACCA GTTATCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGCGGACACGGCTGTG TATTACTGTGCGAGATTTGGGAGTAATGATGCTTTTGATATCTGGG GCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA

183	14E3 (VL), sequenza di nucleotidi	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCACTGTCTGCATCTGTAG GAGACAGAGTCACCATCACTTGTCGGGCGAGTCAGGGTATTAGCAG CTGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGAGAAAGCCCCTAAGTCC CTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGT TCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAG CCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGCCAACAGTATAAT AGTTACCCTCCGACGTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAA
184	14E3 (catena pesante di tipo selvatico a tutta lunghezza), sequenza di nucleotidi La sequenza codificante per la regione costante è sottolineata	CAGGTGCAGCTACAGCAGTGGGGCGCAGGACTGTTGAAGCCTTCGG AGACCCTGTCCCTCACCTGCGCTGTCTATGGTGGGTCCTTCAGTGG TTACTACTGGAGCTGGATCCGCCAGCCCCCAGGGAAGGGGCTGGAG TGGATTGGAGAAATCAATCATAGTGGAAACACCTACTACAACCCGT CCCTCAAGAGTCGCGTCACCATATCAGTAGACACGTCCAAGAACCA GTTATCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGCGGACACGGCTGTG TATTACTGTGCGAGATTTGGGAGTAATGATGCTTTTGATATCTGGG GCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCAGCCTCCACCAAGGGCCC ATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGC ACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGG TGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACAC CTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGC GTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCT GCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGT TGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCA GCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAA AACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATG CGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAAC TGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGC GGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCAC CGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAG GTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCA AAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCC ATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTG GTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCA ATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGA CTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAG AGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATG AGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCC GGGTAAA

185	14E3 (catena leggera di tipo selvatico a tutta lunghezza), sequenza di nucleotidi La sequenza codificante per la regione costante è sottolineata	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCACTGTCTGCATCTGTAG GAGACAGAGTCACCATCACTTGTCGGGCGAGTCAGGGTATTAGCAG CTGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGAGAAAGCCCCTAAGTCC CTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGT TCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAG CCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGCCAACAGTATAAT AGTTACCCTCCGACGTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAAC GAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGA GCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAAC TTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCC TCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAA GGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCA GACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGG GCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT
186	19H8 (VH), sequenza di nucleotidi	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGA GGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTAA CTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAG TGGATGGCAGTTATATGGTATGGTGGAAGTAATAAATTCTATGCAG ACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAA CTCGCTGTCTCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCT GTGTATTACTGTGCGAGAGGGGGGGCTATGGTTCGGGGAGTCTACT ACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCAC CGTCTCCTCA
187	19H8 (VL1), sequenza di nucleotidi	GCCATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAG GAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATTAGCAG TGCTTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCTCCTAAGTTC CTGATCTATGATGCCTCCAGTTTGGAAAGTGGGGTCCCATCAAGGT TCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAG CCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCAACAGTTTAAT AGTTACCCTCAGACGTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAA
188	19H8 (VL2), sequenza di nucleotidi	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAG CTACTTAGCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTC CTCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGT TCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAG CCTAGAGCCTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTCAGCAGCGTAGC AACTGGCCGCTCACTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAA

189	19H8 (catena pesante di tipo selvatico a tutta lunghezza), sequenza di nucleotidi La sequenza codificante per la regione costante è sottolineata	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGA GGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTAA CTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAG TGGATGGCAGTTATATGGTATGGTGGAAGTAATAAATTCTATGCAG ACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAA CTCGCTGTCTCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCT GTGTATTACTGTGCGAGAGGGGGGGCTATGGTTCGGGGAGTCTACT ACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTC CTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCGCCCTGC TCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCA AGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGC TCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCAGCTGTCCTACAGTCCTCA GGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAACT TCGGCACCCAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAA CACCAAGGTGGACAAGACAGTTGAGCGCAAATGTTGTGTCGAGTGC CCACCGTGCCCAGCACCACCTGTGGCAGGACCGTCAGTCTTCCTCT TCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGA GGTCACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCGAGGTC CAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGA CAAAGCCACGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTTCCGTGTGGTCAG CGTCCTCACCGTTGTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAA CCATCTCCAAAACCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACAC CCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTG ACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGT GGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACACCTCC CATGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACC GTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCG TGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTC CCTGTCTCCGGGTAAA

190	19H8, L1 (catena leggera di tipo selvatico a tutta lunghezza), sequenza di nucleotidi La sequenza codificante per la regione costante è sottolineata	GCCATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAG GAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATTAGCAG TGCTTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCTCCTAAGTTC CTGATCTATGATGCCTCCAGTTTGGAAAGTGGGGTCCCATCAAGGT TCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAG CCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCAACAGTTTAAT AGTTACCCTCAGACGTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAAC GAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGA GCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAAC TTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCC TCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAA GGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCA GACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGG GCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT
191	19H8, L2 (catena leggera di tipo selvatico a tutta lunghezza), sequenza di nucleotidi La sequenza codificante per la regione costante è sottolineata	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAG CTACTTAGCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTC CTCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGT TCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAG CCTAGAGCCTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTCAGCAGCGTAGC AACTGGCCGCTCACTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAAC GAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGA GCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAAC TTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCC TCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAA GGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCA GACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGG GCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT
192	VH 3-33 (28F3, 18E10, 19D3, 2G6, 8A6, 19H8)	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLE WVAVIWYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCAR
193	VH 3-10 (28F3, 8A6)	MVRG
194	VH 3-10 (9G7)	YYYG
195	VH 3-10 (19H8)	YYY

196	VH JH6 (28F3, 19H8)	YYYGMDVWGQGTTVTVSS
197	VH JH6 (18E10, 2G6, 8A6)	YYGMDVWGQGTTVTVSS
198	VH JH6 (19D3, 9G7)	YYYYYGMDVWGQGTTVTVSS
199	VH 6-19 (18E10)	IAVA
200	VH 3-16 (19D3)	DY
201	VH 4-34 (3C3, 14E3)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEINHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAV YYCAR
202	VH JH3 (3C3, 14E3)	DAFDIWGQGTMVTVSS
203	VH 3-15 (9G7)	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWVRQAPGKGLE WVGRIKSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTED TAVYYCTT
204	VL L18 (28F3, 8A6, 19H8VK1)	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKL LIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFN NY
205	VL JK2 (28F3, 18E10, 19D3, 3C3VK1, 8A6, 2G6)	YTFGQGTKLEIK
206	VL JK2 (3C3VK2)	TFGQGTKLEIK
207	VL L15 (18E10, 19D3, 3C3VK1, 2G6, 14E3)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPEKAPKS LIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYN SY
208	VL L20 (3C3VK2)	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQGVSSYLAWYQQKPGQAPRL LIYDASNRATGIPARFSGSGPGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRS NW

209	VL A27 (9G7VK1, 9G7VK2)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY GSS
210	VL JK1 (9G7VK1)	WTFGQGTKVEIK
211	VL JK1 (14E3, 19H8VK1)	TFGQGTKVEIK
212	VL JK5 (9G7VK2)	ITFGQGTRLEIK
213	VL L6 (19H8VK2)	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRL LIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRS NW
214	VL JK4 (19H8VK2)	LTFGGGTKVEIK
215	Epitopo di GITR	QRPTGGPGCGPGRLLLGTGTDARCCRVHTTRCCRDY PGE
216	Epitopo di GITR	QRPTGGPGCGPGRLLLGTGT
217	Epitopo di GITR (regione 1)	PTGGPGCGPGRLLLGTGT
218	Epitopo di GITR (regione 2)	CRDYPGEE
219	Raccordo peptidico	PVGVV
220	Catena pesante, C-terminale	LSPGK
221	G2, regione costante	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNT KVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSV LTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTL PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPM LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SPG

222	G2(C219S), regione costante	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNT KVDKTVERKSCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSV LTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTL PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPM LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SPG
223	G2.g1, regione costante modificata	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNT KVDKTVERKCCVECPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPG
224	G2.g1.1, regione costante modificata	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNT KVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SPG
225	G2(C219S).g1, regione costante modificata	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNT KVDKTVERKSCVECPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPG

226	G2(C219S).g1.1, regione costante modificata	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNT KVDKTVERKSCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SPG
15	28F3 (VH + G2) o 28F3-IgG2	SEQ ID NO:15
227	28F3 (VH + G2(C219S)) o 28F3-IgG2-C219S	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLE WVAVIWYEGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARGGSMVRGDYYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPC SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKSCVEC PPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEY KCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
228	28F3 (VH + G2.g1) o 28F3-IgG2-IgG1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLE WVAVIWYEGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARGGSMVRGDYYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPC SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVEC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

229	28F3 (VH + G2.g1.1) o 28F3-IgG2-IgG1.1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLE WVAVIWYEGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARGGSMVRGDYYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPC SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVEC PPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
230	28F3 (VH + G2(C219S).g1) o 28F3-IgG2-C219S-IgG1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLE WVAVIWYEGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARGGSMVRGDYYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPC SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYICNVDHKPSNTKVDKTVERKSCVEC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
231	28F3 (VH + G2(C219S).g1.1) o 28F3-IgG2-C219S-IgG1.1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLE WVAVIWYEGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARGGSMVRGDYYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPC SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKSCVEC PPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
28	19D3 (VH + G2) o 19D3-IgG2	SEQ ID NO:28

232	19D3 (VH + G2(C219S)) o 19D3-IgG2-C219S	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGFHWVRQAPGKGLE WVAVIWYAGSNKFYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARGGQLDYYYYYVMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCS RSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKSCVECP PCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQ FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYK CKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
233	19D3 (VH + G2.g1) o 19D3-IgG2-IgG1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGFHWVRQAPGKGLE WVAVIWYAGSNKFYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARGGQLDYYYYYVMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCS RSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
234	19D3 (VH + G2.g1.1) o 19D3-IgG2-IgG1.1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGFHWVRQAPGKGLE WVAVIWYAGSNKFYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARGGQLDYYYYYVMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCS RSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECP PCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

235	19D3 (VH + G2(C219S).g1) o 19D3-IgG2-C219S-IgG1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGFHWVRQAPGKGLE WVAVIWYAGSNKFYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARGGQLDYYYYYVMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCS RSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKSCVECP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
236	19D3 (VH + G2(C219S).g1.1) o 19D3-IgG2-C219S-IgG1.1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGFHWVRQAPGKGLE WVAVIWYAGSNKFYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARGGQLDYYYYYVMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCS RSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKSCVECP PCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
41	18E10 (VH + G2) o 18E10-IgG2	SEQ ID NO:41
237	18E10 (VH + G2(C219S)) o 18E10-IgG2-C219S	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLE WVAVIWYAGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARGGRIAVAFYYSMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCS RSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKSCVECP PCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQ FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYK CKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

238	18E10 (VH + G2.g1) o 18E10-IgG2-IgG1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLE WVAVIWYAGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARGGRIAVAFYYSMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCS RSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
239	18E10 (VH + G2.g1.1) o 18E10-IgG2-IgG1.1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLE WVAVIWYAGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARGGRIAVAFYYSMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCS RSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECP PCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
240	18E10 (VH + G2(C219S).g1) o 18E10-IgG2-C219S-IgG1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLE WVAVIWYAGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARGGRIAVAFYYSMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCS RSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKSCVECP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

241	18E10 (VH + G2(C219S).g1.1) o 18E10-IgG2-C219S-IgG1.1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLE WVAVIWYAGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARGGRIAVAFYYSMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCS RSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKSCVECP PCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
242	3C3 (VH + G2) o 3C3-IgG2	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWTWIRQPPGKGLE WIGKINHSGNTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAV YYCARLGAFDAFDIWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSES TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPP VAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNK GLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
243	3C3 (VH + G2(C219S)) o 3C3-IgG2-C219S	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWTWIRQPPGKGLE WIGKINHSGNTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAV YYCARLGAFDAFDIWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSES TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKSCVECPPCPAPP VAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNK GLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

244	3C3 (VH + G2.g1) o 3C3-IgG2-IgG1	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWTWIRQPPGKGLE WIGKINHSGNTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAV YYCARLGAFDAFDIWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSES TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
245	3C3 (VH + G2.g1.1) o 3C3-IgG2-IgG1.1	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWTWIRQPPGKGLE WIGKINHSGNTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAV YYCARLGAFDAFDIWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSES TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPP VAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
246	3C3 (VH + G2(C219S).g1) o 3C3-IgG2-C219S-IgG1	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWTWIRQPPGKGLE WIGKINHSGNTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAV YYCARLGAFDAFDIWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSES TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKSCVECPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

247	3C3 (VH + G2(C219S).g1.1) o 3C3-IgG2-C219S-IgG1.1	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWTWIRQPPGKGLE WIGKINHSGNTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAV YYCARLGAFDAFDIWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSES TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKSCVECPPCPAPP VAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
248	2G6 (VH + G2) o 2G6-IgG2	QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFILSDYGMHWVRQAPGKGLE WVTVIWYDGSNKFYVDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRVEDTA VYYCARGGRLATGHFYYVMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPC SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVEC PPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEY KCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
249	2G6 (VH + G2(C219S)) o 2G6-IgG2-C219S	QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFILSDYGMHWVRQAPGKGLE WVTVIWYDGSNKFYVDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRVEDTA VYYCARGGRLATGHFYYVMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPC SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKSCVEC PPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEY KCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

250	2G6 (VH + G2.g1) o 2G6-IgG2-IgG1	QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFILSDYGMHWVRQAPGKGLE WVTVIWYDGSNKFYVDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRVEDTA VYYCARGGRLATGHFYYVMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPC SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVEC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
251	2G6 (VH + G2.g1.1) o 2G6-IgG2-IgG1.1	QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFILSDYGMHWVRQAPGKGLE WVTVIWYDGSNKFYVDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRVEDTA VYYCARGGRLATGHFYYVMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPC SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVEC PPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
252	2G6 (VH + G2(C219S).g1) o 2G6-IgG2-C219S-IgG1	QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFILSDYGMHWVRQAPGKGLE WVTVIWYDGSNKFYVDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRVEDTA VYYCARGGRLATGHFYYVMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPC SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKSCVEC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

253	2G6 (VH + G2(C219S).g1.1) o 2G6-IgG2-C219S-IgG1.1	QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFILSDYGMHWVRQAPGKGLE WVTVIWYDGSNKFYVDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRVEDTA VYYCARGGRLATGHFYYVMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPC SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKSCVEC PPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
86	8A6 (VH + G2) o 8A6-IgG2	SEQ ID NO:86
254	8A6 (VH + G2(C219S)) o 8A6-IgG2-C219S	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCTASGFTFSSYGMQWVRQAPGKGLE WVAVIWYEGSNKYYADSVKGRFTISRENSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARGGLMVRGLFYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPC SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKSCVEC PPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEY KCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
255	8A6 (VH + G2.g1) o 8A6 - IgG2-IgG1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCTASGFTFSSYGMQWVRQAPGKGLE WVAVIWYEGSNKYYADSVKGRFTISRENSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARGGLMVRGLFYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPC SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVEC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

256	8A6 (VH + G2.g1.1) o 8A6 - IgG2-IgG1.1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCTASGFTFSSYGMQWVRQAPGKGLE WVAVIWYEGSNKYYADSVKGRFTISRENSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARGGLMVRGLFYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPC SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVEC PPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
257	8A6 (VH + G2(C219S).g1) o 8A6-IgG2-C219S-IgG1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCTASGFTFSSYGMQWVRQAPGKGLE WVAVIWYEGSNKYYADSVKGRFTISRENSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARGGLMVRGLFYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPC SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKSCVEC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
258	8A6 (VH + G2(C219S).g1.1) o 8A6-IgG2-C219S-IgG1.1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCTASGFTFSSYGMQWVRQAPGKGLE WVAVIWYEGSNKYYADSVKGRFTISRENSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARGGLMVRGLFYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPC SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKSCVEC PPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

259	9G7 (VH + G2) o 9G7-IgG2	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSTVWMSWVRQAPGKGLE WVGRIKSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLHTED TAVYYCTTGQLIPYSYYYGMDVWGQGTSVTVSSASTKGPSVFPLAP CSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVE CPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKE YKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
260	9G7 (VH + G2(C219S)) o 9G7-IgG2-C219S	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSTVWMSWVRQAPGKGLE WVGRIKSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLHTED TAVYYCTTGQLIPYSYYYGMDVWGQGTSVTVSSASTKGPSVFPLAP CSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKSCVE CPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKE YKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
261	9G7 (VH + G2.g1) o 9G7-IgG2-IgG1	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSTVWMSWVRQAPGKGLE WVGRIKSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLHTED TAVYYCTTGQLIPYSYYYGMDVWGQGTSVTVSSASTKGPSVFPLAP CSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVE CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

262	9G7 (VH + G2.g1.1) o 9G7-IgG2-IgG1.1	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSTVWMSWVRQAPGKGLE WVGRIKSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLHTED TAVYYCTTGQLIPYSYYYGMDVWGQGTSVTVSSASTKGPSVFPLAP CSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVE CPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
263	9G7 (VH + G2(C219S).g1) o 9G7-IgG2-C219S-IgG1	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSTVWMSWVRQAPGKGLE WVGRIKSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLHTED TAVYYCTTGQLIPYSYYYGMDVWGQGTSVTVSSASTKGPSVFPLAP CSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKSCVE CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
264	9G7 (VH + G2(C219S).g1.1) o 9G7-IgG2-C219S-IgG1.1	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSTVWMSWVRQAPGKGLE WVGRIKSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLHTED TAVYYCTTGQLIPYSYYYGMDVWGQGTSVTVSSASTKGPSVFPLAP CSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKSCVE CPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

265	14E3 (VH + G2) o 14E3-IgG2	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEINHSGNTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQLSLKLSSVTAADTAV YYCARFGSNDAFDIWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSES TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPP VAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNK GLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
266	14E3 (VH + G2(C219S)) o 14E3-IgG2-C219S	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEINHSGNTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQLSLKLSSVTAADTAV YYCARFGSNDAFDIWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSES TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKSCVECPPCPAPP VAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNK GLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
267	14E3 (VH + G2.g1) o 14E3- IgG2-IgG1	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEINHSGNTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQLSLKLSSVTAADTAV YYCARFGSNDAFDIWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSES TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

268	14E3 (VH + G2.g1.1) o 14E3-IgG2-IgG1.1	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEINHSGNTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQLSLKLSSVTAADTAV YYCARFGSNDAFDIWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSES TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPP VAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
269	14E3 (VH + G2(C219S).g1) o 14E3-IgG2-C219S-IgG1	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEINHSGNTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQLSLKLSSVTAADTAV YYCARFGSNDAFDIWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSES TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKSCVECPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
270	14E3 (VH + G2(C219S).g1.1) o 14E3-IgG2-C219S-IgG1.1	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEINHSGNTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQLSLKLSSVTAADTAV YYCARFGSNDAFDIWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSES TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKSCVECPPCPAPP VAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
131	19H8 (VH + G2) o 19H8-IgG2	SEQ ID NO:131

271	19H8 (VH + G2(C219S)) o 19H8-IgG2-C219S	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPGKGLE WMAVIWYGGSNKFYADSVKGRFTISRDNSKNSLSLQMNSLRAEDTA VYYCARGGAMVRGVYYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPC SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKSCVEC PPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEY KCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
272	19H8 (VH + G2.g1) o 19H8-IgG2-IgG1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPGKGLE WMAVIWYGGSNKFYADSVKGRFTISRDNSKNSLSLQMNSLRAEDTA VYYCARGGAMVRGVYYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPC SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVEC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
273	19H8 (VH + G2.g1.1) o 19H8-IgG2-IgG1.1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPGKGLE WMAVIWYGGSNKFYADSVKGRFTISRDNSKNSLSLQMNSLRAEDTA VYYCARGGAMVRGVYYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPC SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVEC PPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

274	19H8 (VH + G2(C219S).g1) o 19H8-IgG2-C219S-IgG1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPGKGLE WMAVIWYGGSNKFYADSVKGRFTISRDNSKNSLSLQMNSLRAEDTA VYYCARGGAMVRGVYYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPC SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKSCVEC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
275	19H8 (VH + G2(C219S).g1.1) o 19H8-IgG2-C219S-IgG1.1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPGKGLE WMAVIWYGGSNKFYADSVKGRFTISRDNSKNSLSLQMNSLRAEDTA VYYCARGGAMVRGVYYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPC SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKSCVEC PPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
276	Catena pesante, C-terminale	LSPG
277	-	
278	IgG1 umana di tipo selvatico, CH1	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKKV
279	IgG2 umana di tipo selvatico, CH1	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNT KVDKTV
280	IgG1 umana di tipo selvatico, CH2	PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAK
281	IgG1 umana, CH2 con A330S/P331S	PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP SSIEKTISKAK

282	IgG1 umana di tipo selvatico, CH3	GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG
283	IgG1-IgG2-IgG1f	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKKVERKCCVECPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPG
284	IgG1-IgG2CS-IgG1f	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKKVERKSCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SPG
285	IgG1-IgG2-IgG1.1f	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKKVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSRREMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SPG
286	IgG1-IgG2CS-IgG1.1f	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKKVERKSCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SPG

287	IgG1-IgG2-1gG1f2	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKKVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SPG
288	IgG1-IgG2(C219S)-IgG1f2	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKKVERKSCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SPG
289	IgG2-IgG1f2	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNT KVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SPG
290	IgG2(C219S)-IgG1f2	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNT KVDKTVERKSCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SPG
291	IgG2 umana WT, cerniera	ERKCCVECPPCPAPPVAG
292	IgG2 umana, cerniera con C219S	ERKSCVECPPCPAPPVAG

293	IgG2/IgG1, cerniera	ERKCCVECPPCPAPELLGG
294	IgG2 (C219S)/IgG1, cerniera	ERKSCVECPPCPAPELLGG
295	IgG1 umana di tipo selvatico, cerniera	EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG
296	IgG1.1, cerniera (L234A/L235E/G237A)	EPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGA
297	IgG2 umana di tipo selvatico, CH2	PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLP APIEKTISKTK
298	IgG2 umana di tipo selvatico, CH3	GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGK
299	IgG1, C_H1 C-terminale (la stessa di IgG3 (17-15-15-15), IgG3 (17-15-15), IgG3 (17-15), IgG3 (15-15-15), IgG3 (15) e IgG4)	VDKRV
300	IgG2, C_H1 C-terminale	VDKTV
301	IgG1, catena superiore	EPKSCDKTHT
302	IgG3 (17-15-15-15), catena superiore (la stessa di IgG3 (17-15-15) e IgG3 (17-15))	ELKTPLGDTTHT
303	IgG3 (15-15-15), catena superiore (la stessa di IgG3(15))	EPKS

304	IgG4, catena superiore	ESKYGPP
305	IgG1, catena intermedia	CPPCP
306	IgG2, catena intermedia	CCVECPPCP
307	IgG3 (17-15-15-15), catena intermedia	CPRCP $(EPKSCDTPPPCPRCP)_3$
308	IgG3 (17-15-15), catena intermedia	CPRCP $(EPKSCDTPPPCPRCP)_2$
309	IgG3 (17-15), catena intermedia	CPRCPEPKSCDTPPPCPRCP
310	IgG3 (15-15-15), catena intermedia	CDTPPPCPRCP$(EPKSCDTPPPCPRCP)_2$
311	IgG3 (15), catena intermedia	CDTPPPCPRCP
312	IgG4, catena intermedia	CPSCP
313	IgG1, catena inferiore (la stessa di IgG3 (17-15-15-15), IgG3 (17-15-15), IgG3 (17-15), IgG3 (15-15-15), IgG3 (15) e IgG4)	APELLGG
314	IgG2, catena inferiore	APPVAG
315	28F3, VH, sequenza segnale (la stessa di 18E10, 19D3, 19H8, 6G10)	MEFGLSWVFLVALLRGVQC
316	28F3, VH, sequenza segnale (sequenza di nucleotidi)	ATGGAGTTTGGGCTGAGCTGGGTTTTCCTCGTTGCTCTTTTAAGAG GTGTCCAGTGT

317	28F3, VL, sequenza segnale (la stessa di 18E10, 8A6, 19H8VL1, 6G10)	MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARC
318	28F3, VL, sequenza segnale (sequenza di nucleotidi)	ATGGACATGAGGGTCCCCGCTCAGCTCCTGGGGCTTCTGCTGCTCT GGCTCCCAGGTGCCAGAT
319	19D3, VL, sequenza segnale	MRVLAQLLGLLLLCFPGARC
320	19D3, VL, sequenza segnale (sequenza di nucleotidi)	ATGAGGGTCCTCGCTCAGCTCCTGGGGCTCCTGCTGCTCTGTTTCC CAGGTGCCAGATGT
321	3C3, VH, sequenza segnale (la stessa di 14E3)	MKHLWFFLLLVAAPRWVLS
322	3C3, VH, sequenza segnale (sequenza di nucleotidi)	ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTCCTGGTGGCAGCTCCCAGAT GGGTCCTGTCC
323	3C3, VL, sequenza segnale (la stessa di 14E3)	MDMRVLAQLLGLLLLCFPGARC
324	3C3, VL, sequenza segnale (sequenza di nucleotidi)	ATGGACATGAGGGTCCTCGCTCAGCTCCTGGGGCTCCTGCTGCTCT GTTTCCCAGGTGCCAGATGT
325	3C3, VL2, sequenza segnale (la stessa di 19H8 VL2)	MEAPAQLLFLLLLWLPDTTG
326	3C3, VL2, sequenza segnale (sequenza di nucleotidi)	ATGGAAGCCCCAGCGCAGCTTCTCTTCCTCCTGCTACTCTGGCTCC CAGATACCACCGGA
327	8A6, VH, sequenza segnale	MEFGLNWVFLVALLRGVQC
328	8A6, VH, sequenza segnale (sequenza di nucleotidi)	ATGGAGTTTGGGCTGAACTGGGTTTTCCTCGTTGCTCTTTTAAGAG GTGTCCAGTGT

329	9G7, VH, sequenza segnale	MEFGLSWIFLAAILKGVQC
330	9G7, VH, sequenza segnale (sequenza di nucleotidi)	ATGGAGTTTGGGCTGAGCTGGATTTTCCTTGCTGCTATTTTAAAAG GTGTCCAGTGT
331	9G7, VL1 e VL2, sequenza segnale	METPAQLLFLLLLWLPDTTG
332	9G7, VL1 e VL2, sequenza segnale (sequenza di nucleotidi)	ATGGAAACCCCAGCGCAGCTTCTCTTCCTCCTGCTACTCTGGCTCC CAGATACCACCGGA
333	14E3, VH, sequenza segnale	MKHLWFFLLLVAAPRWVLS
334	14E3, VH, sequenza segnale (sequenza di nucleotidi)	ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTCCTGGTGGCAGCTCCCAGAT GGGTCCTGTCC
335	6G10 (VH)	QVQLVESGGDVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTYGMHWVRQAPGKGLE WVAVTWYAGSNKFYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARGGSMVRGLYYYGMDVWGQGTTVTVSS
336	6G10 (VL)	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKL LIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFN SYPYTFGQGTKLEIK
337	6G10 (catena pesante di tipo selvatico a tutta lunghezza) La regione costante è sottolineata	QVQLVESGGDVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTYGMHWVRQAPGKGLE WVAVTWYAGSNKFYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARGGSMVRGLYYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPC SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVEC PPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEY KCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

338	6G10 (catena leggera di tipo selvatico a tutta lunghezza) La regione costante è sottolineata	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKL LIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFN SYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
339	6G10.IgG1 (VH + IgG1)	QVQLVESGGDVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTYGMHWVRQAPGKGLE WVAVTWYAGSNKFYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARGGSMVRGLYYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
340	6G10.IgG1.1 (VH + IgG1.1)	QVQLVESGGDVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTYGMHWVRQAPGKGLE WVAVTWYAGSNKFYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARGGSMVRGLYYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKT HTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
341	6G10.IgG1 (VL + CL)	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKL LIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFN SYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
342	6G10, VH, CDR1	TYGMH
343	6G10, VH, CDR2	VTWYAGSNKFYADSVKG
344	6G10, VH, CDR3	GGSMVRGLYYYGMDV

345	6G10, VL, CDR1	RASQGISSALA
346	6G10, VL, CDR2	DASSLES
347	6G10, VL, CDR3	QQFNSYPYT
337	6G10 (VH + G2) o 6G10-IgG2	SEQ ID NO:337
348	6G10 (VH + G2(C219S)) o 6G10-IgG2-C219S	QVQLVESGGDVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTYGMHWVRQAPGKGLE WVAVTWYAGSNKFYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARGGSMVRGLYYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPC SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKSCVEC PPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEY KCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
349	6G10 (VH + G2.g1) o 6G10-IgG2-IgG1	QVQLVESGGDVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTYGMHWVRQAPGKGLE WVAVTWYAGSNKFYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARGGSMVRGLYYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPC SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVEC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
350	6G10 (VH + G2.g1.1) o 6G10-IgG2-IgG1.1	QVQLVESGGDVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTYGMHWVRQAPGKGLE WVAVTWYAGSNKFYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARGGSMVRGLYYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPC SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVEC PPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

351	6G10 (VH + G2(C219S).g1) o 6G10-IgG2-C219S-IgG1	QVQLVESGGDVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTYGMHWVRQAPGKGLE WVAVTWYAGSNKFYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARGGSMVRGLYYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPC SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKSCVEC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
352	6G10 (VH + G2(C219S).g1.1) o 6G10-IgG2-C219S-IgG1.1	QVQLVESGGDVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTYGMHWVRQAPGKGLE WVAVTWYAGSNKFYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARGGSMVRGLYYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPC SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKSCVEC PPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
353	6G10 (VH), sequenza di nucleotidi	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGACGTGGTCCAGCCTGGGA GGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTAC CTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAG TGGGTGGCAGTTACATGGTATGCTGGAAGTAATAAATTTTATGCAG ACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAA CACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCT GTGTATTACTGTGCGAGAGGAGGTAGTATGGTTCGGGGACTTTATT ATTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTC CTCA
354	6G10 (VL), sequenza di nucleotidi	GCCATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAG GAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATTAGCAG TGCTTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCTCCTAAGCTC CTGATCTATGATGCCTCCAGTTTGGAAAGTGGGGTCCCATCAAGGT TCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAG CCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCAACAGTTTAAT AGTTACCCGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAA

355	6G10 (catena pesante di tipo selvatico a tutta lunghezza), sequenza di nucleotidi La sequenza codificante per la regione costante è sottolineata	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGACGTGGTCCAGCCTGGGA GGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTAC CTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAG TGGGTGGCAGTTACATGGTATGCTGGAAGTAATAAATTTTATGCAG ACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAA CACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCT GTGTATTACTGTGCGAGAGGAGGTAGTATGGTTCGGGGACTTTATT ATTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTC CTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCGCCCTGC TCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCA AGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGC TCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCAGCTGTCCTACAGTCCTCA GGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAACT TCGGCACCCAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAA CACCAAGGTGGACAAGACAGTTGAGCGCAAATGTTGTGTCGAGTGC CCACCGTGCCCAGCACCACCTGTGGCAGGACCGTCAGTCTTCCTCT TCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGA GGTCACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCGAGGTC CAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGA CAAAGCCACGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTTCCGTGTGGTCAG CGTCCTCACCGTTGTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAA CCATCTCCAAAACCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACAC CCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTG ACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGT GGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACACCTCC CATGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACC GTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCG TGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTC CCTGTCTCCGGGTAAA

356	6G10 (catena leggera di tipo selvatico a tutta lunghezza), sequenza di nucleotidi La sequenza codificante per la regione costante è sottolineata	GCCATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAG GAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATTAGCAG TGCTTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCTCCTAAGCTC CTGATCTATGATGCCTCCAGTTTGGAAAGTGGGGTCCCATCAAGGT TCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAG CCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCAACAGTTTAAT AGTTACCCGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAAC GAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGA GCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAAC TTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCC TCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAA GGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCA GACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGG GCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT
357	28F3 (VH) (SEQ ID NO:13) con peptide segnale. Il peptide segnale è sottolineato	MRAWIFFLLCLAGRALAQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTF SSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYEGSNKYYADSVKGRFTISRDNS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGSMVRGDYYYGMDVWGQGTTVT VSS
358	28F3 (VL) (SEQ ID NO:14) con peptide segnale. Il peptide segnale è sottolineato	MRAWIFFLLCLAGRALAAIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGI SSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQFNSYPYTFGQGTKLEIK
359	28F3 (VH) con sequenza di nucleotidi del peptide segnale SEQ ID NO:147 con sequenza codificante per il peptide segnale La sequenza codificante per il peptide segnale è sottolineata	atgagggcttggatcttctttctgctctgcctggccggggagagcgc tcgcaCAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCC TGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTC AGTAGCTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGC TGGAGTGGGTGGCAGTTATATGGTATGAAGGAAGTAATAAATATTA TGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCC AAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACA CGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGGGGGGAGTATGGTTCGGGGGA CTACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACC GTCTCCTCA

360	28F3 (VL) con sequenza di nucleotidi del peptide segnale SEQ ID NO:148 con sequenza codificante per il peptide segnale La sequenza codificante per il peptide segnale è sottolineata	atgagggcttggatcttctttctgctctgcctggccgggcgcgcct tggccGCCATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATC TGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATT AGCAGTGCTTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCTCCTA AGCTCCTGATCTATGATGCCTCCAGTTTGGAAAGTGGGGTCCCATC AAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATC AGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCAACAGT TTAATAGTTACCCGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGAT CAAA
361	28F3.IgG1 (VH + IgG1) (SEQ ID NO:17) con peptide segnale Il peptide segnale e la regione costante sono sottolineate	MRAWIFFLLCLAGRALAQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTF SSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYEGSNKYYADSVKGRFTISRDNS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGSMVRGDYYYGMDVWGQGTTVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPG
362	28F3.IgG1.1 (VH + IgG1.1) (SEQ ID NO:18) con peptide segnale Il peptide segnale e la regione costante sono sottolineate	MRAWIFFLLCLAGRALAQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTF SSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYEGSNKYYADSVKGRFTISRDNS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGSMVRGDYYYGMDVWGQGTTVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPG

363	28F3.IgG1 (VH + IgG1) con sequenza di nucleotidi del peptide segnale SEQ ID NO:151 con sequenza codificante per il peptide segnale La sequenza codificante per il peptide segnale è sottolineata	atgagggcttggatcttctttctgctctgcctggccgggagagc gctcgcacaggtgcagctggtggagtctgggggaggcgtggtcca gcctgggaggtccctgagactctcctgtgcagcgtctggattcacc ttcagtagctatggcatgcactgggtccgccaggctccaggcaagg ggctggagtgggtggcagttatatggtatgaaggaagtaataaata ttatgcagactccgtgaagggccgattcaccatctccagagacaat tccaagaacacgctgtatctgcaaatgaacagcctgagagccgagg acacggctgtgtattactgtgcgagaggggggagtatggttcgggg ggactactactacggtatggacgtctggggccaagggaccacggtc accgtctcctcagctagcaccaagggcccatcggtcttcccctgg caccctcctccaagagcacctctgggggcacagcggccctgggctg cctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacggtgtcgtggaac tcaggcgccctgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgtcctac agtcctcaggactctactccctcagcagcgtggtgaccgtgccctc cagcagcttgggcacccagacctacatctgcaacgtgaatcacaag cccagcaacaccaaggtggacaagagagttgagcccaaatcttgtg acaaaactcacacatgcccaccgtgcccagcacctgaactcctggg gggaccgtcagtcttcctcttcccccaaaacccaaggacaccctc atgatctcccggaccccctgaggtcacatgcgtggtggtggacgtga gccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgt ggaggtgcataatgccaagacaaagccgcgggaggagcagtacaac agcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggact ggctgaatggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaagccct cccagcccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccc cgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccgggaggagatga ccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaaggcttctatcc cagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaac aactacaagaccacgcctcccgtgctggactccgacggctccttct tcctctatagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggg gaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccac tacacgcagaagagcctctccctgtccccgggttga

364	28F3.IgG1.1 (VH + IgG1.1) con sequenza di nucleotidi del peptide segnale SEQ ID NO:152 con sequenza codificante per il peptide segnale La sequenza codificante per il peptide segnale è sottolineata	atgagggcttggatcttctttctgctctgcctggccgggagagc gctcgcacaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtatg aaggaagtaa taaatattat gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagaggggggg agtatggttc gggggggacta ctactacggt atggacgtct ggggccaagg gaccacggtc accgtctcct cagctagcac caagggccca tcggtcttcc ccctggcacc ctcctccaag agcacctctg ggggcacagc ggccctgggc tgcctggtca aggactactt ccccgaaccg gtgacggtgt cgtggaactc aggcgccctg accagcggcg tgcacacctt cccggctgtc ctacagtcct caggactcta ctccctcagc agcgtggtga ccgtgccctc cagcagcttg ggcacccaga cctacatctg caacgtgaat cacaagccca gcaacaccaa ggtggacaag agagttgagc ccaaatcttg tgacaaaact cacacatgcc caccgtgccc agcacctgaa gccgaagggg ccccgtcagt cttcctcttc cccccaaaac ccaaggacac cctcatgatc tcccggaccc ctgaggtcac atgcgtggtg gtggacgtga gccacgaaga ccctgaggtc aagttcaact ggtacgtgga cggcgtggag gtgcataatg ccaagacaaa gccgcgggag gagcagtaca acagcacgta ccgtgtggtc agcgtcctca ccgtcctgca ccaggactgg ctgaatggca aggagtacaa gtgcaaggtc tccaacaaag ccctcccaag cagcatcgag aaaaccatct ccaaagccaa agggcagccc cgagaaccac aggtgtacac cctgccccca tcccgggagg agatgaccaa gaaccaggtc agcctgacct gcctggtcaa aggcttctat cccagcgaca tcgccgtgga gtgggagagc aatgggcagc cggagaacaa ctacaagacc acgcctcccg tgctggactc cgacggctcc ttcttcctct atagcaagct caccgtggac aagagcaggt ggcagcaggg gaacgtcttc tcatgctccg tgatgcatga ggctctgcac aaccactaca cgcagaagag cctctccctg tccccgggtt ga

365	28F3.IgG1 (VL+CL) (SEQ ID NO:19) con peptide segnale Il peptide segnale e la regione costante sono sottolineate	MRAWIFFLLCLAGRALAAIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ GISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDF TLTISSLQPEDFATYYCQQFNSYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSV FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC
366	28F3.IgG1 (VL+CL) con sequenza di nucleotidi del peptide segnale SEQ ID NO:153 con sequenza segnale La sequenza codificante per il peptide segnale è sottolineata	atgagggcttggatcttctttctgctctgcctggccgggcgcgc cttggccgccatccagttgacccagtctccatcctccctgtctgc atctgtaggagacagagtcaccatcacttgccgggcaagtcagggc attagcagtgctttagcctggtatcagcagaaaccagggaaagctc ctaagctcctgatctatgatgcctccagtttggaaagtggggtccc atcaaggttcagcggcagtggatctgggacagatttcactctcacc atcagcagcctgcagcctgaagattttgcaacttattactgtcaac agtttaatagttacccgtacacttttggccaggggaccaagctgga gatcaaacgtacggtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgcca tctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgc tgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtggaaggtgga taacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcag gacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcaccctgacgctga gcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcac ccatcagggcctgagctcgcccgtcacaaagagcttcaacaggg gagagtgttag
367	Peptide segnale	MRAWIFFLLCLAGRALA
368	Sequenza di nucleotidi del peptide segnale	atgagggcttggatcttctttctgctctgcctggccgggagagcgc tcgca
369	Sequenza di nucleotidi del peptide segnale	atgagggcttggatcttctttctgctctgcctggccgggcgcgcct tggcc
370	Frammento di GITR umano	QRPTGGPGCGPGRLLLGTGTDARCCRVHTTR
371	9G7 L1 (catena leggera 1 di tipo selvatico a tutta lunghezza) La regione costante è sottolineata	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY GSSPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

372	VH degenerata, CDR1	SYGXH, in cui X è un amminoacido qualsiasi
373	VH degenerata, CDR2	VIWYX$_1$GSNKX$_2$YADSVKG, in cui X$_1$ e X$_2$ sono amminoacidi qualsiasi
374	VH degenerata, CDR2	VIWYX$_1$GSNKX$_2$YX$_3$DSVKG, in cui X$_1$, X$_2$ e X$_3$ sono amminoacidi qualsiasi
375	VH degenerata, CDR3	GGSX$_1$VRGDYYYGMDV, in cui X$_1$ è un amminoacido qualsiasi
376	VH degenerata, CDR3	GGSX$_1$VRGX$_2$YYYGMDV, in cui X$_1$ e X$_2$ sono amminoacidi qualsiasi
377	VH degenerata, CDR3	GG (6-7aa) MDVWYYX$_1$MDVW, in cui X$_1$ è un amminoacido qualsiasi, e i 6-7 amminoacidi sono amminoacidi qualsiasi
378	VL degenerata, CDR1	RASQGISSXLA, in cui X è un amminoacido qualsiasi
379	VL degenerata, CDR1	RASQG (2-3 aa) SX$_1$LA, in cui X1 è un amminoacido qualsiasi, e i 2-3 amminoacidi sono amminoacidi qualsiasi
380	VL degenerata, CDR2	DASSLXS, in cui X è un amminoacido qualsiasi
381	VL degenerata, CDR3	QQXNSYPYT, in cui X è un amminoacido qualsiasi
382	VL degenerata, CDR3	QQX$_1$X$_2$SX$_3$PX$_4$T, in cui X$_1$, X$_2$, X$_3$ e X$_4$ sono amminoacidi qualsiasi

La Tabella 11 fornisce le sequenze delle regioni variabili e delle catene pesanti e leggere mature e, laddove indicato, le sequenze con i peptidi segnale.

LISTATO DI SEQUENZE

<110> BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY

<120> ANTICORPI CONTRO IL RECETTORE PER IL FATTORE DI NECROSI TUMORALE INDOTTO DA GLUCOCORTICOIDI (GITR) E LORO USI

<130> MXI-535PC

<140> Nuova domanda

<141> Contestualmente alla presente

<150> US 62/008.945

<151> 06-06-2014

<150> US 62/082.980

<151> 21-11-2014

<160> 382

<170> PatentIn versione 3.5

<210> 1

<211> 241

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

```
Met Ala Gln His Gly Ala Met Gly Ala Phe Arg Ala Leu Cys Gly Leu
1               5                   10                  15

Ala Leu Leu Cys Ala Leu Ser Leu Gly Gln Arg Pro Thr Gly Gly Pro
            20                  25                  30

Gly Cys Gly Pro Gly Arg Leu Leu Leu Gly Thr Gly Thr Asp Ala Arg
        35                  40                  45

Cys Cys Arg Val His Thr Thr Arg Cys Cys Arg Asp Tyr Pro Gly Glu
    50                  55                  60

Glu Cys Cys Ser Glu Trp Asp Cys Met Cys Val Gln Pro Glu Phe His
65                  70                  75                  80

Cys Gly Asp Pro Cys Cys Thr Thr Cys Arg His His Pro Cys Pro Pro
                85                  90                  95

Gly Gln Gly Val Gln Ser Gln Gly Lys Phe Ser Phe Gly Phe Gln Cys
            100                 105                 110

Ile Asp Cys Ala Ser Gly Thr Phe Ser Gly Gly His Glu Gly His Cys
        115                 120                 125

Lys Pro Trp Thr Asp Cys Thr Gln Phe Gly Phe Leu Thr Val Phe Pro
    130                 135                 140
```

```
Gly Asn Lys Thr His Asn Ala Val Cys Val Pro Gly Ser Pro Pro Ala
145                 150                 155                 160

Glu Pro Leu Gly Trp Leu Thr Val Val Leu Leu Ala Val Ala Ala Cys
                165                 170                 175

Val Leu Leu Leu Thr Ser Ala Gln Leu Gly Leu His Ile Trp Gln Leu
            180                 185                 190

Arg Ser Gln Cys Met Trp Pro Arg Glu Thr Gln Leu Leu Leu Glu Val
        195                 200                 205

Pro Pro Ser Thr Glu Asp Ala Arg Ser Cys Gln Phe Pro Glu Glu Glu
    210                 215                 220

Arg Gly Glu Arg Ser Ala Glu Glu Lys Gly Arg Leu Gly Asp Leu Trp
225                 230                 235                 240

Val
```

<210> 2

<211> 255

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

```
Met Ala Gln His Gly Ala Met Gly Ala Phe Arg Ala Leu Cys Gly Leu
1               5                  10                  15

Ala Leu Leu Cys Ala Leu Ser Leu Gly Gln Arg Pro Thr Gly Gly Pro
            20                  25                  30

Gly Cys Gly Pro Gly Arg Leu Leu Leu Gly Thr Gly Thr Asp Ala Arg
        35                  40                  45

Cys Cys Arg Val His Thr Thr Arg Cys Cys Arg Asp Tyr Pro Gly Glu
    50                  55                  60

Glu Cys Cys Ser Glu Trp Asp Cys Met Cys Val Gln Pro Glu Phe His
65                  70                  75                  80

Cys Gly Asp Pro Cys Cys Thr Thr Cys Arg His His Pro Cys Pro Pro
                85                  90                  95

Gly Gln Gly Val Gln Ser Gln Gly Lys Phe Ser Phe Gly Phe Gln Cys
            100                 105                 110

Ile Asp Cys Ala Ser Gly Thr Phe Ser Gly Gly His Glu Gly His Cys
        115                 120                 125

Lys Pro Trp Thr Asp Cys Cys Trp Arg Cys Arg Arg Arg Pro Lys Thr
    130                 135                 140

Pro Glu Ala Ala Ser Ser Pro Arg Lys Ser Gly Ala Ser Asp Arg Gln
145                 150                 155                 160

Arg Arg Arg Gly Gly Trp Glu Thr Cys Gly Cys Glu Pro Gly Arg Pro
                165                 170                 175

Pro Gly Pro Pro Thr Ala Ala Ser Pro Ser Pro Gly Ala Pro Gln Ala
            180                 185                 190

Ala Gly Ala Leu Arg Ser Ala Leu Gly Arg Ala Leu Leu Pro Trp Gln
        195                 200                 205

Gln Lys Trp Val Gln Glu Gly Gly Ser Asp Gln Arg Pro Gly Pro Cys
    210                 215                 220

Ser Ser Ala Ala Ala Ala Gly Pro Cys Arg Arg Glu Arg Glu Thr Gln
225                 230                 235                 240

Ser Trp Pro Pro Ser Ser Leu Ala Gly Pro Asp Gly Val Gly Ser
                245                 250                 255
```

<210> 3

<211> 234

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

```
Met Ala Gln His Gly Ala Met Gly Ala Phe Arg Ala Leu Cys Gly Leu
1               5                  10                  15

Ala Leu Leu Cys Ala Leu Ser Leu Gly Gln Arg Pro Thr Gly Gly Pro
            20                  25                  30

Gly Cys Gly Pro Gly Arg Leu Leu Leu Gly Thr Gly Thr Asp Ala Arg
        35                  40                  45

Cys Cys Arg Val His Thr Thr Arg Cys Cys Arg Asp Tyr Pro Gly Glu
    50                  55                  60

Glu Cys Cys Ser Glu Trp Asp Cys Met Cys Val Gln Pro Glu Phe His
65                  70                  75                  80

Cys Gly Asp Pro Cys Cys Thr Thr Cys Arg His His Pro Cys Pro Pro
                85                  90                  95

Gly Gln Gly Val Gln Ser Gln Gly Lys Phe Ser Phe Gly Phe Gln Cys
            100                 105                 110

Ile Asp Cys Ala Ser Gly Thr Phe Ser Gly Gly His Glu Gly His Cys
        115                 120                 125

Lys Pro Trp Thr Asp Cys Thr Gln Phe Gly Phe Leu Thr Val Phe Pro
    130                 135                 140

Gly Asn Lys Thr His Asn Ala Val Cys Val Pro Gly Ser Pro Pro Ala
145                 150                 155                 160

Glu Pro Leu Gly Trp Leu Thr Val Val Leu Leu Ala Val Ala Ala Cys
                165                 170                 175

Val Leu Leu Leu Thr Ser Ala Gln Leu Gly Leu His Ile Trp Gln Leu
            180                 185                 190

Arg Lys Thr Gln Leu Leu Leu Glu Val Pro Pro Ser Thr Glu Asp Ala
        195                 200                 205

Arg Ser Cys Gln Phe Pro Glu Glu Glu Arg Gly Glu Arg Ser Ala Glu
    210                 215                 220

Glu Lys Gly Arg Leu Gly Asp Leu Trp Val
225                 230
```

<210> 4

<211> 137

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

```
Gln Arg Pro Thr Gly Gly Pro Gly Cys Gly Pro Gly Arg Leu Leu Leu
1               5                  10                  15

Gly Thr Gly Thr Asp Ala Arg Cys Cys Arg Val His Thr Thr Arg Cys
            20                  25                  30

Cys Arg Asp Tyr Pro Gly Glu Glu Cys Cys Ser Glu Trp Asp Cys Met
        35                  40                  45

Cys Val Gln Pro Glu Phe His Cys Gly Asp Pro Cys Cys Thr Thr Cys
    50                  55                  60
Arg His His Pro Cys Pro Pro Gly Gln Gly Val Gln Ser Gln Gly Lys
65                  70                  75                  80

Phe Ser Phe Gly Phe Gln Cys Ile Asp Cys Ala Ser Gly Thr Phe Ser
                85                  90                  95

Gly Gly His Glu Gly His Cys Lys Pro Trp Thr Asp Cys Thr Gln Phe
            100                 105                 110

Gly Phe Leu Thr Val Phe Pro Gly Asn Lys Thr His Asn Ala Val Cys
        115                 120                 125

Val Pro Gly Ser Pro Pro Ala Glu Pro
    130                 135
```

<210> 5

<211> 235

<212> PRT

<213> Macaca fascicularis

<400> 5

```
Met Cys Ala Ser Gly Thr Leu Cys Cys Leu Ala Leu Leu Cys Ala Ala
1               5                  10                  15

Ser Leu Gly Gln Arg Pro Thr Gly Gly Pro Gly Cys Gly Pro Gly Arg
            20                  25                  30

Leu Leu Leu Gly Thr Gly Lys Asp Ala Arg Cys Cys Arg Val His Pro
        35                  40                  45

Thr Arg Cys Cys Arg Asp Tyr Gln Gly Glu Glu Cys Cys Ser Glu Trp
    50                  55                  60

Asp Cys Val Cys Val Gln Pro Glu Phe His Cys Gly Asn Pro Cys Cys
65                  70                  75                  80

Thr Thr Cys Gln His His Pro Cys Pro Ser Gly Gln Gly Val Gln Pro
                85                  90                  95

Gln Gly Lys Phe Ser Phe Gly Phe Arg Cys Val Asp Cys Ala Leu Gly
            100                 105                 110

Thr Phe Ser Arg Gly His Asp Gly His Cys Lys Pro Trp Thr Asp Cys
        115                 120                 125

Thr Gln Phe Gly Phe Leu Thr Val Phe Pro Gly Asn Lys Thr His Asn
    130                 135                 140
```

```
Ala Val Cys Val Pro Gly Ser Pro Pro Ala Glu Pro Pro Gly Trp Leu
145                 150                 155                 160

Thr Ile Ile Leu Leu Ala Val Ala Ala Cys Val Leu Leu Leu Thr Ser
                165                 170                 175

Ala Gln Leu Gly Leu His Ile Trp Gln Leu Arg Ser Gln Pro Thr Gly
            180                 185                 190

Pro Arg Glu Thr Gln Leu Leu Leu Glu Val Pro Pro Ser Thr Glu Asp
        195                 200                 205

Ala Ser Ser Cys Gln Phe Pro Glu Glu Glu Arg Gly Glu Arg Leu Ala
    210                 215                 220

Glu Glu Lys Gly Arg Leu Gly Asp Leu Trp Val
225                 230                 235
```

<210> 6

<211> 199

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 6

```
Met Thr Leu His Pro Ser Pro Ile Thr Cys Glu Phe Leu Phe Ser Thr
1               5                  10                  15

Ala Leu Ile Ser Pro Lys Met Cys Leu Ser His Leu Glu Asn Met Pro
            20                  25                  30

Leu Ser His Ser Arg Thr Gln Gly Ala Gln Arg Ser Ser Trp Lys Leu
        35                  40                  45

Trp Leu Phe Cys Ser Ile Val Met Leu Leu Phe Leu Cys Ser Phe Ser
    50                  55                  60

Trp Leu Ile Phe Ile Phe Leu Gln Leu Glu Thr Ala Lys Glu Pro Cys
65                  70                  75                  80

Met Ala Lys Phe Gly Pro Leu Pro Ser Lys Trp Gln Met Ala Ser Ser
                85                  90                  95

Glu Pro Pro Cys Val Asn Lys Val Ser Asp Trp Lys Leu Glu Ile Leu
            100                 105                 110

Gln Asn Gly Leu Tyr Leu Ile Tyr Gly Gln Val Ala Pro Asn Ala Asn
        115                 120                 125

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

Met Ile Gln Thr Leu Thr Asn Lys Ser Lys Ile Gln Asn Val Gly Gly
145                 150                 155                 160

Thr Tyr Glu Leu His Val Gly Asp Thr Ile Asp Leu Ile Phe Asn Ser
                165                 170                 175

Glu His Gln Val Leu Lys Asn Asn Thr Tyr Trp Gly Ile Ile Leu Leu
            180                 185                 190

Ala Asn Pro Gln Phe Ile Ser
        195
```

<210> 7

<211> 329

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 7

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1               5                  10                  15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140
```

```
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
            180                 185                 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305                 310                 315                 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
                325
```

<210> 8

<211> 329

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 8

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1               5                   10                  15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30
```

```
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
            180                 185                 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225                 230                 235                 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
```

```
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305                 310                 315                 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
                325
```

<210> 9

<211> 329

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 9

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1               5                  10                  15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
```

```
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
            180                 185                 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305                 310                 315                 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
                325
```

<210> 10

<211> 329

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 10

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1               5                   10                  15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
```

```
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
            180                 185                 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300
```

```
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305                 310                 315                 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
                325
```

<210> 11

<211> 329

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 11

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1               5                  10                  15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
            180                 185                 190
```

```
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305                 310                 315                 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
                325
```

<210> 12

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 12

```
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1               5                  10                  15

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
            20                  25                  30

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
        35                  40                  45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
    50                  55                  60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65                  70                  75                  80
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
                85                  90                  95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
            100                 105
```

<210> 13

<211> 124

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 13

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ala Val Ile Trp Tyr Glu Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

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

Ala Arg Gly Gly Ser Met Val Arg Gly Asp Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
            100                 105                 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 14

<211> 107

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 14

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

```
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala
            20                  25                  30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
        35                  40                  45

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 15

<211> 450

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 15

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ala Val Ile Trp Tyr Glu Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

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

Ala Arg Gly Gly Ser Met Val Arg Gly Asp Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
            100                 105                 110
```

```
Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
        115                 120                 125

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
    130                 135                 140

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

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
                165                 170                 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
            180                 185                 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn
        195                 200                 205

Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg
    210                 215                 220

Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly
225                 230                 235                 240

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

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

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

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

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

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

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

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
        355                 360                 365
```

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

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

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

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

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

Gly Lys
    450
```

<210> 16

<211> 214

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 16

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala
            20                  25                  30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
        35                  40                  45

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80

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

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

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

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

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

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

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210
```

<210> 17

<211> 453

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 17

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ala Val Ile Trp Tyr Glu Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

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

Ala Arg Gly Gly Ser Met Val Arg Gly Asp Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
```

```
            100                 105                 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
        115                 120                 125

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
    130                 135                 140

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

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
                165                 170                 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
            180                 185                 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
        195                 200                 205

Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro
    210                 215                 220

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Leu Ser Pro Gly
    450
```

<210> 18

<211> 453

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 18

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ala Val Ile Trp Tyr Glu Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

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

Ala Arg Gly Gly Ser Met Val Arg Gly Asp Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
```

```
            100                 105                 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
        115                 120                 125

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
    130                 135                 140

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

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
                165                 170                 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
            180                 185                 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
        195                 200                 205

Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro
    210                 215                 220

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

Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
                245                 250                 255

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Leu Ser Pro Gly
    450
```

<210> 19

<211> 214

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 19

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala
            20                  25                  30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
        35                  40                  45

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80

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

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

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

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

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

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

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210
```

<210> 20

<211> 5

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 20

```
Ser Tyr Gly Met His
1               5
```

<210> 21

<211> 17

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 21

```
Val Ile Trp Tyr Glu Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1               5                   10                  15

Gly
```

<210> 22

<211> 15

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 22

```
Gly Gly Ser Met Val Arg Gly Asp Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1               5                   10                  15
```

<210> 23

<211> 11

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 23

```
Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala
1               5                   10
```

<210> 24

<211> 7

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 24

```
Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser
1               5
```

<210> 25

<211> 9

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 25

```
Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Tyr Thr
1               5
```

<210> 26

<211> 123

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 26

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Gly Phe His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ala Val Ile Trp Tyr Ala Gly Ser Asn Lys Phe Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

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

Ala Arg Gly Gly Gln Leu Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Val Met Asp Val
            100                 105                 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 27

<211> 107

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 27

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1               5                   10                  15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
            20                  25                  30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
        35                  40                  45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr
                85                  90                  95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 28

<211> 449

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 28

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Gly Phe His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ala Val Ile Trp Tyr Ala Gly Ser Asn Lys Phe Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

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

Ala Arg Gly Gly Gln Leu Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Val Met Asp Val
            100                 105                 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
        115                 120                 125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser
    130                 135                 140

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

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
                165                 170                 175
```

```
Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
            180                 185                 190

Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val
        195                 200                 205

Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys
    210                 215                 220

Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro
225                 230                 235                 240

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

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

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

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val
    290                 295                 300

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

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

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

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

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

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

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

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
            420                 425                 430
```

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

Lys

<210> 29

<211> 214

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 29

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1               5                   10                  15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
            20                  25                  30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
        35                  40                  45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80

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

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

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

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

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

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

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210
```

<210> 30

<211> 452

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 30

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Gly Phe His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ala Val Ile Trp Tyr Ala Gly Ser Asn Lys Phe Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

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

Ala Arg Gly Gly Gln Leu Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Val Met Asp Val
            100                 105                 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
        115                 120                 125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly
    130                 135                 140

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

```
Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
                165                 170                 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
            180                 185                 190

Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val
        195                 200                 205

Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys
    210                 215                 220

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
                405                 410                 415
```

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

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

Leu Ser Pro Gly
    450
```

<210> 31

<211> 452

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 31

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Gly Phe His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ala Val Ile Trp Tyr Ala Gly Ser Asn Lys Phe Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

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

Ala Arg Gly Gly Gln Leu Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Val Met Asp Val
            100                 105                 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
        115                 120                 125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly
    130                 135                 140

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

```
Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
                165                 170                 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
            180                 185                 190

Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val
        195                 200                 205

Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys
    210                 215                 220

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
                405                 410                 415
```

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

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

Leu Ser Pro Gly
    450
```

<210> 32

<211> 214

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 32

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1               5                  10                  15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
            20                  25                  30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
        35                  40                  45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80

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

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

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

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

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

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

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210
```

<210> 33

<211> 5

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 33

```
Ser Tyr Gly Phe His
1               5
```

<210> 34

<211> 17

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 34

Val Ile Trp Tyr Ala Gly Ser Asn Lys Phe Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 35

<211> 14

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 35

Gly Gly Gln Leu Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Val Met Asp Val
1 5 10

<210> 36

<211> 11

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 36

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala
1 5 10

<210> 37

<211> 7

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 37

```
Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1               5
```

<210> 38

<211> 9

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 38

```
Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr Thr
1               5
```

<210> 39

<211> 123

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 39

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45
```

```
Ala Val Ile Trp Tyr Ala Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

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

Ala Arg Gly Gly Arg Ile Ala Val Ala Phe Tyr Tyr Ser Met Asp Val
            100                 105                 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 40

<211> 107

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 40

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1               5                  10                  15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
            20                  25                  30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
        35                  40                  45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 41

<211> 449

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 41

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ala Val Ile Trp Tyr Ala Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

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

Ala Arg Gly Gly Arg Ile Ala Val Ala Phe Tyr Tyr Ser Met Asp Val
            100                 105                 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
        115                 120                 125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser
    130                 135                 140

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

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
                165                 170                 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
            180                 185                 190

Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val
        195                 200                 205

Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys
    210                 215                 220

Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro
225                 230                 235                 240
```

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

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

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

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val
    290                 295                 300

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

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

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

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

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

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

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

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
            420                 425                 430

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

Lys
```

<210> 42

<211> 214

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 42

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1               5                  10                  15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
            20                  25                  30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
        35                  40                  45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80

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

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

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

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

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

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

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210
```

<210> 43

<211> 452

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 43

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ala Val Ile Trp Tyr Ala Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

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

Ala Arg Gly Gly Arg Ile Ala Val Ala Phe Tyr Tyr Ser Met Asp Val
            100                 105                 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
        115                 120                 125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly
    130                 135                 140

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

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
                165                 170                 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
            180                 185                 190

Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val
        195                 200                 205

Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys
    210                 215                 220
```

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Leu Ser Pro Gly
    450
```

<210> 44

<211> 452

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 44

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ala Val Ile Trp Tyr Ala Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

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

Ala Arg Gly Gly Arg Ile Ala Val Ala Phe Tyr Tyr Ser Met Asp Val
            100                 105                 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
        115                 120                 125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly
    130                 135                 140

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

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
                165                 170                 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
            180                 185                 190

Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val
        195                 200                 205

Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys
    210                 215                 220
```

```
Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala
225                 230                 235                 240

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Leu Ser Pro Gly
    450
```

<210> 45

<211> 214

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 45

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1               5                  10                  15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
            20                  25                  30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
        35                  40                  45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80

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

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

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

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

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

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

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210
```

<210> 46

<211> 5

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 46

```
Ser Tyr Gly Met His
1               5
```

<210> 47

<211> 17

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 47

```
Val Ile Trp Tyr Ala Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1               5                   10                  15

Gly
```

<210> 48

<211> 14

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 48

Gly Gly Arg Ile Ala Val Ala Phe Tyr Tyr Ser Met Asp Val
1 5 10

<210> 49

<211> 11

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 49

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala
1 5 10

<210> 50

<211> 7

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 50

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

<210> 51

<211> 9

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 51

```
Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr Thr
1               5
```

<210> 52

<211> 117

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 52

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
            20                  25                  30

Tyr Trp Thr Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45

Gly Lys Ile Asn His Ser Gly Asn Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
    50                  55                  60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65                  70                  75                  80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95

Arg Leu Gly Ala Phe Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
            100                 105                 110
```

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 53

<211> 107

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 53

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1               5                   10                  15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
            20                  25                  30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
        35                  40                  45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 54

<211> 106

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 54

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Gly Val Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
        35                  40                  45
Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Pro Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65                  70                  75                  80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp His Thr
                85                  90                  95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 55

<211> 447

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 55

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
            20                  25                  30

Tyr Trp Thr Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45

Gly Lys Ile Asn His Ser Gly Asn Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
    50                  55                  60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65                  70                  75                  80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95

Arg Leu Gly Ala Phe Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
            100                 105                 110

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

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
    130                 135                 140
```

```
Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145                 150                 155                 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
                165                 170                 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
            180                 185                 190

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

Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
    210                 215                 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
225                 230                 235                 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
                245                 250                 255

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

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

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

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305                 310                 315                 320

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

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

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

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
    370                 375                 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385                 390                 395                 400
```

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

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
            420                 425                 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
        435                 440                 445
```

<210> 56

<211> 214

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 56

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1               5                  10                  15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
            20                  25                  30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
        35                  40                  45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80

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

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

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

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

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

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

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210
```

<210> 57

<211> 213

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 57

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Gly Val Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
        35                  40                  45

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

Ser Gly Pro Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65                  70                  75                  80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp His Thr
                85                  90                  95

Phe Gly Gln 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> 58

<211> 446

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 58

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
            20                  25                  30

Tyr Trp Thr Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45

Gly Lys Ile Asn His Ser Gly Asn Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
    50                  55                  60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65                  70                  75                  80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95

Arg Leu Gly Ala Phe Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
            100                 105                 110

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

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
```

```
    130                 135                 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145                 150                 155                 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
                165                 170                 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
            180                 185                 190

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

Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
    210                 215                 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
225                 230                 235                 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
                245                 250                 255

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

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

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

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305                 310                 315                 320

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

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

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
        355                 360                 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
    370                 375                 380
```

```
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385                 390                 395                 400

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

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
            420                 425                 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
        435                 440                 445
```

<210> 59

<211> 446

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 59

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
            20                  25                  30

Tyr Trp Thr Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45

Gly Lys Ile Asn His Ser Gly Asn Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
    50                  55                  60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65                  70                  75                  80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95

Arg Leu Gly Ala Phe Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
            100                 105                 110

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

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
    130                 135                 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
```

```
145                 150                 155                 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
                165                 170                 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
            180                 185                 190

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

Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
    210                 215                 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val
225                 230                 235                 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
                245                 250                 255

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

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

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

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305                 310                 315                 320

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

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

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
        355                 360                 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
    370                 375                 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385                 390                 395                 400
```

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

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
            420                 425                 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
        435                 440                 445
```

<210> 60

<211> 214

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 60

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1               5                   10                  15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
            20                  25                  30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
        35                  40                  45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80

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

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

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

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

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

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
```

```
                165                 170                 175

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210
```

<210> 61

<211> 213

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 61

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Gly Val Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
        35                  40                  45

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

Ser Gly Pro Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65                  70                  75                  80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp His Thr
                85                  90                  95

Phe Gly Gln 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> 62

<211> 5

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 62

```
Gly Tyr Tyr Trp Thr
1               5
```

<210> 63

<211> 16

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 63

```
Lys Ile Asn His Ser Gly Asn Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1               5                   10                  15
```

<210> 64

<211> 9

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 64

Leu Gly Ala Phe Asp Ala Phe Asp Ile
1 5

<210> 65

<211> 11

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 65

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala
1 5 10

<210> 66

<211> 7

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 66

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

<210> 67

<211> 9

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 67

Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 68

<211> 11

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 68

Arg Ala Ser Gln Gly Val Ser Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 69

<211> 7

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 69

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr
1 5

<210> 70

<211> 8

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 70

Gln Gln Arg Ser Asn Trp His Thr
1 5

<210> 71

<211> 124

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 71

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Leu Ser Asp Tyr
            20                  25                  30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Thr Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Phe Tyr Val Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

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

Ala Arg Gly Gly Arg Leu Ala Thr Gly His Phe Tyr Tyr Val Met Asp
            100                 105                 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 72

<211> 107

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 72

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1               5                  10                  15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
            20                  25                  30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
        35                  40                  45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 73

<211> 450

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 73

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Leu Ser Asp Tyr
            20                  25                  30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Thr Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Phe Tyr Val Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80
```

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

Ala Arg Gly Gly Arg Leu Ala Thr Gly His Phe Tyr Tyr Val Met Asp
            100                 105                 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
        115                 120                 125

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
    130                 135                 140

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

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
                165                 170                 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
            180                 185                 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn
        195                 200                 205

Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg
    210                 215                 220

Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly
225                 230                 235                 240

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

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

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

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

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

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

```
                325                 330                 335

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

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

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

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

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

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

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

Gly Lys
    450
```

<210> 74

<211> 214

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 74

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1               5                  10                  15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
            20                  25                  30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
        35                  40                  45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80

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

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

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

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

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

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

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210
```

<210> 75

<211> 453

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 75

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Leu Ser Asp Tyr
            20                  25                  30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Thr Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Phe Tyr Val Asp Ser Val
    50                  55                  60
```

```
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

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

Ala Arg Gly Gly Arg Leu Ala Thr Gly His Phe Tyr Tyr Val Met Asp
            100                 105                 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
        115                 120                 125

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
    130                 135                 140

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

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
                165                 170                 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
            180                 185                 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
        195                 200                 205

Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro
    210                 215                 220

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

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

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

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

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

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
305                 310                 315                 320
```

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Leu Ser Pro Gly
    450
```

<210> 76

<211> 453

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 76

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Leu Ser Asp Tyr
            20                  25                  30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Thr Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Phe Tyr Val Asp Ser Val
    50                  55                  60
```

```
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

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

Ala Arg Gly Gly Arg Leu Ala Thr Gly His Phe Tyr Tyr Val Met Asp
            100                 105                 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
        115                 120                 125

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
    130                 135                 140

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

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
                165                 170                 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
            180                 185                 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
        195                 200                 205

Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro
    210                 215                 220

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

Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
                245                 250                 255

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

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

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

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
305                 310                 315                 320
```

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Leu Ser Pro Gly
    450
```

<210> 77

<211> 214

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 77

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1               5                  10                  15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
            20                  25                  30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
        35                  40                  45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80

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

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

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

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

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

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

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210
```

<210> 78

<211> 5

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 78

```
Asp Tyr Gly Met His
1               5
```

<210> 79

<211> 17

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 79

```
Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Phe Tyr Val Asp Ser Val Lys
1               5                   10                  15

Gly
```

<210> 80

<211> 15

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 80

Gly Gly Arg Leu Ala Thr Gly His Phe Tyr Tyr Val Met Asp Val
1 5 10 15

<210> 81

<211> 11

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 81

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala
1 5 10

<210> 82

<211> 7

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 82

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

<210> 83

<211> 9

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 83

Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 84

<211> 124

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 84

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Gly Met Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ala Val Ile Trp Tyr Glu Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

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

Ala Arg Gly Gly Leu Met Val Arg Gly Leu Phe Tyr Tyr Gly Met Asp
            100                 105                 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 85

<211> 107

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 85

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala
            20                  25                  30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Phe Leu Ile
        35                  40                  45

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 86

<211> 450

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 86

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Gly Met Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ala Val Ile Trp Tyr Glu Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

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

Ala Arg Gly Gly Leu Met Val Arg Gly Leu Phe Tyr Tyr Gly Met Asp
            100                 105                 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
        115                 120                 125

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
```

```
    130                 135                 140

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

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
                165                 170                 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
            180                 185                 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn
        195                 200                 205

Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg
    210                 215                 220

Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly
225                 230                 235                 240

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Gly Lys
    450
```

<210> 87

<211> 214

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 87

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala
            20                  25                  30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Phe Leu Ile
        35                  40                  45

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80

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

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

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

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
```

```
    130                 135                 140

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

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

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210
```

<210> 88

<211> 453

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 88

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Gly Met Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ala Val Ile Trp Tyr Glu Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

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

Ala Arg Gly Gly Leu Met Val Arg Gly Leu Phe Tyr Tyr Gly Met Asp
            100                 105                 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
        115                 120                 125
```

```
Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
    130                 135                 140

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

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
                165                 170                 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
            180                 185                 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
        195                 200                 205

Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro
    210                 215                 220

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
```

370 375 380

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

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

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

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

Ser Leu Ser Pro Gly
450

<210> 89

<211> 453

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 89

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Gly Met Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ala Val Ile Trp Tyr Glu Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

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

Ala Arg Gly Gly Leu Met Val Arg Gly Leu Phe Tyr Tyr Gly Met Asp
            100                 105                 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
        115                 120                 125
```

```
Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
    130                 135                 140

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

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
                165                 170                 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
            180                 185                 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
        195                 200                 205

Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro
    210                 215                 220

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

Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
                245                 250                 255

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

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

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

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

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

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

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

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
```

```
    370                 375                 380

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

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

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

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

Ser Leu Ser Pro Gly
    450
```

<210> 90

<211> 214

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 90

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala
            20                  25                  30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Phe Leu Ile
        35                  40                  45

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80

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

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

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

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

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

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

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210
```

<210> 91

<211> 5

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 91

```
Ser Tyr Gly Met Gln
1               5
```

<210> 92

<211> 17

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 92

```
Val Ile Trp Tyr Glu Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1               5                   10                  15

Gly
```

<210> 93

<211> 15

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 93

```
Gly Gly Leu Met Val Arg Gly Leu Phe Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1               5                   10                  15
```

<210> 94

<211> 11

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 94

```
Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala
1               5                   10
```

<210> 95

<211> 7

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 95

```
Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser
1               5
```

<210> 96

<211> 9

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 96

```
Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Tyr Thr
1               5
```

<210> 97

<211> 125

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 97

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

```
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Val
            20                  25                  30

Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Gly Arg Ile Lys Ser Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala
    50                  55                  60

Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65                  70                  75                  80

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

Tyr Cys Thr Thr Gly Gln Leu Ile Pro Tyr Ser Tyr Tyr Tyr Gly Met
            100                 105                 110

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
        115                 120                 125
```

<210> 98

<211> 108

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 98

```
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1               5                   10                  15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
            20                  25                  30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
        35                  40                  45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
    50                  55                  60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65                  70                  75                  80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
                85                  90                  95

Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 99

<211> 108

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 99

```
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1               5                  10                  15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser
            20                  25                  30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
        35                  40                  45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser
    50                  55                  60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65                  70                  75                  80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
                85                  90                  95

Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 100

<211> 452

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 100

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Val
            20                  25                  30

Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45
```

```
Gly Arg Ile Lys Ser Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala
    50                  55                  60

Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65                  70                  75                  80

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

Tyr Cys Thr Thr Gly Gln Leu Ile Pro Tyr Ser Tyr Tyr Tyr Gly Met
            100                 105                 110

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
        115                 120                 125

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser
    130                 135                 140

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

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
                165                 170                 175

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
            180                 185                 190

Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys
        195                 200                 205

Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu
    210                 215                 220

Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu
225                 230                 235                 240

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

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

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

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr
```

```
     290                 295                 300

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

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

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

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

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

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

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr
                405                 410                 415

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

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

Ser Leu Gly Lys
    450
```

<210> 101

<211> 215

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 101

```
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1               5                  10                  15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser
            20                  25                  30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
        35                  40                  45
```

```
Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser
    50                  55                  60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65                  70                  75                  80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
                85                  90                  95

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

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

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

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

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

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

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

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210                 215
```

<210> 102

<211> 454

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 102

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Val
            20                  25                  30
```

```
Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Gly Arg Ile Lys Ser Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala
    50                  55                  60

Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65                  70                  75                  80

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

Tyr Cys Thr Thr Gly Gln Leu Ile Pro Tyr Ser Tyr Tyr Tyr Gly Met
            100                 105                 110

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
        115                 120                 125

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
    130                 135                 140

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

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
                165                 170                 175

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
            180                 185                 190

Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
        195                 200                 205

Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu
    210                 215                 220

Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
225                 230                 235                 240

Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
                245                 250                 255

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

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
        275                 280                 285
```

```
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
    290                 295                 300

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

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
                325                 330                 335

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

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

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
    370                 375                 380

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
385                 390                 395                 400

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

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
            420                 425                 430

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

Leu Ser Leu Ser Pro Gly
    450
```

<210> 103

<211> 454

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 103

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Val
            20                  25                  30
```

```
Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Gly Arg Ile Lys Ser Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala
    50                  55                  60

Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65                  70                  75                  80

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

Tyr Cys Thr Thr Gly Gln Leu Ile Pro Tyr Ser Tyr Tyr Tyr Gly Met
            100                 105                 110

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
        115                 120                 125

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
    130                 135                 140

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

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
                165                 170                 175

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
            180                 185                 190

Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
        195                 200                 205

Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu
    210                 215                 220

Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
225                 230                 235                 240

Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
                245                 250                 255

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

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
        275                 280                 285
```

```
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
    290                 295                 300

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

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
                325                 330                 335

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

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

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
    370                 375                 380

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
385                 390                 395                 400

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

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
            420                 425                 430

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

Leu Ser Leu Ser Pro Gly
    450
```

<210> 104

<211> 215

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 104

```
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1               5                   10                  15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
            20                  25                  30
```

```
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
        35                  40                  45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
    50                  55                  60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65                  70                  75                  80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
                85                  90                  95

Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
            100                 105                 110

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

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

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

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

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

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

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210                 215
```

<210> 105

<211> 215

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 105

```
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1               5                   10                  15
```

```
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser
            20                  25                  30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
        35                  40                  45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser
    50                  55                  60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65                  70                  75                  80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
                85                  90                  95

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

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

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

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

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

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

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

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210                 215
```

<210> 106

<211> 5

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 106

Thr Val Trp Met Ser
1 5

<210> 107

<211> 19

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 107

Arg Ile Lys Ser Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala Pro
1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 108

<211> 14

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 108

Gly Gln Leu Ile Pro Tyr Ser Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10

<210> 109

<211> 12

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 109

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 110

<211> 7

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 110

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr
1 5

<210> 111

<211> 9

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 111

```
Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Trp Thr
1               5
```

<210> 112

<211> 12

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 112

```
Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser Tyr Leu Ala
1               5                   10
```

<210> 113

<211> 7

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 113

```
Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr
1               5
```

<210> 114

<211> 9

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 114

```
Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Ile Thr
1               5
```

<210> 115

<211> 117

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 115

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
            20                  25                  30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45

Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
    50                  55                  60

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

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95

Arg Phe Gly Ser Asn Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 116

<211> 107

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 116

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1               5                  10                  15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
            20                  25                  30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
        35                  40                  45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Pro
                85                  90                  95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 117

<211> 447

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 117

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
            20                  25                  30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45

Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
    50                  55                  60

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

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95

Arg Phe Gly Ser Asn Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
            100                 105                 110

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

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
    130                 135                 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145                 150                 155                 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
                165                 170                 175
```

```
Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
            180                 185                 190

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

Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
    210                 215                 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
225                 230                 235                 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
                245                 250                 255

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

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

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

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305                 310                 315                 320

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

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

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

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
    370                 375                 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385                 390                 395                 400

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

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
            420                 425                 430
```

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 118

<211> 214

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 118

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1               5                  10                  15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
            20                  25                  30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
        35                  40                  45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80

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

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

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

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

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

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

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210
```

<210> 119

<211> 446

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 119

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
            20                  25                  30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45

Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
    50                  55                  60

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

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95

Arg Phe Gly Ser Asn Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
            100                 105                 110

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

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
    130                 135                 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145                 150                 155                 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
                165                 170                 175
```

```
Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
            180                 185                 190

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

Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
    210                 215                 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
225                 230                 235                 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
                245                 250                 255

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

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

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

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305                 310                 315                 320

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

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

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
        355                 360                 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
    370                 375                 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385                 390                 395                 400

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

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
            420                 425                 430
```

```
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
        435                 440                 445
```

<210> 120

<211> 446

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 120

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
            20                  25                  30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45

Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
    50                  55                  60

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

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95

Arg Phe Gly Ser Asn Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
            100                 105                 110

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

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
    130                 135                 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145                 150                 155                 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
                165                 170                 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
            180                 185                 190
```

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

Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
    210                 215                 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val
225                 230                 235                 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
                245                 250                 255

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

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

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

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305                 310                 315                 320

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

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

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
        355                 360                 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
    370                 375                 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385                 390                 395                 400

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

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
            420                 425                 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
        435                 440                 445
```

<210> 121

<211> 214

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 121

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1               5                  10                  15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
            20                  25                  30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
        35                  40                  45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80

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

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

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

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

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

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

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 122

<211> 5

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 122

Gly Tyr Tyr Trp Ser
1 5

<210> 123

<211> 16

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 123

Glu Ile Asn His Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 124

<211> 9

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 124

Phe Gly Ser Asn Asp Ala Phe Asp Ile
1 5

<210> 125

<211> 11

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 125

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala
1 5 10

<210> 126

<211> 7

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 126

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

<210> 127

<211> 9

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 127

```
Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Pro Thr
1               5
```

<210> 128

<211> 124

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 128

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
            20                  25                  30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45

Ala Val Ile Trp Tyr Gly Gly Ser Asn Lys Phe Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Ser Leu Ser
65                  70                  75                  80

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

Ala Arg Gly Gly Ala Met Val Arg Gly Val Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
            100                 105                 110
```

```
Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 129

<211> 107

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 129

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala
            20                  25                  30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Phe Leu Ile
        35                  40                  45

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 130

<211> 107

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 130

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
        35                  40                  45
Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65                  70                  75                  80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu
                85                  90                  95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 131

<211> 450

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 131

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
            20                  25                  30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45

Ala Val Ile Trp Tyr Gly Gly Ser Asn Lys Phe Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Ser Leu Ser
65                  70                  75                  80

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

Ala Arg Gly Gly Ala Met Val Arg Gly Val Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
            100                 105                 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
        115                 120                 125

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
    130                 135                 140
```

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

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
                165                 170                 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
            180                 185                 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn
        195                 200                 205

Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg
    210                 215                 220

Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly
225                 230                 235                 240

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Gly Lys
    450
```

<210> 132

<211> 214

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 132

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala
            20                  25                  30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Phe Leu Ile
        35                  40                  45

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80

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

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

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

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

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

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

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210
```

<210> 133

<211> 214

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 133

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
        35                  40                  45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65                  70                  75                  80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu
                85                  90                  95

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

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

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
```

```
    130                 135                 140

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

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

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210
```

<210> 134

<211> 453

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 134

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
            20                  25                  30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45

Ala Val Ile Trp Tyr Gly Gly Ser Asn Lys Phe Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Ser Leu Ser
65                  70                  75                  80

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

Ala Arg Gly Gly Ala Met Val Arg Gly Val Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
            100                 105                 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
        115                 120                 125
```

```
Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
    130                 135                 140

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

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
                165                 170                 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
            180                 185                 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
        195                 200                 205

Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro
    210                 215                 220

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
```

```
    370                 375                 380

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

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

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

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

Ser Leu Ser Pro Gly
    450
```

<210> 135

<211> 453

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 135

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
            20                  25                  30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45

Ala Val Ile Trp Tyr Gly Gly Ser Asn Lys Phe Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Ser Leu Ser
65                  70                  75                  80

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

Ala Arg Gly Gly Ala Met Val Arg Gly Val Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
            100                 105                 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
        115                 120                 125
```

```
Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
    130                 135                 140

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

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
                165                 170                 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
            180                 185                 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
        195                 200                 205

Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro
    210                 215                 220

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

Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
                245                 250                 255

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

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

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

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

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

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

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

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
```

```
    370                 375                 380

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

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

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

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

Ser Leu Ser Pro Gly
    450
```

<210> 136

<211> 214

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 136

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala
            20                  25                  30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Phe Leu Ile
        35                  40                  45

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80

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

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

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

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

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

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

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210
```

<210> 137

<211> 214

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 137

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
        35                  40                  45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65                  70                  75                  80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu
                85                  90                  95

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

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

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

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

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

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210
```

<210> 138

<211> 5

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 138

```
Asn Tyr Gly Met His
1               5
```

<210> 139

<211> 17

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 139

```
Val Ile Trp Tyr Gly Gly Ser Asn Lys Phe Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1               5                   10                  15

Gly
```

<210> 140

<211> 15

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 140

```
Gly Gly Ala Met Val Arg Gly Val Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1               5                   10                  15
```

<210> 141

<211> 11

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 141

```
Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala
1               5                   10
```

<210> 142

<211> 7

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 142

Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser
1 5

<210> 143

<211> 9

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 143

Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Gln Thr
1 5

<210> 144

<211> 11

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 144

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 145

<211> 7

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 145

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr
1 5

<210> 146

<211> 9

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 146

Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu Thr
1 5

<210> 147

<211> 372

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 147

caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtatg aaggaagtaa taaatattat 180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagaggggg 300

agtatggttc ggggggacta ctactacggt atggacgtct ggggccaagg gaccacggtc 360

accgtctcct ca 372

<210> 148

<211> 321

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 148

gccatccagt tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca gggcattagc agtgctttag cctggtatca gcagaaacca 120

gggaaagctc ctaagctcct gatctatgat gcctccagtt tggaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttatta ctgtcaacag tttaatagtt acccgtacac ttttggccag 300

gggaccaagc tggagatcaa a 321

<210> 149

<211> 1350

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 149

caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtatg aaggaagtaa taaatattat 180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagaggggg 300

agtatggttc ggggggacta ctactacggt atggacgtct ggggccaagg gaccacggtc 360

accgtctcct cagcctccac caagggccca tcggtcttcc ccctggcgcc ctgctccagg 420

agcacctccg agagcacagc ggccctgggc tgcctggtca aggactactt ccccgaaccg 480

gtgacggtgt cgtggaactc aggcgctctg accagcggcg tgcacacctt cccagctgtc 540

ctacagtcct caggactcta ctccctcagc agcgtggtga ccgtgccctc cagcaacttc 600

ggcacccaga cctacacctg caacgtagat cacaagccca gcaacaccaa ggtggacaag 660

acagttgagc gcaaatgttg tgtcgagtgc ccaccgtgcc cagcaccacc tgtggcagga 720

ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggacccct 780

gaggtcacgt gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc ccgaggtcca gttcaactgg 840

tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cacgggagga gcagttcaac 900

agcacgttcc gtgtggtcag cgtcctcacc gttgtgcacc aggactggct gaacggcaag 960

gagtacaagt gcaaggtctc caacaaaggc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 1020

aaaaccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgggaggag 1080

atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctaccc cagcgacatc 1140

gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac acctcccatg 1200

ctggactccg acggctcctt cttcctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 1260

cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg 1320

cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa 1350

<210> 150

<211> 642

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 150

gccatccagt tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca gggcattagc agtgctttag cctggtatca gcagaaacca 120

gggaaagctc ctaagctcct gatctatgat gcctccagtt tggaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttatta ctgtcaacag tttaatagtt acccgtacac ttttggccag 300

gggaccaagc tggagatcaa acgaactgtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca 360

tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420

cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480

gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540

ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600

ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 642

<210> 151

<211> 1362

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 151

caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtatg aaggaagtaa taaatattat 180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagaggggggg 300

agtatggttc ggggggacta ctactacggt atggacgtct ggggccaagg gaccacggtc 360

accgtctcct cagctagcac caagggccca tcggtcttcc ccctggcacc ctcctccaag 420

agcacctctg ggggcacagc ggccctgggc tgcctggtca aggactactt ccccgaaccg 480

gtgacggtgt cgtggaactc aggcgccctg accagcggcg tgcacacctt cccggctgtc 540

ctacagtcct caggactcta ctccctcagc agcgtggtga ccgtgccctc cagcagcttg 600

ggcacccaga cctacatctg caacgtgaat cacaagccca gcaacaccaa ggtggacaag 660

agagttgagc ccaaatcttg tgacaaaact cacacatgcc caccgtgccc agcacctgaa 720

ctcctggggg gaccgtcagt cttcctcttc cccccaaaac ccaaggacac cctcatgatc 780

tcccggaccc ctgaggtcac atgcgtggtg gtggacgtga gccacgaaga ccctgaggtc 840

aagttcaact ggtacgtgga cggcgtggag gtgcataatg ccaagacaaa gccgcgggag 900

gagcagtaca acagcacgta ccgtgtggtc agcgtcctca ccgtcctgca ccaggactgg 960

ctgaatggca aggagtacaa gtgcaaggtc tccaacaaag ccctcccagc ccccatcgag 1020

aaaaccatct ccaaagccaa agggcagccc cgagaaccac aggtgtacac cctgcccccа 1080

tcccgggagg agatgaccaa gaaccaggtc agcctgacct gcctggtcaa aggcttctat 1140

cccagcgaca tcgccgtgga gtgggagagc aatgggcagc cggagaacaa ctacaagacc 1200

acgcctcccg tgctggactc cgacggctcc ttcttcctct atagcaagct caccgtggac 1260

aagagcaggt ggcagcaggg gaacgtcttc tcatgctccg tgatgcatga ggctctgcac 1320

aaccactaca cgcagaagag cctctccctg tccccgggtt ga 1362

<210> 152

<211> 1362

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 152

```
caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc      60
tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct     120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtatg aaggaagtaa taaatattat     180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat     240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagaggggggg     300
agtatggttc ggggggacta ctactacggt atggacgtct ggggccaagg gaccacggtc     360
accgtctcct cagctagcac caagggccca tcggtcttcc ccctggcacc ctcctccaag     420
agcacctctg ggggcacagc ggccctgggc tgcctggtca aggactactt ccccgaaccg     480
gtgacggtgt cgtggaactc aggcgccctg accagcggcg tgcacacctt cccggctgtc     540
ctacagtcct caggactcta ctccctcagc agcgtggtga ccgtgccctc cagcagcttg     600
ggcacccaga cctacatctg caacgtgaat cacaagccca gcaacaccaa ggtggacaag     660
agagttgagc ccaaatcttg tgacaaaact cacacatgcc caccgtgccc agcacctgaa     720
gccgaagggg ccccgtcagt cttcctcttc cccccaaaac ccaaggacac cctcatgatc     780
tcccggaccc ctgaggtcac atgcgtggtg gtggacgtga gccacgaaga ccctgaggtc     840
aagttcaact ggtacgtgga cggcgtggag gtgcataatg ccaagacaaa gccgcgggag     900
gagcagtaca acagcacgta ccgtgtggtc agcgtcctca ccgtcctgca ccaggactgg     960
ctgaatggca aggagtacaa gtgcaaggtc tccaacaaag ccctcccaag cagcatcgag    1020
aaaaccatct ccaaagccaa agggcagccc cgagaaccac aggtgtacac cctgccccca    1080
tcccgggagg agatgaccaa gaaccaggtc agcctgacct gcctggtcaa aggcttctat    1140
cccagcgaca tcgccgtgga gtgggagagc aatgggcagc cggagaacaa ctacaagacc    1200
acgcctcccg tgctggactc cgacggctcc ttcttcctct atagcaagct caccgtggac    1260
aagagcaggt ggcagcaggg gaacgtcttc tcatgctccg tgatgcatga ggctctgcac    1320
aaccactaca cgcagaagag cctctccctg tccccgggtt ga                       1362
```

<210> 153
<211> 645
<212> DNA
<213> Sequenza artificiale
<220>
<223> Sintetico
<400> 153

```
gccatccagt tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc      60
atcacttgcc gggcaagtca gggcattagc agtgctttag cctggtatca gcagaaacca     120
gggaaagctc ctaagctcct gatctatgat gcctccagtt tggaaagtgg ggtcccatca     180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct     240
gaagattttg caacttatta ctgtcaacag tttaatagtt acccgtacac ttttggccag     300
gggaccaagc tggagatcaa acgtacggtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca     360
tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat     420
cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag     480
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg     540
ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc     600
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gttag                     645
```

<210> 154
<211> 369
<212> DNA
<213> Sequenza artificiale
<220>
<223> Sintetico

<400> 154

caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccaac ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggct tccactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtatg ctggaagtaa taaattctat 180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctaag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagaggggga 300

cagttggact actactacta ttacgttatg gacgtctggg gccaagggac cacggtcacc 360

gtctcctca 369

<210> 155

<211> 321

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 155

gacatccaga tgacccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgtc gggcgagtca gggtattagc agctggttag cctggtatca gcagaaacca 120

gagaaagccc ctaagtccct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttatta ctgccaacag tataatagtt acccgtacac ttttggccag 300

gggaccaagc tggagatcaa a 321

<210> 156

<211> 1347

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 156

caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccaac ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggct tccactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtatg ctggaagtaa taaattctat 180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctaag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagaggggga 300

cagttggact actactacta ttacgttatg gacgtctggg gccaagggac cacggtcacc 360

gtctcctcag cctccaccaa gggcccatcg gtcttccccc tggcgccctg ctccaggagc 420

acctccgaga gcacagcggc cctgggctgc ctggtcaagg actacttccc cgaaccggtg 480

acggtgtcgt ggaactcagg cgctctgacc agcggcgtgc acaccttccc agctgtccta 540

cagtcctcag gactctactc cctcagcagc gtggtgaccg tgccctccag caacttcggc 600

acccagacct acacctgcaa cgtagatcac aagcccagca acaccaaggt ggacaagaca 660

gttgagcgca aatgttgtgt cgagtgccca ccgtgcccag caccacctgt ggcaggaccg 720

tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg gacccctgag 780

gtcacgtgcg tggtggtgga cgtgagccac gaagaccccg aggtccagtt caactggtac 840

gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccac gggaggagca gttcaacagc 900

acgttccgtg tggtcagcgt cctcaccgtt gtgcaccagg actggctgaa cggcaaggag 960

tacaagtgca aggtctccaa caaaggcctc ccagccccca tcgagaaaac catctccaaa 1020

accaaagggc agccccgaga accacaggtg tacaccctgc ccccatcccg ggaggagatg 1080

accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctaccccag cgacatcgcc 1140

gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacacc tcccatgctg 1200

gactccgacg gctccttctt cctctacagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag 1260

caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag 1320

aagagcctct ccctgtctcc gggtaaa 1347

<210> 157

<211> 642

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 157

gacatccaga tgacccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgtc gggcgagtca gggtattagc agctggttag cctggtatca gcagaaacca 120

gagaaagccc ctaagtccct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttatta ctgccaacag tataatagtt acccgtacac ttttggccag 300

gggaccaagc tggagatcaa acgaactgtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca 360

tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420

cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480

gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540

ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600

ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 642

<210> 158

<211> 369

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 158

caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtatg ctggaagtaa taaatactat 180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagaggggggg 300

cgtatagcag tggccttcta ctacagtatg gacgtctggg gccaagggac cacggtcacc 360

gtctcctca 369

<210> 159

<211> 321

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 159

gacatccaga tgacccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgtc gggcgagtca gggtattagc agctggttag cctggtatca gcagaaacca 120

gagaaagccc ctaagtccct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttatta ctgccaacag tataatagtt acccgtacac ttttggccag 300

gggaccaagc tggagatcaa a 321

<210> 160

<211> 1347

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 160

caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtatg ctggaagtaa taaatactat 180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagaggggg 300

cgtatagcag tggccttcta ctacagtatg gacgtctggg gccaagggac cacggtcacc 360

gtctcctcag cctccaccaa gggcccatcg gtcttccccc tggcgccctg ctccaggagc 420

acctccgaga gcacagcggc cctgggctgc ctggtcaagg actacttccc cgaaccggtg 480

acggtgtcgt ggaactcagg cgctctgacc agcggcgtgc acaccttccc agctgtccta 540

cagtcctcag gactctactc cctcagcagc gtggtgaccg tgccctccag caacttcggc 600

acccagacct acacctgcaa cgtagatcac aagcccagca acaccaaggt ggacaagaca 660

gttgagcgca aatgttgtgt cgagtgccca ccgtgcccag caccacctgt ggcaggaccg 720

tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg gacccctgag 780

gtcacgtgcg tggtggtgga cgtgagccac gaagaccccg aggtccagtt caactggtac 840

gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccac gggaggagca gttcaacagc 900

acgttccgtg tggtcagcgt cctcaccgtt gtgcaccagg actggctgaa cggcaaggag 960

tacaagtgca aggtctccaa caaaggcctc ccagccccca tcgagaaaac catctccaaa 1020

accaaagggc agccccgaga accacaggtg tacaccctgc ccccatcccg ggaggagatg 1080

accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctaccccag cgacatcgcc 1140

gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacacc tcccatgctg 1200

gactccgacg gctccttctt cctctacagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag 1260

caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag 1320

aagagcctct ccctgtctcc gggtaaa 1347

<210> 161

<211> 642

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 161

gacatccaga tgacccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgtc gggcgagtca gggtattagc agctggttag cctggtatca gcagaaacca 120

gagaaagccc ctaagtccct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttatta ctgccaacag tataatagtt acccgtacac ttttggccag 300

gggaccaagc tggagatcaa acgaactgtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca 360

tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420

cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480

gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540

ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600

ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 642

<210> 162

<211> 351

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 162

caggtgcaac tacagcagtg gggcgcagga ctgttgaagc cttcggagac cctgtccctc 60

acctgcgctg tctatggtgg gtccttcagt ggttactact ggacctggat ccgccagccc 120

ccagggaagg ggctggagtg gattgggaaa atcaatcata gtggaaacac caactacaac 180

ccgtccctca agagtcgagt caccatatca gtagacacgt ccaagaacca gttctccctg 240

aagctgagct ctgtgaccgc cgcggacacg gctgtgtatt actgtgcgag actgggggcc 300

tttgatgctt ttgatatctg gggccaaggg acaatggtca ccgtctcttc a 351

<210> 163

<211> 321

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 163

gacatccaga tgacccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgtc gggcgagtca gggtattagc agctggttag cctggtatca gcagaaacca 120

gagaaagccc ctaagtccct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttatta ctgccaacag tataatagtt acccgtacac ttttggccag 300

gggaccaagc tggagatcaa a 321

<210> 164

<211> 318

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 164

gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcctgca gggccagtca gggtgttagc agctacttag cctggtacca gcagaaacct 120

ggccaggctc ccaggctcct catctatgat gcatccaaca gggccactgg catcccagcc 180

aggttcagtg gcagtgggcc tgggacagac ttcactctca ccatcagcag cctagagcct 240

gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag cgtagcaact ggcacacttt tggccagggg 300

accaagctgg agatcaaa 318

<210> 165

<211> 1341

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 165

```
caggtgcaac tacagcagtg gggcgcagga ctgttgaagc cttcggagac cctgtccctc      60
acctgcgctg tctatggtgg gtccttcagt ggttactact ggacctggat ccgccagccc     120
ccagggaagg ggctggagtg gattgggaaa atcaatcata gtggaaacac caactacaac     180
ccgtccctca agagtcgagt caccatatca gtagacacgt ccaagaacca gttctccctg     240
aagctgagct ctgtgaccgc cgcggacacg gctgtgtatt actgtgcgag actgggggcc     300
tttgatgctt ttgatatctg gggccaaggg acaatggtca ccgtctcttc agcctccacc     360
aagggcccat cggtcttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg     420
gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca     480
ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac     540
tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc     600
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga gagttgagcc caaatcttgt     660
gacaaaactc acacatgccc accgtgccca gcacctgaac tcctgggggg accgtcagtc     720
ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca     780
tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac     840
ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac     900
cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag     960
tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa    1020
gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccgggatga gctgaccaag    1080
aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag    1140
tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc    1200
gacggctcct tcttcctcta cagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg    1260
aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc    1320
ctctccctgt ctccgggtaa a                                              1341
```

<210> 166

<211> 642

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 166

gacatccaga tgacccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgtc gggcgagtca gggtattagc agctggttag cctggtatca gcagaaacca 120

gagaaagccc ctaagtccct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttatta ctgccaacag tataatagtt acccgtacac ttttggccag 300

gggaccaagc tggagatcaa acgaactgtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca 360

tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420

cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480

gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540

ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600

ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 642

<210> 167

<211> 639

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 167

gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcctgca gggccagtca gggtgttagc agctacttag cctggtacca gcagaaacct 120

ggccaggctc ccaggctcct catctatgat gcatccaaca gggccactgg catcccagcc 180

aggttcagtg gcagtgggcc tgggacagac ttcactctca ccatcagcag cctagagcct 240

gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag cgtagcaact ggcacacttt tggccagggg 300

accaagctgg agatcaaacg aactgtggct gcaccatctg tcttcatctt cccgccatct 360

gatgagcagt tgaaatctgg aactgcctct gttgtgtgcc tgctgaataa cttctatccc 420

agagaggcca aagtacagtg gaaggtggat aacgccctcc aatcgggtaa ctcccaggag 480

agtgtcacag agcaggacag caaggacagc acctacagcc tcagcagcac cctgacgctg 540

agcaaagcag actacgagaa acacaaagtc tacgcctgcg aagtcaccca tcagggcctg 600

agctcgcccg tcacaaagag cttcaacagg ggagagtgt 639

<210> 168

<211> 372

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 168

caggttcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggggGtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cgtctggatt catcttgagt gactatggca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg gactggagtg ggtgacagtt atctggtatg atggaagtaa taaattctat 180

gtagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgttgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agtcgaggac acggctgtgt attactgtgc gagaggggga 300

cgtctagcaa caggtcactt ctactacgtt atggacgtct ggggccaagg gaccacggtc 360

accgtctcct ca 372

<210> 169

<211> 321

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 169

gacatccaga tgacccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgtc gggcgagtca gggtattagc agctggttag cctggtatca gcagaaacca 120

gagaaagccc ctaagtccct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttatta ctgccaacag tataatagtt acccgtacac ttttggccag 300

gggaccaagc tggagatcaa a 321

<210> 170

<211> 1350

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 170

caggttcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cgtctggatt catcttgagt gactatggca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg gactggagtg ggtgacagtt atctggtatg atggaagtaa taaattctat 180

gtagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgttgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agtcgaggac acggctgtgt attactgtgc gagaggggga 300

cgtctagcaa caggtcactt ctactacgtt atggacgtct ggggccaagg gaccacggtc 360

accgtctcct cagcctccac caagggccca tcggtcttcc ccctggcgcc ctgctccagg 420

agcacctccg agagcacagc ggccctgggc tgcctggtca aggactactt ccccgaaccg 480

gtgacggtgt cgtggaactc aggcgctctg accagcggcg tgcacacctt cccagctgtc 540

ctacagtcct caggactcta ctccctcagc agcgtggtga ccgtgccctc cagcaacttc 600

ggcacccaga cctacacctg caacgtagat cacaagccca gcaacaccaa ggtggacaag 660

acagttgagc gcaaatgttg tgtcgagtgc ccaccgtgcc cagcaccacc tgtggcagga 720

ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggacccct 780

gaggtcacgt gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc ccgaggtcca gttcaactgg 840

tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cacgggagga gcagttcaac 900

agcacgttcc gtgtggtcag cgtcctcacc gttgtgcacc aggactggct gaacggcaag 960

gagtacaagt gcaaggtctc caacaaaggc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 1020

aaaaccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgggaggag 1080

atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctaccc cagcgacatc 1140

gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac acctcccatg 1200

ctggactccg acggctcctt cttcctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 1260

cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg 1320

cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa 1350

<210> 171

<211> 642

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 171

gacatccaga tgacccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgtc gggcgagtca gggtattagc agctggttag cctggtatca gcagaaacca 120

gagaaagccc ctaagtccct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttatta ctgccaacag tataatagtt acccgtacac ttttggccag 300

gggaccaagc tggagatcaa acgaactgtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca 360

tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420

cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480

gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540

ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600

ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 642

<210> 172

<211> 372

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 172

caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtacag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgcagtgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtatg aaggaagtaa taaatactat 180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaaa attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagaggcggt 300

cttatggttc ggggtctctt ctactacggt atggacgtct ggggccaagg gaccacggtc 360

accgtctcct ca 372

<210> 173

<211> 321

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 173

gccatccagt tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca gggcattagc agtgctttag cctggtatca gcagaaacca 120

gggaaagctc ctaagttcct gatctatgat gcctccagtt tggaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttatta ctgtcaacag tttaatagtt acccgtacac ttttggccag 300

gggaccaagc tggagatcaa a 321

<210> 174

<211> 1350

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 174

caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtacag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgcagtgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtatg aaggaagtaa taaatactat 180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaaa attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagaggcggt 300

cttatggttc ggggtctctt ctactacggt atggacgtct ggggccaagg gaccacggtc 360

accgtctcct cagcctccac caagggccca tcggtcttcc ccctggcgcc ctgctccagg 420

agcacctccg agagcacagc ggccctgggc tgcctggtca aggactactt ccccgaaccg 480

gtgacggtgt cgtggaactc aggcgctctg accagcggcg tgcacacctt cccagctgtc 540

ctacagtcct caggactcta ctccctcagc agcgtggtga ccgtgccctc cagcaacttc 600

ggcacccaga cctacacctg caacgtagat cacaagccca gcaacaccaa ggtggacaag 660

acagttgagc gcaaatgttg tgtcgagtgc ccaccgtgcc cagcaccacc tgtggcagga 720

ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggaccccct 780

gaggtcacgt gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc ccgaggtcca gttcaactgg 840

tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cacgggagga gcagttcaac 900

agcacgttcc gtgtggtcag cgtcctcacc gttgtgcacc aggactggct gaacggcaag 960

gagtacaagt gcaaggtctc caacaaaggc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 1020

aaaaccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgccccatc ccgggaggag 1080

atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctaccc cagcgacatc 1140

gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac acctcccatg 1200

ctggactccg acggctcctt cttcctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 1260

cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg 1320

cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa 1350

<210> 175

<211> 642

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 175

gccatccagt tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca gggcattagc agtgctttag cctggtatca gcagaaacca 120

gggaaagctc ctaagttcct gatctatgat gcctccagtt tggaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttatta ctgtcaacag tttaatagtt acccgtacac ttttggccag 300

gggaccaagc tggagatcaa acgaactgtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca 360

tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420

cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480

gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540

ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600

ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 642

<210> 176

<211> 375

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 176

gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttagtaaagc ctgggggGTC ccttagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cactttcagt accgtctgga tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggttggccgt attaaaagca aaactgatgg tgggacaaca 180

gactacgctg cacccgtgaa aggcagattc accatctcaa gagatgattc aaaaaacacg 240

ctgtatctgc aaatgaacag cctgcacacc gaggacacag ccgtgtatta ctgtaccaca 300

gggcagctga tcccttactc ctactactac ggtatggacg tctggggcca agggacctcg 360

gtcaccgtct cctca 375

<210> 177

<211> 324

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 177

gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagtatggta gctcaccgtg gacgttcggc 300

caagggacca aggtggaaat caaa 324

<210> 178

<211> 324

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 178

gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcctgca gggccagtca gagtgttacc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gagaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagtatggta gctcaccgat cacgttcggc 300

caagggacac gactggagat taaa 324

<210> 179

<211> 1356

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 179

```
gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttagtaaagc ctgggggGTC ccttagactc      60
tcctgtgcag cctctggatt cactttcagt accgtctgga tgagctgggt ccgccaggct     120
ccagggaagg ggctggagtg ggttggccgt attaaaagca aaactgatgg tgggacaaca     180
gactacgctg cacccgtgaa aggcagattc accatctcaa gagatgattc aaaaaacacg     240
ctgtatctgc aaatgaacag cctgcacacc gaggacacag ccgtgtatta ctgtaccaca     300
gggcagctga tcccttactc ctactactac ggtatggacg tctggggcca agggacctcg     360
gtcaccgtct cctcagcttc caccaagggc ccatccgtct tccccctggc gccctgctcc     420
aggagcacct ccgagagcac agccgccctg ggctgcctgg tcaaggacta cttccccgaa     480
ccggtgacgg tgtcgtggaa ctcaggcgcc ctgaccagcg gcgtgcacac cttcccggct     540
gtcctacagt cctcaggact ctactccctc agcagcgtgg tgaccgtgcc ctccagcagc     600
ttgggcacga agacctacac ctgcaacgta gatcacaagc ccagcaacac caaggtggac     660
aagagagttg agtccaaata tggtccccca tgcccatcat gcccagcacc tgagttcctg     720
gggggaccat cagtcttcct gttcccccca aaacccaagg acactctcat gatctcccgg     780
acccctgagg tcacgtgcgt ggtggtggac gtgagccagg aagaccccga ggtccagttc     840
aactggtacg tggatggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag     900
ttcaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaac     960
ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac aaaggcctcc cgtcctccat cgagaaaacc    1020
atctccaaag ccaaagggca gccccgagag ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccag    1080
gaggagatga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctaccccagc    1140
gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct    1200
cccgtgctgg actccgacgg ctccttcttc ctctacagca ggctaaccgt ggacaagagc    1260
aggtggcagg aggggaatgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac    1320
tacacacaga agagcctctc cctgtctctg ggtaaa                              1356
```

<210> 180

<211> 645

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 180

gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcctgca gggccagtca gagtgttacc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gagaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagtatggta gctcaccgat cacgttcggc 300

caagggacac gactggagat taaacgaact gtggctgcac catctgtctt catcttcccg 360

ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc 420

tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggtaactcc 480

caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcaccctg 540

acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt cacccatcag 600

ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgt 645

<210> 181

<211> 645

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 181

gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagtatggta gctcaccgtg gacgttcggc 300

caagggacca aggtggaaat caaacgaact gtggctgcac catctgtctt catcttcccg 360

ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc 420

tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggtaactcc 480

caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcaccctg 540

acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt cacccatcag 600

ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgt 645

<210> 182

<211> 351

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 182

caggtgcagc tacagcagtg gggcgcagga ctgttgaagc cttcggagac cctgtccctc 60

acctgcgctg tctatggtgg gtccttcagt ggttactact ggagctggat ccgccagccc 120

ccagggaagg ggctggagtg gattggagaa atcaatcata gtggaaacac ctactacaac 180

ccgtccctca agagtcgcgt caccatatca gtagacacgt ccaagaacca gttatccctg 240

aagctgagct ctgtgaccgc cgcggacacg gctgtgtatt actgtgcgag atttgggagt 300

aatgatgctt ttgatatctg gggccaaggg acaatggtca ccgtctcttc a 351

<210> 183

<211> 321

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 183

gacatccaga tgacccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgtc gggcgagtca gggtattagc agctggttag cctggtatca gcagaaacca 120

gagaaagccc ctaagtccct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttatta ctgccaacag tataatagtt accctccgac gttcggccaa 300

gggaccaagg tggaaatcaa a 321

<210> 184

<211> 1341

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 184

```
caggtgcagc tacagcagtg gggcgcagga ctgttgaagc cttcggagac cctgtccctc      60
acctgcgctg tctatggtgg gtccttcagt ggttactact ggagctggat ccgccagccc     120
ccagggaagg ggctggagtg gattggagaa atcaatcata gtggaaacac ctactacaac     180
ccgtccctca agagtcgcgt caccatatca gtagacacgt ccaagaacca gttatccctg     240
aagctgagct ctgtgaccgc cgcggacacg gctgtgtatt actgtgcgag atttgggagt     300
aatgatgctt ttgatatctg gggccaaggg acaatggtca ccgtctcttc agcctccacc     360
aagggcccat cggtcttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg     420
gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca     480
ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac     540
tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc     600
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga gagttgagcc caaatcttgt     660
gacaaaactc acacatgccc accgtgccca gcacctgaac tcctgggggg accgtcagtc     720
ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca     780
tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac     840
ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac     900
cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag     960
tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa    1020
gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccgggatga gctgaccaag    1080
aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag    1140
tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc    1200
gacggctcct tcttcctcta cagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg    1260
aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc    1320
ctctccctgt ctccgggtaa a                                              1341
```

<210> 185

<211> 642

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 185

gacatccaga tgacccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgtc gggcgagtca gggtattagc agctggttag cctggtatca gcagaaacca 120

gagaaagccc ctaagtccct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttatta ctgccaacag tataatagtt accctccgac gttcggccaa 300

gggaccaagg tggaaatcaa acgaactgtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca 360

tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420

cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480

gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540

ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600

ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 642

<210> 186

<211> 372

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 186

caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt aactatggca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg gatggcagtt atatggtatg gtggaagtaa taaattctat 180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa ctcgctgtct 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagaggggg 300

gctatggttc ggggagtcta ctactacggt atggacgtct ggggccaagg gaccacggtc 360

accgtctcct ca 372

<210> 187

<211> 321

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 187

gccatccagt tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca gggcattagc agtgctttag cctggtatca gcagaaacca 120

gggaaagctc ctaagttcct gatctatgat gcctccagtt tggaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttatta ctgtcaacag tttaatagtt accctcagac gttcggccaa 300

gggaccaagg tggaaatcaa a 321

<210> 188

<211> 321

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 188

gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc agctacttag cctggtacca acagaaacct 120

ggccaggctc ccaggctcct catctatgat gcatccaaca gggccactgg catcccagcc 180

aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagac ttcactctca ccatcagcag cctagagcct 240

gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag cgtagcaact ggccgctcac tttcggcgga 300

gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 189

<211> 1350

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 189

```
caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc      60
tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt aactatggca tgcactgggt ccgccaggct     120
ccaggcaagg ggctggagtg gatggcagtt atatggtatg gtggaagtaa taaattctat     180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa ctcgctgtct     240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagaggggggg     300
gctatggttc ggggagtcta ctactacggt atggacgtct ggggccaagg gaccacggtc     360
accgtctcct cagcctccac caagggccca tcggtcttcc ccctggcgcc ctgctccagg     420
agcacctccg agagcacagc ggccctgggc tgcctggtca aggactactt ccccgaaccg     480
gtgacggtgt cgtggaactc aggcgctctg accagcggcg tgcacacctt cccagctgtc     540
ctacagtcct caggactcta ctccctcagc agcgtggtga ccgtgccctc cagcaacttc     600
ggcacccaga cctacacctg caacgtagat cacaagccca gcaacaccaa ggtggacaag     660
acagttgagc gcaaatgttg tgtcgagtgc ccaccgtgcc cagcaccacc tgtggcagga     720
ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggacccct     780
gaggtcacgt gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc ccgaggtcca gttcaactgg     840
tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cacgggagga gcagttcaac     900
agcacgttcc gtgtggtcag cgtcctcacc gttgtgcacc aggactggct gaacggcaag     960
gagtacaagt gcaaggtctc caacaaaggc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc    1020
aaaaccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgggaggag    1080
atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctaccc cagcgacatc    1140
gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac acctcccatg    1200
ctggactccg acggctcctt cttcctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg    1260
cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg    1320
cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa                                     1350
```

<210> 190

<211> 642

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 190

```
gccatccagt tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc      60
atcacttgcc gggcaagtca gggcattagc agtgctttag cctggtatca gcagaaacca     120
gggaaagctc ctaagttcct gatctatgat gcctccagtt tggaaagtgg ggtcccatca     180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct     240
gaagattttg caacttatta ctgtcaacag tttaatagtt accctcagac gttcggccaa     300
gggaccaagg tggaaatcaa acgaactgtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca     360
tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat     420
cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag     480
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg     540
ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc     600
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt                        642
```

<210> 191

<211> 642

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 191

gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc agctacttag cctggtacca acagaaacct 120

ggccaggctc ccaggctcct catctatgat gcatccaaca gggccactgg catcccagcc 180

aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagac ttcactctca ccatcagcag cctagagcct 240

gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag cgtagcaact ggccgctcac tttcggcgga 300

gggaccaagg tggagatcaa acgaactgtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca 360

tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420

cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480

gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540

ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600

ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 642

<210> 192

<211> 98

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 192

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg

<210> 193

<211> 4

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 193

Met Val Arg Gly
1

<210> 194

<211> 4

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 194

Tyr Tyr Tyr Gly
1

<210> 195

<211> 3

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 195

Tyr Tyr Tyr
1

<210> 196

<211> 18

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 196

Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
1 5 10 15

Ser Ser

<210> 197

<211> 17

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 197

```
Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
1               5                   10                  15

Ser
```

<210> 198

<211> 20

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 198

```
Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val
1               5                   10                  15

Thr Val Ser Ser
            20
```

<210> 199

<211> 4

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 199

Ile Ala Val Ala
1

<210> 200

<211> 2

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 200

Asp Tyr
1

<210> 201

<211> 97

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 201

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
            20                  25                  30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45

Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
    50                  55                  60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65                  70                  75                  80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95

Arg
```

<210> 202

<211> 16

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 202

```
Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
1               5                   10                  15
```

<210> 203

<211> 100

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 203

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
            20                  25                  30

Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Gly Arg Ile Lys Ser Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala
    50                  55                  60

Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65                  70                  75                  80

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

Tyr Cys Thr Thr
            100
```

<210> 204

<211> 94

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 204

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala
            20                  25                  30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
        35                  40                  45

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Asn Tyr
                85                  90
```

<210> 205

<211> 12

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 205

```
Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
1               5                   10
```

<210> 206

<211> 11

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 206

```
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
1               5                   10
```

<210> 207

<211> 94

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 207

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1               5                   10                  15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
            20                  25                  30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
        35                  40                  45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr
                85                  90
```

<210> 208

<211> 94

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 208

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Gly Val Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
        35                  40                  45

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

Ser Gly Pro Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65                  70                  75                  80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp
                85                  90
```

<210> 209

<211> 95

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 209

```
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1               5                   10                  15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
            20                  25                  30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
        35                  40                  45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
    50                  55                  60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65                  70                  75                  80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser
                85                  90                  95
```

<210> 210

<211> 12

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 210

```
Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
1               5                   10
```

<210> 211

<211> 11

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 211

```
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
1               5                   10
```

<210> 212

<211> 12

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 212

```
Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
1               5                   10
```

<210> 213

<211> 94

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 213

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
            20                  25                  30
```

```
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
        35                  40                  45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65                  70                  75                  80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp
                85                  90
```

<210> 214

<211> 12

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 214

```
Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
1               5                   10
```

<210> 215

<211> 39

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 215

```
Gln Arg Pro Thr Gly Gly Pro Gly Cys Gly Pro Gly Arg Leu Leu Leu
1               5                   10                  15

Gly Thr Gly Thr Asp Ala Arg Cys Cys Arg Val His Thr Thr Arg Cys
            20                  25                  30

Cys Arg Asp Tyr Pro Gly Glu
        35
```

<210> 216

<211> 20

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 216

```
Gln Arg Pro Thr Gly Gly Pro Gly Cys Gly Pro Gly Arg Leu Leu Leu
1               5                   10                  15

Gly Thr Gly Thr
            20
```

<210> 217

<211> 18

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 217

```
Pro Thr Gly Gly Pro Gly Cys Gly Pro Gly Arg Leu Leu Leu Gly Thr
1               5                   10                  15
```

```
Gly Thr
```

<210> 218

<211> 8

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 218

```
Cys Arg Asp Tyr Pro Gly Glu Glu
1               5
```

<210> 219

<211> 5

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 219

```
Pro Val Gly Val Val
1               5
```

<210> 220

<211> 5

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 220

Leu Ser Pro Gly Lys
1 5

<210> 221

<211> 325

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 221

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1               5                  10                  15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
            100                 105                 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
        115                 120                 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
    130                 135                 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145                 150                 155                 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
                165                 170                 175

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
            180                 185                 190
```

```
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
        195                 200                 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
    210                 215                 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225                 230                 235                 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
                245                 250                 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
            260                 265                 270

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
        275                 280                 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
    290                 295                 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305                 310                 315                 320

Ser Leu Ser Pro Gly
                325
```

<210> 222

<211> 325

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 222

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1               5                  10                  15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
```

```
65                  70                  75                  80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
            100                 105                 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
        115                 120                 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
    130                 135                 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145                 150                 155                 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
                165                 170                 175

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
            180                 185                 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
        195                 200                 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
    210                 215                 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225                 230                 235                 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
                245                 250                 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
            260                 265                 270

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
        275                 280                 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
    290                 295                 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305                 310                 315                 320
```

Ser Leu Ser Pro Gly
325

<210> 223

<211> 326

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 223

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1               5                   10                  15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
            100                 105                 110

Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
        115                 120                 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
    130                 135                 140

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145                 150                 155                 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
                165                 170                 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
            180                 185                 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
```

```
        195                 200                 205

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
    210                 215                 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
225                 230                 235                 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
                245                 250                 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
            260                 265                 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
        275                 280                 285

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
    290                 295                 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305                 310                 315                 320

Leu Ser Leu Ser Pro Gly
                325
```

<210> 224

<211> 325

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 224

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1               5                   10                  15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80
```

```
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
            100                 105                 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
        115                 120                 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
    130                 135                 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145                 150                 155                 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
                165                 170                 175

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
            180                 185                 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
        195                 200                 205

Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
    210                 215                 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225                 230                 235                 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
                245                 250                 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
            260                 265                 270

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
        275                 280                 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
    290                 295                 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305                 310                 315                 320

Ser Leu Ser Pro Gly
```

325

<210> 225

<211> 326

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 225

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1               5                  10                  15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
            100                 105                 110

Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
        115                 120                 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
    130                 135                 140

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145                 150                 155                 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
                165                 170                 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
            180                 185                 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
        195                 200                 205
```

```
Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
    210                 215                 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
225                 230                 235                 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
                245                 250                 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
            260                 265                 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
        275                 280                 285

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
    290                 295                 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305                 310                 315                 320

Leu Ser Leu Ser Pro Gly
                325
```

<210> 226

<211> 325

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 226

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1               5                  10                  15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80
```

```
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
            100                 105                 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
        115                 120                 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
    130                 135                 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145                 150                 155                 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
                165                 170                 175

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
            180                 185                 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
        195                 200                 205

Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
    210                 215                 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225                 230                 235                 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
                245                 250                 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
            260                 265                 270

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
        275                 280                 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
    290                 295                 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305                 310                 315                 320

Ser Leu Ser Pro Gly
                325
```

<210> 227

<211> 449

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 227

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ala Val Ile Trp Tyr Glu Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

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

Ala Arg Gly Gly Ser Met Val Arg Gly Asp Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
            100                 105                 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
        115                 120                 125

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
    130                 135                 140

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

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
                165                 170                 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
            180                 185                 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn
        195                 200                 205
```

```
Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg
    210                 215                 220

Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly
225                 230                 235                 240

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Gly

<210> 228

<211> 450

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 228

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ala Val Ile Trp Tyr Glu Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

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

Ala Arg Gly Gly Ser Met Val Arg Gly Asp Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
            100                 105                 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
        115                 120                 125

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
    130                 135                 140

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

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
                165                 170                 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
            180                 185                 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn
        195                 200                 205
```

```
Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg
    210                 215                 220

Lys Cys Cys Val Glu 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 Glu Glu Met 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
    450
```

<210> 229

<211> 449

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 229

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ala Val Ile Trp Tyr Glu Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

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

Ala Arg Gly Gly Ser Met Val Arg Gly Asp Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
            100                 105                 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
        115                 120                 125

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
    130                 135                 140

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

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
                165                 170                 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
            180                 185                 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn
        195                 200                 205
```

```
Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg
    210                 215                 220

Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly
225                 230                 235                 240

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Gly

<210> 230

<211> 450

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 230

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ala Val Ile Trp Tyr Glu Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

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

Ala Arg Gly Gly Ser Met Val Arg Gly Asp Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
            100                 105                 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
        115                 120                 125

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
    130                 135                 140

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

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
                165                 170                 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
            180                 185                 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn
        195                 200                 205
```

```
Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg
    210                 215                 220

Lys Ser Cys Val Glu 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 Glu Glu Met 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
    450
```

<210> 231

<211> 449

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 231

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ala Val Ile Trp Tyr Glu Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

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

Ala Arg Gly Gly Ser Met Val Arg Gly Asp Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
            100                 105                 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
        115                 120                 125

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
    130                 135                 140

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

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
                165                 170                 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
            180                 185                 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn
        195                 200                 205
```

```
Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg
    210                 215                 220

Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly
225                 230                 235                 240

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Gly
```

<210> 232

<211> 448

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 232

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Gly Phe His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ala Val Ile Trp Tyr Ala Gly Ser Asn Lys Phe Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

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

Ala Arg Gly Gly Gln Leu Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Val Met Asp Val
            100                 105                 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
        115                 120                 125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser
    130                 135                 140

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

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
                165                 170                 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
            180                 185                 190

Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val
        195                 200                 205
```

```
Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys
    210                 215                 220

Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro
225                 230                 235                 240

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

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

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

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val
    290                 295                 300

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

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

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

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

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

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

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

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
            420                 425                 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
        435                 440                 445
```

<210> 233

<211> 449

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 233

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Gly Phe His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ala Val Ile Trp Tyr Ala Gly Ser Asn Lys Phe Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

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

Ala Arg Gly Gly Gln Leu Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Val Met Asp Val
            100                 105                 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
        115                 120                 125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser
    130                 135                 140

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

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
                165                 170                 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
            180                 185                 190

Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val
        195                 200                 205

Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys
    210                 215                 220
```

```
Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225                 230                 235                 240

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Gly
```

<210> 234

<211> 448

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 234

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Gly Phe His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ala Val Ile Trp Tyr Ala Gly Ser Asn Lys Phe Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

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

Ala Arg Gly Gly Gln Leu Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Val Met Asp Val
            100                 105                 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
        115                 120                 125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser
    130                 135                 140

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

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
                165                 170                 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
            180                 185                 190

Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val
        195                 200                 205

Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys
    210                 215                 220
```

```
Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro
225                 230                 235                 240

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
            420                 425                 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
        435                 440                 445
```

<210> 235

<211> 449

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 235

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Gly Phe His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ala Val Ile Trp Tyr Ala Gly Ser Asn Lys Phe Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

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

Ala Arg Gly Gly Gln Leu Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Val Met Asp Val
            100                 105                 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
        115                 120                 125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser
    130                 135                 140

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

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
                165                 170                 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
            180                 185                 190

Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val
        195                 200                 205

Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys
    210                 215                 220

Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225                 230                 235                 240
```

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Gly
```

<210> 236

<211> 448

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 236

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Gly Phe His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ala Val Ile Trp Tyr Ala Gly Ser Asn Lys Phe Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

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

Ala Arg Gly Gly Gln Leu Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Val Met Asp Val
            100                 105                 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
        115                 120                 125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser
    130                 135                 140

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

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
                165                 170                 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
            180                 185                 190

Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val
        195                 200                 205

Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys
    210                 215                 220

Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro
225                 230                 235                 240
```

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
            420                 425                 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
        435                 440                 445
```

<210> 237

<211> 448

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 237

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ala Val Ile Trp Tyr Ala Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

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

Ala Arg Gly Gly Arg Ile Ala Val Ala Phe Tyr Tyr Ser Met Asp Val
            100                 105                 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
        115                 120                 125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser
    130                 135                 140

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

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
                165                 170                 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
            180                 185                 190

Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val
        195                 200                 205

Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys
    210                 215                 220

Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro
225                 230                 235                 240

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

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

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

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val
    290                 295                 300

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

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

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

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

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

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

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

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
            420                 425                 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
        435                 440                 445
```

<210> 238

<211> 449

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 238

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

```
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ala Val Ile Trp Tyr Ala Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

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

Ala Arg Gly Gly Arg Ile Ala Val Ala Phe Tyr Tyr Ser Met Asp Val
            100                 105                 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
        115                 120                 125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser
    130                 135                 140

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

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
                165                 170                 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
            180                 185                 190

Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val
        195                 200                 205

Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys
    210                 215                 220

Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225                 230                 235                 240

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Gly
```

<210> 239

<211> 448

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 239

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

```
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ala Val Ile Trp Tyr Ala Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

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

Ala Arg Gly Gly Arg Ile Ala Val Ala Phe Tyr Tyr Ser Met Asp Val
            100                 105                 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
        115                 120                 125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser
    130                 135                 140

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

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
                165                 170                 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
            180                 185                 190

Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val
        195                 200                 205

Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys
    210                 215                 220

Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro
225                 230                 235                 240

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
            420                 425                 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
        435                 440                 445
```

<210> 240

<211> 449

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 240

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30
```

```
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ala Val Ile Trp Tyr Ala Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

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

Ala Arg Gly Gly Arg Ile Ala Val Ala Phe Tyr Tyr Ser Met Asp Val
            100                 105                 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
        115                 120                 125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser
    130                 135                 140

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

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
                165                 170                 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
            180                 185                 190

Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val
        195                 200                 205

Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys
    210                 215                 220

Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225                 230                 235                 240

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Gly
```

<210> 241

<211> 448

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 241

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30
```

```
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ala Val Ile Trp Tyr Ala Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

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

Ala Arg Gly Gly Arg Ile Ala Val Ala Phe Tyr Tyr Ser Met Asp Val
            100                 105                 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
        115                 120                 125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser
    130                 135                 140

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

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
                165                 170                 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
            180                 185                 190

Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val
        195                 200                 205

Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys
    210                 215                 220

Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro
225                 230                 235                 240

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
            420                 425                 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
        435                 440                 445
```

<210> 242

<211> 442

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 242

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
            20                  25                  30

Tyr Trp Thr Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45
```

```
Gly Lys Ile Asn His Ser Gly Asn Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
    50                  55                  60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65                  70                  75                  80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95

Arg Leu Gly Ala Phe Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
            100                 105                 110

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

Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys
    130                 135                 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145                 150                 155                 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
                165                 170                 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn
            180                 185                 190

Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn
        195                 200                 205

Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro
    210                 215                 220

Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
225                 230                 235                 240

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
                245                 250                 255

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn
            260                 265                 270

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
        275                 280                 285

Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
    290                 295                 300
```

```
Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
305                 310                 315                 320

Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys
                325                 330                 335

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
            340                 345                 350

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
        355                 360                 365

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
    370                 375                 380

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
385                 390                 395                 400

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

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
            420                 425                 430

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
        435                 440
```

<210> 243

<211> 442

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 243

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
            20                  25                  30

Tyr Trp Thr Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45

Gly Lys Ile Asn His Ser Gly Asn Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
    50                  55                  60
```

```
Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65                  70                  75                  80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95

Arg Leu Gly Ala Phe Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
            100                 105                 110

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

Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys
    130                 135                 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145                 150                 155                 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
                165                 170                 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn
            180                 185                 190

Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn
        195                 200                 205

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

Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
225                 230                 235                 240

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
                245                 250                 255

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn
            260                 265                 270

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
        275                 280                 285

Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
    290                 295                 300

Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
305                 310                 315                 320
```

```
Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys
                325                 330                 335

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
            340                 345                 350

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
        355                 360                 365

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
    370                 375                 380

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
385                 390                 395                 400

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

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
            420                 425                 430

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
        435                 440
```

<210> 244

<211> 443

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 244

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
            20                  25                  30

Tyr Trp Thr Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45

Gly Lys Ile Asn His Ser Gly Asn Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
    50                  55                  60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65                  70                  75                  80
```

```
Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95

Arg Leu Gly Ala Phe Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
            100                 105                 110

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

Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys
    130                 135                 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145                 150                 155                 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
                165                 170                 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn
            180                 185                 190

Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn
        195                 200                 205

Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro
    210                 215                 220

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
225                 230                 235                 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
                245                 250                 255

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
            260                 265                 270

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
        275                 280                 285

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
    290                 295                 300

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
305                 310                 315                 320

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
                325                 330                 335
```

```
Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
            340                 345                 350

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
        355                 360                 365

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
    370                 375                 380

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
385                 390                 395                 400

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
                405                 410                 415

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
            420                 425                 430

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
        435                 440
```

<210> 245

<211> 442

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 245

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
            20                  25                  30

Tyr Trp Thr Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45

Gly Lys Ile Asn His Ser Gly Asn Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
    50                  55                  60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65                  70                  75                  80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95
```

```
Arg Leu Gly Ala Phe Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
            100                 105                 110

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

Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys
    130                 135                 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145                 150                 155                 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
                165                 170                 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn
            180                 185                 190

Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn
        195                 200                 205

Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro
    210                 215                 220

Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
225                 230                 235                 240

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
                245                 250                 255

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
            260                 265                 270

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
        275                 280                 285

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
    290                 295                 300

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
305                 310                 315                 320

Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
                325                 330                 335

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
            340                 345                 350
```

```
Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
        355                 360                 365

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
    370                 375                 380

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
385                 390                 395                 400

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

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
            420                 425                 430

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
        435                 440
```

<210> 246

<211> 443

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 246

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
            20                  25                  30

Tyr Trp Thr Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45

Gly Lys Ile Asn His Ser Gly Asn Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
    50                  55                  60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65                  70                  75                  80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95

Arg Leu Gly Ala Phe Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
            100                 105                 110
```

```
Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
        115                 120                 125

Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys
    130                 135                 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145                 150                 155                 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
                165                 170                 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn
            180                 185                 190

Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn
        195                 200                 205

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

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
225                 230                 235                 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
                245                 250                 255

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
            260                 265                 270

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
        275                 280                 285

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
    290                 295                 300

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
305                 310                 315                 320

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
                325                 330                 335

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
            340                 345                 350

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
        355                 360                 365
```

```
Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
    370                 375                 380

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
385                 390                 395                 400

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
                405                 410                 415

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
            420                 425                 430

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
        435                 440
```

<210> 247

<211> 442

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 247

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
            20                  25                  30

Tyr Trp Thr Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45

Gly Lys Ile Asn His Ser Gly Asn Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
    50                  55                  60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65                  70                  75                  80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95

Arg Leu Gly Ala Phe Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
        115                 120                 125
```

```
Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys
    130                 135                 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145                 150                 155                 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
                165                 170                 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn
            180                 185                 190

Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn
        195                 200                 205

Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro
    210                 215                 220

Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
225                 230                 235                 240

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
                245                 250                 255

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
            260                 265                 270

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
        275                 280                 285

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
    290                 295                 300

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
305                 310                 315                 320

Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
                325                 330                 335

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
            340                 345                 350

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
        355                 360                 365

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
    370                 375                 380
```

```
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
385                 390                 395                 400

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
                405                 410                 415

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
            420                 425                 430

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
        435                 440
```

<210> 248

<211> 449

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 248

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
1               5                  10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Leu Ser Asp Tyr
            20                  25                  30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Thr Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Phe Tyr Val Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Val Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Gly Gly Arg Leu Ala Thr Gly His Phe Tyr Tyr Val Met Asp
            100                 105                 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
        115                 120                 125

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
    130                 135                 140
```

```
Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
145                 150                 155                 160

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
                165                 170                 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
            180                 185                 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn
        195                 200                 205

Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg
    210                 215                 220

Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly
225                 230                 235                 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
                245                 250                 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
            260                 265                 270

Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
        275                 280                 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg
    290                 295                 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305                 310                 315                 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu
                325                 330                 335

Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
            340                 345                 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
        355                 360                 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
    370                 375                 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met
385                 390                 395                 400
```

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly

<210> 249

<211> 449

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 249

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
1               5                  10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Leu Ser Asp Tyr
            20                  25                  30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Thr Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Phe Tyr Val Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Val Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Gly Gly Arg Leu Ala Thr Gly His Phe Tyr Tyr Val Met Asp
            100                 105                 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
        115                 120                 125

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
    130                 135                 140
```

```
Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
145                 150                 155                 160

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
                165                 170                 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
            180                 185                 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn
        195                 200                 205

Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg
    210                 215                 220

Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly
225                 230                 235                 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
                245                 250                 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
            260                 265                 270

Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
        275                 280                 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg
    290                 295                 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305                 310                 315                 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu
                325                 330                 335

Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
            340                 345                 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
        355                 360                 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
    370                 375                 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met
385                 390                 395                 400
```

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly

<210> 250

<211> 450

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 250

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
1               5                  10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Leu Ser Asp Tyr
            20                  25                  30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Thr Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Phe Tyr Val Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Val Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Gly Gly Arg Leu Ala Thr Gly His Phe Tyr Tyr Val Met Asp
            100                 105                 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
        115                 120                 125

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
    130                 135                 140
```

```
Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
145                 150                 155                 160

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
                165                 170                 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
            180                 185                 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn
        195                 200                 205

Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg
    210                 215                 220

Lys Cys Cys Val Glu 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 Glu Glu Met 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
    450
```

<210> 251

<211> 449

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 251

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
1               5                  10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Leu Ser Asp Tyr
            20                  25                  30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Thr Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Phe Tyr Val Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Val Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Gly Gly Arg Leu Ala Thr Gly His Phe Tyr Tyr Val Met Asp
            100                 105                 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
        115                 120                 125

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
    130                 135                 140
```

```
Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
145                 150                 155                 160

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
                165                 170                 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
            180                 185                 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn
        195                 200                 205

Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg
    210                 215                 220

Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly
225                 230                 235                 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
                245                 250                 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
            260                 265                 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
        275                 280                 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
    290                 295                 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305                 310                 315                 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile Glu
                325                 330                 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
            340                 345                 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
        355                 360                 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
    370                 375                 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385                 390                 395                 400
```

```
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
                405                 410                 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
            420                 425                 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
        435                 440                 445

Gly
```

<210> 252

<211> 450

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 252

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
1               5                   10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Leu Ser Asp Tyr
            20                  25                  30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Thr Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Phe Tyr Val Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Val Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Gly Gly Arg Leu Ala Thr Gly His Phe Tyr Tyr Val Met Asp
            100                 105                 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
        115                 120                 125

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
    130                 135                 140
```

```
Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
145                 150                 155                 160

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
                165                 170                 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
            180                 185                 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn
        195                 200                 205

Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg
    210                 215                 220

Lys Ser Cys Val Glu 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 Glu Glu Met 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
    450
```

<210> 253

<211> 449

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 253

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
1               5                  10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Leu Ser Asp Tyr
            20                  25                  30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Thr Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Phe Tyr Val Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Val Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Gly Gly Arg Leu Ala Thr Gly His Phe Tyr Tyr Val Met Asp
            100                 105                 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
        115                 120                 125

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
    130                 135                 140
```

```
Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
145                 150                 155                 160

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
                165                 170                 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
            180                 185                 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn
        195                 200                 205

Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg
    210                 215                 220

Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly
225                 230                 235                 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
                245                 250                 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
            260                 265                 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
        275                 280                 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
    290                 295                 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305                 310                 315                 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile Glu
                325                 330                 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
            340                 345                 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
        355                 360                 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
    370                 375                 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385                 390                 395                 400
```

```
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
                405                 410                 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
            420                 425                 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
        435                 440                 445

Gly
```

<210> 254

<211> 449

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 254

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1               5                  10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Gly Met Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ala Val Ile Trp Tyr Glu Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Gly Gly Leu Met Val Arg Gly Leu Phe Tyr Tyr Gly Met Asp
            100                 105                 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
        115                 120                 125

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
    130                 135                 140
```

```
Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
145                 150                 155                 160

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
                165                 170                 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
            180                 185                 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn
        195                 200                 205

Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg
    210                 215                 220

Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly
225                 230                 235                 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
                245                 250                 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
            260                 265                 270

Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
        275                 280                 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg
    290                 295                 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305                 310                 315                 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu
                325                 330                 335

Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
            340                 345                 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
        355                 360                 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
    370                 375                 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met
385                 390                 395                 400
```

```
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
                405                 410                 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
            420                 425                 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
        435                 440                 445

Gly
```

<210> 255

<211> 450

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 255

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1               5                  10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Gly Met Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ala Val Ile Trp Tyr Glu Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Gly Gly Leu Met Val Arg Gly Leu Phe Tyr Tyr Gly Met Asp
            100                 105                 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
        115                 120                 125

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
    130                 135                 140
```

```
Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
145                 150                 155                 160

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
                165                 170                 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
            180                 185                 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn
        195                 200                 205

Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg
    210                 215                 220

Lys Cys Cys Val Glu 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 Glu Glu Met 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
    450
```

<210> 256

<211> 449

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 256

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1               5                  10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Gly Met Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ala Val Ile Trp Tyr Glu Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Gly Gly Leu Met Val Arg Gly Leu Phe Tyr Tyr Gly Met Asp
            100                 105                 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
        115                 120                 125

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
    130                 135                 140
```

```
Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
145                 150                 155                 160

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
                165                 170                 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
            180                 185                 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn
        195                 200                 205

Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg
    210                 215                 220

Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly
225                 230                 235                 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
                245                 250                 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
            260                 265                 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
        275                 280                 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
    290                 295                 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305                 310                 315                 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile Glu
                325                 330                 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
            340                 345                 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
        355                 360                 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
    370                 375                 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385                 390                 395                 400
```

```
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
                405                 410                 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
            420                 425                 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
        435                 440                 445

Gly
```

<210> 257

<211> 450

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 257

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1               5                   10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Gly Met Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ala Val Ile Trp Tyr Glu Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Gly Gly Leu Met Val Arg Gly Leu Phe Tyr Tyr Gly Met Asp
            100                 105                 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
        115                 120                 125

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
    130                 135                 140
```

```
Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
145                 150                 155                 160

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
                165                 170                 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
            180                 185                 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn
        195                 200                 205

Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg
    210                 215                 220

Lys Ser Cys Val Glu 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 Glu Glu Met 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
    450
```

<210> 258

<211> 449

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 258

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1               5                   10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Gly Met Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ala Val Ile Trp Tyr Glu Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Gly Gly Leu Met Val Arg Gly Leu Phe Tyr Tyr Gly Met Asp
            100                 105                 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
        115                 120                 125

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
    130                 135                 140
```

```
Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
145                 150                 155                 160

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
                165                 170                 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
            180                 185                 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn
        195                 200                 205

Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg
    210                 215                 220

Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly
225                 230                 235                 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
                245                 250                 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
            260                 265                 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
        275                 280                 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
    290                 295                 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305                 310                 315                 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile Glu
                325                 330                 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
            340                 345                 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
        355                 360                 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
    370                 375                 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385                 390                 395                 400
```

```
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
                405                 410                 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
            420                 425                 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
        435                 440                 445

Gly
```

<210> 259

<211> 450

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 259

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1               5                  10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Val
            20                  25                  30

Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Gly Arg Ile Lys Ser Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala
    50                  55                  60

Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65                  70                  75                  80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu His Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
                85                  90                  95

Tyr Cys Thr Thr Gly Gln Leu Ile Pro Tyr Ser Tyr Tyr Tyr Gly Met
            100                 105                 110

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
        115                 120                 125

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser
    130                 135                 140
```

```
Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
145                 150                 155                 160

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
                165                 170                 175

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
            180                 185                 190

Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys
        195                 200                 205

Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu
    210                 215                 220

Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala
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 Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
        275                 280                 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe
    290                 295                 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305                 310                 315                 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile
                325                 330                 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
            340                 345                 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met 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
```

```
Met 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
    450
```

<210> 260

<211> 450

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 260

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1               5                  10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Val
            20                  25                  30

Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Gly Arg Ile Lys Ser Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala
    50                  55                  60

Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65                  70                  75                  80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu His Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
                85                  90                  95

Tyr Cys Thr Thr Gly Gln Leu Ile Pro Tyr Ser Tyr Tyr Tyr Gly Met
            100                 105                 110

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
        115                 120                 125

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser
    130                 135                 140
```

```
Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
145                 150                 155                 160

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
                165                 170                 175

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
            180                 185                 190

Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys
        195                 200                 205

Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu
    210                 215                 220

Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala
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 Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
        275                 280                 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe
    290                 295                 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305                 310                 315                 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile
                325                 330                 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
            340                 345                 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met 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
```

```
Met 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
    450
```

<210> 261

<211> 451

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 261

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1               5                  10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Val
            20                  25                  30

Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Gly Arg Ile Lys Ser Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala
    50                  55                  60

Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65                  70                  75                  80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu His Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
                85                  90                  95

Tyr Cys Thr Thr Gly Gln Leu Ile Pro Tyr Ser Tyr Tyr Tyr Gly Met
            100                 105                 110

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
        115                 120                 125

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser
    130                 135                 140
```

```
Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
145                 150                 155                 160

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
                165                 170                 175

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
            180                 185                 190

Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys
        195                 200                 205

Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu
    210                 215                 220

Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225                 230                 235                 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
                245                 250                 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
            260                 265                 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
        275                 280                 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
    290                 295                 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305                 310                 315                 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
                325                 330                 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
            340                 345                 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
        355                 360                 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
    370                 375                 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385                 390                 395                 400
```

```
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
                405                 410                 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
            420                 425                 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
        435                 440                 445

Ser Pro Gly
    450
```

<210> 262

<211> 450

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 262

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1               5                   10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Val
            20                  25                  30

Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Gly Arg Ile Lys Ser Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala
    50                  55                  60

Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65                  70                  75                  80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu His Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
                85                  90                  95

Tyr Cys Thr Thr Gly Gln Leu Ile Pro Tyr Ser Tyr Tyr Tyr Gly Met
            100                 105                 110

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
        115                 120                 125

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser
    130                 135                 140
```

```
Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
145                 150                 155                 160

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
                165                 170                 175

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
            180                 185                 190

Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys
        195                 200                 205

Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu
    210                 215                 220

Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala
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 Ser Ser 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 Glu Glu Met 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
    450
```

<210> 263

<211> 451

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 263

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1               5                  10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Val
            20                  25                  30

Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Gly Arg Ile Lys Ser Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala
    50                  55                  60

Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65                  70                  75                  80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu His Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
                85                  90                  95

Tyr Cys Thr Thr Gly Gln Leu Ile Pro Tyr Ser Tyr Tyr Tyr Gly Met
            100                 105                 110

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
        115                 120                 125

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser
    130                 135                 140
```

```
Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
145                 150                 155                 160

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
                165                 170                 175

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
            180                 185                 190

Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys
        195                 200                 205

Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu
    210                 215                 220

Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225                 230                 235                 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
                245                 250                 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
            260                 265                 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
        275                 280                 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
    290                 295                 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305                 310                 315                 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
                325                 330                 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
            340                 345                 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
        355                 360                 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
    370                 375                 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385                 390                 395                 400
```

```
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
                405                 410                 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
            420                 425                 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
        435                 440                 445

Ser Pro Gly
    450
```

<210> 264

<211> 450

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 264

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1               5                  10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Val
            20                  25                  30

Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Gly Arg Ile Lys Ser Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala
    50                  55                  60

Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65                  70                  75                  80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu His Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
                85                  90                  95

Tyr Cys Thr Thr Gly Gln Leu Ile Pro Tyr Ser Tyr Tyr Tyr Gly Met
            100                 105                 110

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
        115                 120                 125

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser
    130                 135                 140
```

```
Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
145                 150                 155                 160

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
                165                 170                 175

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
            180                 185                 190

Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys
        195                 200                 205

Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu
    210                 215                 220

Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala
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 Ser Ser 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 Glu Glu Met 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
    450
```

<210> 265

<211> 442

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 265

```
Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1               5                   10                  15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
            20                  25                  30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45

Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
    50                  55                  60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Leu Ser Leu
65                  70                  75                  80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95

Arg Phe Gly Ser Asn Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
        115                 120                 125

Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys
    130                 135                 140
```

```
Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145                 150                 155                 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
                165                 170                 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn
            180                 185                 190

Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn
        195                 200                 205

Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro
    210                 215                 220

Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
225                 230                 235                 240

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
                245                 250                 255

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn
            260                 265                 270

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
        275                 280                 285

Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
    290                 295                 300

Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
305                 310                 315                 320

Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys
                325                 330                 335

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
            340                 345                 350

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
        355                 360                 365

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
    370                 375                 380

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
385                 390                 395                 400
```

```
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
                405                 410                 415

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
            420                 425                 430

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
        435                 440
```

<210> 266

<211> 442

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 266

```
Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1               5                  10                  15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
            20                  25                  30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45

Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
    50                  55                  60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Leu Ser Leu
65                  70                  75                  80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95

Arg Phe Gly Ser Asn Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
        115                 120                 125

Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys
    130                 135                 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145                 150                 155                 160
```

```
Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
                165                 170                 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn
            180                 185                 190

Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn
        195                 200                 205

Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro
    210                 215                 220

Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
225                 230                 235                 240

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
                245                 250                 255

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn
            260                 265                 270

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
        275                 280                 285

Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
    290                 295                 300

Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
305                 310                 315                 320

Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys
                325                 330                 335

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
            340                 345                 350

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
        355                 360                 365

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
    370                 375                 380

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
385                 390                 395                 400

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
                405                 410                 415
```

```
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
            420                 425                 430

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
        435                 440
```

<210> 267

<211> 443

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 267

```
Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1               5                   10                  15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
            20                  25                  30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45

Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
    50                  55                  60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Leu Ser Leu
65                  70                  75                  80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95

Arg Phe Gly Ser Asn Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
        115                 120                 125

Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys
    130                 135                 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145                 150                 155                 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
                165                 170                 175
```

```
Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn
            180                 185                 190

Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn
        195                 200                 205

Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro
    210                 215                 220

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
225                 230                 235                 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
                245                 250                 255

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
            260                 265                 270

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
        275                 280                 285

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
    290                 295                 300

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
305                 310                 315                 320

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
                325                 330                 335

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
            340                 345                 350

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
        355                 360                 365

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
    370                 375                 380

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
385                 390                 395                 400

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
                405                 410                 415

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
            420                 425                 430
```

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440

<210> 268

<211> 442

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 268

```
Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1               5                  10                  15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
            20                  25                  30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45

Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
    50                  55                  60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Leu Ser Leu
65                  70                  75                  80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95

Arg Phe Gly Ser Asn Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
        115                 120                 125

Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys
    130                 135                 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145                 150                 155                 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
                165                 170                 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn
            180                 185                 190
```

```
Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn
        195                 200                 205

Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro
    210                 215                 220

Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
225                 230                 235                 240

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
                245                 250                 255

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
            260                 265                 270

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
        275                 280                 285

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
    290                 295                 300

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
305                 310                 315                 320

Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
                325                 330                 335

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
            340                 345                 350

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
        355                 360                 365

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
    370                 375                 380

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
385                 390                 395                 400

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
                405                 410                 415

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
            420                 425                 430

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
        435                 440
```

<210> 269

<211> 443

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 269

```
Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1               5                   10                  15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
            20                  25                  30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45

Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
    50                  55                  60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Leu Ser Leu
65                  70                  75                  80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95

Arg Phe Gly Ser Asn Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
        115                 120                 125

Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys
    130                 135                 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145                 150                 155                 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
                165                 170                 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn
            180                 185                 190

Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn
        195                 200                 205
```

```
Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro
    210                 215                 220

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
225                 230                 235                 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
                245                 250                 255

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
            260                 265                 270

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
        275                 280                 285

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
    290                 295                 300

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
305                 310                 315                 320

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
                325                 330                 335

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
            340                 345                 350

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
        355                 360                 365

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
    370                 375                 380

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
385                 390                 395                 400

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
                405                 410                 415

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
            420                 425                 430

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
        435                 440
```

<210> 270

<211> 442

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 270

```
Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1               5                  10                  15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
            20                  25                  30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45

Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
    50                  55                  60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Leu Ser Leu
65                  70                  75                  80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95

Arg Phe Gly Ser Asn Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
        115                 120                 125

Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys
    130                 135                 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145                 150                 155                 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
                165                 170                 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn
            180                 185                 190

Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn
        195                 200                 205

Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro
    210                 215                 220
```

```
Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
225                 230                 235                 240

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
                245                 250                 255

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
            260                 265                 270

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
        275                 280                 285

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
    290                 295                 300

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
305                 310                 315                 320

Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
                325                 330                 335

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
            340                 345                 350

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
        355                 360                 365

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
    370                 375                 380

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
385                 390                 395                 400

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
                405                 410                 415

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
            420                 425                 430

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
        435                 440
```

<210> 271

<211> 449

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 271

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1               5                  10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
            20                  25                  30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45

Ala Val Ile Trp Tyr Gly Gly Ser Asn Lys Phe Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Ser Leu Ser
65                  70                  75                  80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Gly Gly Ala Met Val Arg Gly Val Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
            100                 105                 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
        115                 120                 125

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
    130                 135                 140

Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
145                 150                 155                 160

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
                165                 170                 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
            180                 185                 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn
        195                 200                 205

Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg
    210                 215                 220

Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly
225                 230                 235                 240
```

```
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
                245                 250                 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
            260                 265                 270

Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
        275                 280                 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg
    290                 295                 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305                 310                 315                 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu
                325                 330                 335

Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
            340                 345                 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
        355                 360                 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
    370                 375                 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met
385                 390                 395                 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
                405                 410                 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
            420                 425                 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
        435                 440                 445

Gly
```

<210> 272

<211> 450

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 272

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1               5                  10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
            20                  25                  30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45

Ala Val Ile Trp Tyr Gly Gly Ser Asn Lys Phe Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Ser Leu Ser
65                  70                  75                  80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Gly Gly Ala Met Val Arg Gly Val Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
            100                 105                 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
        115                 120                 125

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
    130                 135                 140

Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
145                 150                 155                 160

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
                165                 170                 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
            180                 185                 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn
        195                 200                 205

Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg
    210                 215                 220

Lys Cys Cys Val Glu 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 Glu Glu Met 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
    450
```

<210> 273

<211> 449

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 273

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1               5                  10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
            20                  25                  30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45

Ala Val Ile Trp Tyr Gly Gly Ser Asn Lys Phe Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Ser Leu Ser
65                  70                  75                  80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Gly Gly Ala Met Val Arg Gly Val Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
            100                 105                 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
        115                 120                 125

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
    130                 135                 140

Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
145                 150                 155                 160

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
                165                 170                 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
            180                 185                 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn
        195                 200                 205

Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg
    210                 215                 220

Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly
225                 230                 235                 240
```

```
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
                245                 250                 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
            260                 265                 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
        275                 280                 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
    290                 295                 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305                 310                 315                 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile Glu
                325                 330                 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
            340                 345                 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
        355                 360                 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
    370                 375                 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385                 390                 395                 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
                405                 410                 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
            420                 425                 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
        435                 440                 445

Gly
```

<210> 274

<211> 450

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 274

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1               5                   10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
            20                  25                  30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45

Ala Val Ile Trp Tyr Gly Gly Ser Asn Lys Phe Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Ser Leu Ser
65                  70                  75                  80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Gly Gly Ala Met Val Arg Gly Val Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
            100                 105                 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
        115                 120                 125

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
    130                 135                 140

Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
145                 150                 155                 160

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
                165                 170                 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
            180                 185                 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn
        195                 200                 205

Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg
    210                 215                 220

Lys Ser Cys Val Glu 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 Glu Glu Met 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
    450
```

<210> 275

<211> 449

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 275

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1               5                   10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
            20                  25                  30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45

Ala Val Ile Trp Tyr Gly Gly Ser Asn Lys Phe Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Ser Leu Ser
65                  70                  75                  80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Gly Gly Ala Met Val Arg Gly Val Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
            100                 105                 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
        115                 120                 125

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
    130                 135                 140

Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
145                 150                 155                 160

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
                165                 170                 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
            180                 185                 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn
        195                 200                 205

Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg
    210                 215                 220

Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly
225                 230                 235                 240
```

```
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
                245                 250                 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
            260                 265                 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
        275                 280                 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
    290                 295                 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305                 310                 315                 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile Glu
                325                 330                 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
            340                 345                 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
        355                 360                 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
    370                 375                 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385                 390                 395                 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
                405                 410                 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
            420                 425                 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
        435                 440                 445

Gly
```

<210> 276

<211> 4

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 276

Leu Ser Pro Gly
1

<210> 277

<400> 277

000

<210> 278

<211> 98

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 278

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1               5                   10                  15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val
```

<210> 279

<211> 98

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 279

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1               5                   10                  15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
```

```
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Thr Val
```

<210> 280

<211> 103

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 280

```
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
1               5                  10                  15

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
            20                  25                  30

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
        35                  40                  45

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
    50                  55                  60

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
65                  70                  75                  80

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
                85                  90                  95

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
            100
```

<210> 281

<211> 103

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 281

```
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
1               5                  10                  15
```

```
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
            20                  25                  30

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
        35                  40                  45

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
    50                  55                  60

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
65                  70                  75                  80

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile Glu
                85                  90                  95

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
            100
```

<210> 282

<211> 106

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 282

```
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
1               5                   10                  15

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
            20                  25                  30

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
        35                  40                  45

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
    50                  55                  60

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
65                  70                  75                  80

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
                85                  90                  95

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
            100                 105
```

<210> 283

<211> 326

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 283

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1               5                  10                  15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
            100                 105                 110

Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
        115                 120                 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
    130                 135                 140

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145                 150                 155                 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
                165                 170                 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
            180                 185                 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
        195                 200                 205

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
    210                 215                 220
```

```
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
225                 230                 235                 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
                245                 250                 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
            260                 265                 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
        275                 280                 285

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
    290                 295                 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305                 310                 315                 320

Leu Ser Leu Ser Pro Gly
                325
```

<210> 284

<211> 325

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 284

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1               5                  10                  15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95
```

```
Lys Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
            100                 105                 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
        115                 120                 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
    130                 135                 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145                 150                 155                 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
                165                 170                 175

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
            180                 185                 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
        195                 200                 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
    210                 215                 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225                 230                 235                 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
                245                 250                 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
            260                 265                 270

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
        275                 280                 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
    290                 295                 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305                 310                 315                 320

Ser Leu Ser Pro Gly
                325
```

<210> 285

<211> 325

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 285

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1               5                  10                  15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
            100                 105                 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
        115                 120                 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
    130                 135                 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145                 150                 155                 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
                165                 170                 175

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
            180                 185                 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
        195                 200                 205

Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
    210                 215                 220
```

```
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Arg Glu Met Thr Lys Asn
225                 230                 235                 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
                245                 250                 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
            260                 265                 270

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
        275                 280                 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
    290                 295                 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305                 310                 315                 320

Ser Leu Ser Pro Gly
                325
```

<210> 286

<211> 325

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 286

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1               5                  10                  15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
```

```
            100                 105                 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
        115                 120                 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
    130                 135                 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145                 150                 155                 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
                165                 170                 175

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
            180                 185                 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
        195                 200                 205

Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
    210                 215                 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225                 230                 235                 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
                245                 250                 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
            260                 265                 270

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
        275                 280                 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
    290                 295                 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305                 310                 315                 320

Ser Leu Ser Pro Gly
                325
```

<210> 287

<211> 325

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 287

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1               5                  10                  15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
            100                 105                 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
        115                 120                 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
    130                 135                 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145                 150                 155                 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
                165                 170                 175

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
            180                 185                 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
        195                 200                 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
    210                 215                 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
```

225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly
325

<210> 288

<211> 325

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 288

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1               5                  10                  15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
            100                 105                 110
```

```
Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
        115                 120                 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
    130                 135                 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145                 150                 155                 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
                165                 170                 175

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
            180                 185                 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
        195                 200                 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
    210                 215                 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225                 230                 235                 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
                245                 250                 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
            260                 265                 270

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
        275                 280                 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
    290                 295                 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305                 310                 315                 320

Ser Leu Ser Pro Gly
                325
```

<210> 289

<211> 325

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 289

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1               5                  10                  15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
            100                 105                 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
        115                 120                 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
    130                 135                 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145                 150                 155                 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
                165                 170                 175

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
            180                 185                 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
        195                 200                 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
    210                 215                 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225                 230                 235                 240
```

```
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
                245                 250                 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
            260                 265                 270

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
        275                 280                 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
    290                 295                 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305                 310                 315                 320

Ser Leu Ser Pro Gly
                325
```

<210> 290

<211> 325

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 290

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1               5                   10                  15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
            100                 105                 110
```

```
Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
        115                 120                 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
    130                 135                 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145                 150                 155                 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
                165                 170                 175

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
            180                 185                 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
        195                 200                 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
    210                 215                 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225                 230                 235                 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
                245                 250                 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
            260                 265                 270

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
        275                 280                 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
    290                 295                 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305                 310                 315                 320

Ser Leu Ser Pro Gly
                325
```

<210> 291

<211> 18

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 291

```
Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val
1               5                   10                  15

Ala Gly
```

<210> 292

<211> 18

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 292

```
Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val
1               5                   10                  15

Ala Gly
```

<210> 293

<211> 19

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 293

Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu
1 5 10 15

Leu Gly Gly

<210> 294

<211> 19

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 294

Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu
1 5 10 15

Leu Gly Gly

<210> 295

<211> 22

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 295

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
1 5 10 15

Pro Glu Leu Leu Gly Gly
20

<210> 296

<211> 22

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 296

```
Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
1               5                   10                  15

Pro Glu Ala Glu Gly Ala
            20
```

<210> 297

<211> 103

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 297

```
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
1               5                   10                  15

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
            20                  25                  30

Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
        35                  40                  45

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg
    50                  55                  60

Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
65                  70                  75                  80

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu
                85                  90                  95

Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys
            100
```

<210> 298

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 298

```
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
1               5                   10                  15

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
            20                  25                  30

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
        35                  40                  45

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
    50                  55                  60

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
65                  70                  75                  80

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
                85                  90                  95

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
            100                 105
```

<210> 299

<211> 5

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 299

```
Val Asp Lys Arg Val
1               5
```

<210> 300

<211> 5

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 300

```
Val Asp Lys Thr Val
1               5
```

<210> 301

<211> 10

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 301

```
Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
1               5                   10
```

<210> 302

<211> 12

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 302

Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr
1 5 10

<210> 303

<211> 4

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 303

Glu Pro Lys Ser
1

<210> 304

<211> 7

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 304

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
1 5

<210> 305

<211> 5

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 305

Cys Pro Pro Cys Pro
1 5

<210> 306

<211> 9

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 306

Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro
1 5

<210> 307

<211> 50

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 307

```
Cys Pro Arg Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys
1               5                   10                  15

Pro Arg Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro
            20                  25                  30

Arg Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg
        35                  40                  45

Cys Pro
    50
```

<210> 308

<211> 35

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 308

```
Cys Pro Arg Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys
1               5                   10                  15
Pro Arg Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro
            20                  25                  30

Arg Cys Pro
        35
```

<210> 309

<211> 20

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 309

```
Cys Pro Arg Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys
1               5                   10                  15

Pro Arg Cys Pro
            20
```

<210> 310

<211> 41

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 310

```
Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys
1               5                   10                  15

Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp
            20                  25                  30

Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro
        35                  40
```

<210> 311

<211> 11

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 311

Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro
1 5 10

<210> 312

<211> 5

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 312

Cys Pro Ser Cys Pro
1 5

<210> 313

<211> 7

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 313

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
1 5

<210> 314

<211> 6

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 314

```
Ala Pro Pro Val Ala Gly
1               5
```

<210> 315

<211> 19

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 315

```
Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Leu Leu Arg Gly
1               5                   10                  15

Val Gln Cys
```

<210> 316

<211> 57

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 316

atggagtttg ggctgagctg ggttttcctc gttgctcttt taagaggtgt ccagtgt 57

<210> 317

<211> 22

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 317

```
Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1               5                   10                  15

Leu Pro Gly Ala Arg Cys
            20
```

<210> 318

<211> 64

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 318

```
atggacatga gggtcccgc tcagctcctg gggcttctgc tgctctgggt cccaggtgcc      60

agat                                                                  64
```

<210> 319

<211> 20

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 319

Met Arg Val Leu Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Cys Phe Pro
1 5 10 15

Gly Ala Arg Cys
20

<210> 320

<211> 60

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 320

atgagggtcc tcgctcagct cctggggctc ctgctgctct gtttcccagg tgccagatgt 60

<210> 321

<211> 19

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 321

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

Val Leu Ser

<210> 322

<211> 57

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 322

atgaaacacc tgtggttctt cctcctcctg gtggcagctc ccagatgggt cctgtcc 57

<210> 323

<211> 22

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 323

```
Met Asp Met Arg Val Leu Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Cys
1               5                   10                  15

Phe Pro Gly Ala Arg Cys
            20
```

<210> 324

<211> 66

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 324

```
atggacatga gggtcctcgc tcagctcctg gggctcctgc tgctctgttt cccaggtgcc    60

agatgt                                                               66
```

<210> 325

<211> 20

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 325

```
Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
1               5                   10                  15

Asp Thr Thr Gly
            20
```

<210> 326

<211> 60

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 326

atggaagccc cagcgcagct tctcttcctc ctgctactct ggctcccaga taccaccgga 60

<210> 327

<211> 19

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 327

```
Met Glu Phe Gly Leu Asn Trp Val Phe Leu Val Ala Leu Leu Arg Gly
1               5                   10                  15

Val Gln Cys
```

<210> 328

<211> 57

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 328

atggagtttg ggctgaactg ggttttcctc gttgctcttt taagaggtgt ccagtgt 57

<210> 329

<211> 19

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 329

```
Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Ile Phe Leu Ala Ala Ile Leu Lys Gly
1               5                   10                  15

Val Gln Cys
```

<210> 330

<211> 57

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 330

atggagtttg ggctgagctg gattttcctt gctgctattt taaaaggtgt ccagtgt 57

<210> 331

<211> 20

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 331

```
Met Glu Thr Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
1               5                   10                  15

Asp Thr Thr Gly
            20
```

<210> 332

<211> 60

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 332

atggaaaccc cagcgcagct tctcttcctc ctgctactct ggctcccaga taccaccgga 60

<210> 333

<211> 19

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 333

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

Val Leu Ser

<210> 334

<211> 57

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 334

atgaaacacc tgtggttctt cctcctcctg gtggcagctc ccagatgggt cctgtcc 57

<210> 335

<211> 124

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 335

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Val Val Gln Pro Gly Arg
1               5                   10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
            20                  25                  30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ala Val Thr Trp Tyr Ala Gly Ser Asn Lys Phe Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Gly Gly Ser Met Val Arg Gly Leu Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
            100                 105                 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 336

<211> 107

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 336

```
Ala Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1               5                   10                  15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala
            20                  25                  30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
        35                  40                  45

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Tyr
                85                  90                  95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 337

<211> 450

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 337

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Val Val Gln Pro Gly Arg
1               5                   10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
            20                  25                  30
```

```
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ala Val Thr Trp Tyr Ala Gly Ser Asn Lys Phe Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Gly Gly Ser Met Val Arg Gly Leu Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
            100                 105                 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
        115                 120                 125

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
    130                 135                 140

Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
145                 150                 155                 160

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
                165                 170                 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
            180                 185                 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn
        195                 200                 205

Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg
    210                 215                 220

Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly
225                 230                 235                 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
                245                 250                 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
            260                 265                 270

Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
```

```
        275                 280                 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg
    290                 295                 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305                 310                 315                 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu
                325                 330                 335

Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
            340                 345                 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
        355                 360                 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
    370                 375                 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met
385                 390                 395                 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
                405                 410                 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
            420                 425                 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
        435                 440                 445

Gly Lys
    450
```

<210> 338

<211> 214

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 338

```
Ala Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1               5                  10                  15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala
            20                  25                  30
```

```
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
        35                  40                  45

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Tyr
                85                  90                  95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
            100                 105                 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
        115                 120                 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
    130                 135                 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145                 150                 155                 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
                165                 170                 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
            180                 185                 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
        195                 200                 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210
```

<210> 339

<211> 453

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 339

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Val Val Gln Pro Gly Arg
1               5                   10                  15
```

```
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
            20                  25                  30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ala Val Thr Trp Tyr Ala Gly Ser Asn Lys Phe Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Gly Gly Ser Met Val Arg Gly Leu Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
            100                 105                 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
        115                 120                 125

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
    130                 135                 140

Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
145                 150                 155                 160

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
                165                 170                 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
            180                 185                 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
        195                 200                 205

Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro
    210                 215                 220

Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
225                 230                 235                 240

Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
                245                 250                 255

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
            260                 265                 270
```

```
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
        275                 280                 285

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
    290                 295                 300

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
305                 310                 315                 320

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
                325                 330                 335

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
            340                 345                 350

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
        355                 360                 365

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
    370                 375                 380

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
385                 390                 395                 400

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
                405                 410                 415

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
            420                 425                 430

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
        435                 440                 445

Ser Leu Ser Pro Gly
    450
```

<210> 340

<211> 453

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 340

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Val Val Gln Pro Gly Arg
1               5                   10                  15
```

```
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
            20                  25                  30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ala Val Thr Trp Tyr Ala Gly Ser Asn Lys Phe Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Gly Gly Ser Met Val Arg Gly Leu Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
            100                 105                 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
        115                 120                 125

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
    130                 135                 140

Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
145                 150                 155                 160

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
                165                 170                 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
            180                 185                 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
        195                 200                 205

Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro
    210                 215                 220

Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
225                 230                 235                 240

Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
                245                 250                 255

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
            260                 265                 270
```

```
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
        275                 280                 285

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
    290                 295                 300

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
305                 310                 315                 320

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
                325                 330                 335

Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
            340                 345                 350

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
        355                 360                 365

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
    370                 375                 380

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
385                 390                 395                 400

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
                405                 410                 415

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
            420                 425                 430

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
        435                 440                 445

Ser Leu Ser Pro Gly
    450
```

<210> 341

<211> 214

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 341

```
Ala Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1               5                   10                  15
```

```
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala
            20                  25                  30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
        35                  40                  45

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Tyr
                85                  90                  95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
            100                 105                 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
        115                 120                 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
    130                 135                 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145                 150                 155                 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
                165                 170                 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
            180                 185                 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
        195                 200                 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210
```

<210> 342

<211> 5

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 342

```
Thr Tyr Gly Met His
1               5
```

<210> 343

<211> 17

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 343

```
Val Thr Trp Tyr Ala Gly Ser Asn Lys Phe Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1               5                   10                  15

Gly
```

<210> 344

<211> 15

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 344

```
Gly Gly Ser Met Val Arg Gly Leu Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1               5                   10                  15
```

<210> 345

<211> 11

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 345

```
Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala
1               5                   10
```

<210> 346

<211> 7

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 346

```
Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser
1               5
```

<210> 347

<211> 9

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 347

```
Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Tyr Thr
1               5
```

<210> 348

<211> 449

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 348

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Val Val Gln Pro Gly Arg
1               5                  10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
            20                  25                  30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ala Val Thr Trp Tyr Ala Gly Ser Asn Lys Phe Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Gly Gly Ser Met Val Arg Gly Leu Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
            100                 105                 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
        115                 120                 125

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
    130                 135                 140

Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
145                 150                 155                 160
```

```
Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
                165                 170                 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
            180                 185                 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn
        195                 200                 205

Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg
    210                 215                 220

Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly
225                 230                 235                 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
                245                 250                 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
            260                 265                 270

Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
        275                 280                 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg
    290                 295                 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305                 310                 315                 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu
                325                 330                 335

Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
            340                 345                 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
        355                 360                 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
    370                 375                 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met
385                 390                 395                 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
```

405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly

<210> 349

<211> 450

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 349

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Val Val Gln Pro Gly Arg
1               5                  10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
            20                  25                  30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ala Val Thr Trp Tyr Ala Gly Ser Asn Lys Phe Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Gly Gly Ser Met Val Arg Gly Leu Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
            100                 105                 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
        115                 120                 125

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
    130                 135                 140

Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
145                 150                 155                 160
```

```
Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
                165                 170                 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
            180                 185                 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn
        195                 200                 205

Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg
    210                 215                 220

Lys Cys Cys Val Glu 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 Glu Glu Met 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
450

<210> 350

<211> 449

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 350

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Val Val Gln Pro Gly Arg
1               5                  10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
            20                  25                  30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ala Val Thr Trp Tyr Ala Gly Ser Asn Lys Phe Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Gly Gly Ser Met Val Arg Gly Leu Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
            100                 105                 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
        115                 120                 125

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
    130                 135                 140

Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
145                 150                 155                 160
```

```
Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
                165                 170                 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
            180                 185                 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn
        195                 200                 205

Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg
    210                 215                 220

Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly
225                 230                 235                 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
                245                 250                 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
            260                 265                 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
        275                 280                 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
    290                 295                 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305                 310                 315                 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile Glu
                325                 330                 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
            340                 345                 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
        355                 360                 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
    370                 375                 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385                 390                 395                 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
```

405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly

<210> 351

<211> 450

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 351

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Val Val Gln Pro Gly Arg
1               5                  10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
            20                  25                  30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ala Val Thr Trp Tyr Ala Gly Ser Asn Lys Phe Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Gly Gly Ser Met Val Arg Gly Leu Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
            100                 105                 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
        115                 120                 125

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
    130                 135                 140

Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
145                 150                 155                 160
```

```
Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
                165                 170                 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
            180                 185                 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn
        195                 200                 205

Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg
    210                 215                 220

Lys Ser Cys Val Glu 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 Glu Glu Met 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
450

<210> 352

<211> 449

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 352

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Val Val Gln Pro Gly Arg
1               5                  10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
            20                  25                  30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ala Val Thr Trp Tyr Ala Gly Ser Asn Lys Phe Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Gly Gly Ser Met Val Arg Gly Leu Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
            100                 105                 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
        115                 120                 125

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
    130                 135                 140

Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
145                 150                 155                 160
```

```
Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
                165                 170                 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
            180                 185                 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn
        195                 200                 205

Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg
    210                 215                 220

Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly
225                 230                 235                 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
                245                 250                 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
            260                 265                 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
        275                 280                 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
    290                 295                 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305                 310                 315                 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile Glu
                325                 330                 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
            340                 345                 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
        355                 360                 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
    370                 375                 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385                 390                 395                 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
```

405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly

<210> 353

<211> 372

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 353

caggtgcagc tggtggagtc tgggggagac gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt acctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt acatggtatg ctggaagtaa taaattttat 180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagaggaggt 300

agtatggttc ggggacttta ttattacggt atggacgtct ggggccaagg gaccacggtc 360

accgtctcct ca 372

<210> 354

<211> 321

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 354

gccatccagt tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca gggcattagc agtgctttag cctggtatca gcagaaacca 120

gggaaagctc ctaagctcct gatctatgat gcctccagtt tggaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttatta ctgtcaacag tttaatagtt acccgtacac ttttggccag 300

gggaccaagc tggagatcaa a 321

<210> 355

<211> 1350

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 355

caggtgcagc tggtggagtc tgggggagac gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt acctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt acatggtatg ctggaagtaa taaattttat 180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagaggaggt 300

agtatggttc ggggacttta ttattacggt atggacgtct ggggccaagg gaccacggtc 360

accgtctcct cagcctccac caagggccca tcggtcttcc cctggcgcc ctgctccagg 420

agcacctccg agagcacagc ggccctgggc tgcctggtca aggactactt ccccgaaccg 480

gtgacggtgt cgtggaactc aggcgctctg accagcggcg tgcacacctt cccagctgtc 540

ctacagtcct caggactcta ctccctcagc agcgtggtga ccgtgccctc cagcaacttc 600

ggcacccaga cctacacctg caacgtagat cacaagccca gcaacaccaa ggtggacaag 660

acagttgagc gcaaatgttg tgtcgagtgc ccaccgtgcc cagcaccacc tgtggcagga 720

ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggacccct 780

gaggtcacgt gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc ccgaggtcca gttcaactgg 840

tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cacgggagga gcagttcaac 900

agcacgttcc gtgtggtcag cgtcctcacc gttgtgcacc aggactggct gaacggcaag 960

gagtacaagt gcaaggtctc caacaaaggc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 1020

aaaaccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgccccccatc ccgggaggag 1080

atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctaccc cagcgacatc 1140

gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac acctcccatg 1200

ctggactccg acggctcctt cttcctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 1260

cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg 1320

cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa 1350

<210> 356

<211> 642

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 356

gccatccagt tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca gggcattagc agtgctttag cctggtatca gcagaaacca 120

gggaaagctc ctaagctcct gatctatgat gcctccagtt tggaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttatta ctgtcaacag tttaatagtt accccgtacac ttttggccag 300

gggaccaagc tggagatcaa acgaactgtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca 360

tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420

cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480

gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540

ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600

ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 642

<210> 357

<211> 141

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 357

```
Met Arg Ala Trp Ile Phe Phe Leu Leu Cys Leu Ala Gly Arg Ala Leu
1               5                  10                  15

Ala Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly
            20                  25                  30

Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser
        35                  40                  45

Tyr Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
    50                  55                  60

Val Ala Val Ile Trp Tyr Glu Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser
65                  70                  75                  80

Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu
                85                  90                  95

Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
            100                 105                 110

Cys Ala Arg Gly Gly Ser Met Val Arg Gly Asp Tyr Tyr Tyr Gly Met
        115                 120                 125

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
    130                 135                 140
```

<210> 358

<211> 124

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 358

```
Met Arg Ala Trp Ile Phe Phe Leu Leu Cys Leu Ala Gly Arg Ala Leu
1               5                  10                  15

Ala Ala Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
            20                  25                  30

Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser
        35                  40                  45

Ala Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu
    50                  55                  60

Ile Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
65                  70                  75                  80

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
                85                  90                  95

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro
            100                 105                 110

Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
        115                 120
```

<210> 359

<211> 423

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 359

atgagggctt ggatcttctt tctgctctgc ctggccggga gagcgctcgc acaggtgcag 60

ctggtggagt ctgggggagg cgtggtccag cctgggaggt ccctgagact ctcctgtgca 120

gcgtctggat tcaccttcag tagctatggc atgcactggg tccgccaggc tccaggcaag 180

gggctggagt gggtggcagt tatatggtat gaaggaagta ataaatatta tgcagactcc 240

gtgaagggcc gattcaccat ctccagagac aattccaaga acacgctgta tctgcaaatg 300

aacagcctga gagccgagga cacggctgtg tattactgtg cgagaggggg gagtatggtt 360

cgggggggact actactacgg tatggacgtc tggggccaag ggaccacggt caccgtctcc 420

tca 423

<210> 360

<211> 372

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 360

atgagggctt ggatcttctt tctgctctgc ctggccgggc gcgccttggc cgccatccag 60

ttgacccagt ctccatcctc cctgtctgca tctgtaggag acagagtcac catcacttgc 120

cgggcaagtc agggcattag cagtgcttta gcctggtatc agcagaaacc agggaaagct 180

cctaagctcc tgatctatga tgcctccagt ttggaaagtg gggtcccatc aaggttcagc 240

ggcagtggat ctgggacaga tttcactctc accatcagca gcctgcagcc tgaagatttt 300

gcaacttatt actgtcaaca gtttaatagt tacccgtaca cttttggcca ggggaccaag 360

ctggagatca aa 372

<210> 361

<211> 470

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 361

```
Met Arg Ala Trp Ile Phe Phe Leu Leu Cys Leu Ala Gly Arg Ala Leu
1               5                  10                  15

Ala Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly
            20                  25                  30

Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser
        35                  40                  45

Tyr Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
    50                  55                  60

Val Ala Val Ile Trp Tyr Glu Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser
65                  70                  75                  80
```

```
Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu
                85                  90                  95

Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
            100                 105                 110

Cys Ala Arg Gly Gly Ser Met Val Arg Gly Asp Tyr Tyr Tyr Gly Met
        115                 120                 125

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
    130                 135                 140

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
145                 150                 155                 160

Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
                165                 170                 175

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
            180                 185                 190

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
        195                 200                 205

Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
    210                 215                 220

Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu
225                 230                 235                 240

Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
                245                 250                 255

Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
            260                 265                 270

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
        275                 280                 285

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
    290                 295                 300

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
305                 310                 315                 320

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
```

```
                325                 330                 335

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
            340                 345                 350

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
        355                 360                 365

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
    370                 375                 380

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
385                 390                 395                 400

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
                405                 410                 415

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
            420                 425                 430

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
        435                 440                 445

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
    450                 455                 460

Leu Ser Leu Ser Pro Gly
465                 470
```

<210> 362

<211> 470

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 362

```
Met Arg Ala Trp Ile Phe Phe Leu Leu Cys Leu Ala Gly Arg Ala Leu
1               5                  10                  15

Ala Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly
            20                  25                  30

Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser
        35                  40                  45

Tyr Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
    50                  55                  60
```

```
Val Ala Val Ile Trp Tyr Glu Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser
65                  70                  75                  80

Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu
                85                  90                  95

Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
            100                 105                 110

Cys Ala Arg Gly Gly Ser Met Val Arg Gly Asp Tyr Tyr Tyr Gly Met
        115                 120                 125

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
    130                 135                 140

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
145                 150                 155                 160

Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
                165                 170                 175

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
            180                 185                 190

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
        195                 200                 205

Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
    210                 215                 220

Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu
225                 230                 235                 240

Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
                245                 250                 255

Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
            260                 265                 270

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
        275                 280                 285

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
    290                 295                 300

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
```

```
305                 310                 315                 320

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
                325                 330                 335

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
            340                 345                 350

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
        355                 360                 365

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
    370                 375                 380

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
385                 390                 395                 400

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
                405                 410                 415

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
            420                 425                 430

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
        435                 440                 445

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
    450                 455                 460

Leu Ser Leu Ser Pro Gly
465                 470
```

<210> 363

<211> 1413

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 363

atgagggctt ggatcttctt tctgctctgc ctggccggga gagcgctcgc acaggtgcag 60

ctggtggagt ctgggggagg cgtggtccag cctgggaggt ccctgagact ctcctgtgca 120

gcgtctggat tcaccttcag tagctatggc atgcactggg tccgccaggc tccaggcaag 180

gggctggagt gggtggcagt tatatggtat gaaggaagta ataaatatta tgcagactcc 240

gtgaagggcc gattcaccat ctccagagac aattccaaga acacgctgta tctgcaaatg 300

aacagcctga gagccgagga cacggctgtg tattactgtg cgagaggggg gagtatggtt 360

cgggggggact actactacgg tatggacgtc tggggccaag ggaccacggt caccgtctcc 420

tcagctagca ccaagggccc atcggtcttc cccctggcac cctcctccaa gagcacctct 480

gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 540

tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc 600

tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcagctt gggcacccag 660

acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggacaa gagagttgag 720

cccaaatctt gtgacaaaac tcacacatgc ccaccgtgcc cagcacctga actcctgggg 780

ggaccgtcag tcttcctctt ccccccaaaa cccaaggaca cctcatgat ctcccggacc 840

cctgaggtca catgcgtggt ggtggacgtg agccacgaag accctgaggt caagttcaac 900

tggtacgtgg acggcgtgga ggtgcataat gccaagacaa agccgcggga ggagcagtac 960

aacagcacgt accgtgtggt cagcgtcctc accgtcctgc accaggactg gctgaatggc 1020

aaggagtaca agtgcaaggt ctccaacaaa gccctcccag ccccccatcga gaaaaccatc 1080

tccaaagcca aagggcagcc ccgagaacca caggtgtaca ccctgccccc atcccgggag 1140

gagatgacca agaaccaggt cagcctgacc tgcctggtca aaggcttcta tcccagcgac 1200

atcgccgtgg agtgggagag caatgggcag ccggagaaca actacaagac cacgcctccc 1260

gtgctggact ccgacggctc cttcttcctc tatagcaagc tcaccgtgga caagagcagg 1320

tggcagcagg ggaacgtctt ctcatgctcc gtgatgcatg aggctctgca caaccactac 1380

acgcagaaga gcctctccct gtccccgggt tga 1413

<210> 364

<211> 1413

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 364

atgagggctt ggatcttctt tctgctctgc ctggccggga gagcgctcgc acaggtgcag 60

ctggtggagt ctgggggagg cgtggtccag cctgggaggt ccctgagact ctcctgtgca 120

gcgtctggat tcaccttcag tagctatggc atgcactggg tccgccaggc tccaggcaag 180

gggctggagt gggtggcagt tatatggtat gaaggaagta ataaatatta tgcagactcc 240

gtgaagggcc gattcaccat ctccagagac aattccaaga acacgctgta tctgcaaatg 300

aacagcctga gagccgagga cacggctgtg tattactgtg cgagaggggg gagtatggtt 360

cgggggact actactacgg tatggacgtc tggggccaag ggaccacggt caccgtctcc 420

tcagctagca ccaagggccc atcggtcttc cccctggcac cctcctccaa gagcacctct 480

gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 540

tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc 600

tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcagctt gggcacccag 660

acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggacaa gagagttgag 720

cccaaatctt gtgacaaaac tcacacatgc ccaccgtgcc cagcacctga agccgaaggg 780

gccccgtcag tcttcctctt ccccccaaaa cccaaggaca ccctcatgat ctcccggacc 840

cctgaggtca catgcgtggt ggtggacgtg agccacgaag accctgaggt caagttcaac 900

tggtacgtgg acggcgtgga ggtgcataat gccaagacaa agccgcggga ggagcagtac 960

aacagcacgt accgtgtggt cagcgtcctc accgtcctgc accaggactg gctgaatggc 1020

aaggagtaca agtgcaaggt ctccaacaaa gccctcccaa gcagcatcga gaaaaccatc 1080

tccaaagcca aagggcagcc ccgagaacca caggtgtaca ccctgccccc atcccgggag 1140

gagatgacca agaaccaggt cagcctgacc tgcctggtca aaggcttcta tcccagcgac 1200

atcgccgtgg agtgggagag caatgggcag ccggagaaca actacaagac cacgcctccc 1260

gtgctggact ccgacggctc cttcttcctc tatagcaagc tcaccgtgga caagagcagg 1320

tggcagcagg ggaacgtctt ctcatgctcc gtgatgcatg aggctctgca caaccactac 1380

acgcagaaga gcctctccct gtccccgggt tga 1413

<210> 365

<211> 231

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 365

```
Met Arg Ala Trp Ile Phe Phe Leu Leu Cys Leu Ala Gly Arg Ala Leu
1               5                  10                  15

Ala Ala Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
            20                  25                  30

Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser
        35                  40                  45

Ala Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu
    50                  55                  60

Ile Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
65                  70                  75                  80
```

```
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
                85                  90                  95

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro
            100                 105                 110

Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
        115                 120                 125

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
    130                 135                 140

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
145                 150                 155                 160

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
                165                 170                 175

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
            180                 185                 190

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
        195                 200                 205

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
    210                 215                 220

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225                 230
```

<210> 366

<211> 696

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 366

atgagggctt ggatcttctt tctgctctgc ctggccgggc gcgccttggc cgccatccag 60

ttgacccagt ctccatcctc cctgtctgca tctgtaggag acagagtcac catcacttgc 120

cgggcaagtc agggcattag cagtgcttta gcctggtatc agcagaaacc agggaaagct 180

cctaagctcc tgatctatga tgcctccagt ttggaaagtg gggtcccatc aaggttcagc 240

ggcagtggat ctgggacaga tttcactctc accatcagca gcctgcagcc tgaagatttt 300

gcaacttatt actgtcaaca gtttaatagt tacccgtaca cttttggcca ggggaccaag 360

ctggagatca aacgtacggt ggctgcacca tctgtcttca tcttcccgcc atctgatgag 420

cagttgaaat ctggaactgc ctctgttgtg tgcctgctga ataacttcta tcccagagag 480

gccaaagtac agtggaaggt ggataacgcc ctccaatcgg gtaactccca ggagagtgtc 540

acagagcagg acagcaagga cagcacctac agcctcagca gcaccctgac gctgagcaaa 600

gcagactacg agaaacacaa agtctacgcc tgcgaagtca cccatcaggg cctgagctcg 660

5 cccgtcacaa agagcttcaa caggggagag tgttag 696

<210> 367

<211> 17

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

10 <220>

<223> Sintetico

<400> 367

Met Arg Ala Trp Ile Phe Phe Leu Leu Cys Leu Ala Gly Arg Ala Leu
1 5 10 15

Ala

<210> 368

<211> 51

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 368

atgagggctt ggatcttctt tctgctctgc ctggccggga gagcgctcgc a 51

<210> 369

<211> 51

<212> DNA

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 369

atgagggctt ggatcttctt tctgctctgc ctggccgggc gcgccttggc c 51

<210> 370

<211> 31

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 370

```
Gln Arg Pro Thr Gly Gly Pro Gly Cys Gly Pro Gly Arg Leu Leu Leu
1               5                   10                  15
Gly Thr Gly Thr Asp Ala Arg Cys Cys Arg Val His Thr Thr Arg
            20                  25                  30
```

<210> 371

<211> 215

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<400> 371

```
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1               5                  10                  15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
            20                  25                  30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
        35                  40                  45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
    50                  55                  60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65                  70                  75                  80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
                85                  90                  95

Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
            100                 105                 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
        115                 120                 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
    130                 135                 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145                 150                 155                 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
                165                 170                 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
            180                 185                 190
```

```
Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
        195                 200                 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210                 215
```

<210> 372

<211> 5

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<220>

<221> carattere_misto

<222> (4)..(4)

<223> Xaa può essere qualsiasi amminoacido esistente in natura

<400> 372

```
Ser Tyr Gly Xaa His
1               5
```

<210> 373

<211> 17

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<220>

<221> carattere_misto

<222> (5)..(5)

<223> Xaa può essere qualsiasi amminoacido esistente in natura

<220>

<221> carattere_misto

<222> (10)..(10)

<223> Xaa può essere qualsiasi amminoacido esistente in natura

<400> 373

```
Val Ile Trp Tyr Xaa Gly Ser Asn Lys Xaa Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1               5                   10                  15

Gly
```

<210> 374

<211> 17

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<220>

<221> carattere_misto

<222> (5)..(5)

<223> Xaa può essere qualsiasi amminoacido esistente in natura

<220>

<221> carattere_misto

<222> (10)..(10)

<223> Xaa può essere qualsiasi amminoacido esistente in natura

<220>

<221> carattere_misto

<222> (12)..(12)

<223> Xaa può essere qualsiasi amminoacido esistente in natura

<400> 374

```
Val Ile Trp Tyr Xaa Gly Ser Asn Lys Xaa Tyr Xaa Asp Ser Val Lys
1               5                   10                  15

Gly
```

<210> 375

<211> 15

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<220>

<221> carattere_misto

<222> (4)..(4)

<223> Xaa può essere qualsiasi amminoacido esistente in natura

<400> 375

```
Gly Gly Ser Xaa Val Arg Gly Asp Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1               5                   10                  15
```

<210> 376

<211> 15

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<220>

<221> carattere_misto

<222> (4)..(4)

<223> Xaa può essere qualsiasi amminoacido esistente in natura

<220>

<221> carattere_misto

<222> (8)..(8)

<223> Xaa può essere qualsiasi amminoacido esistente in natura

<400> 376

```
Gly Gly Ser Xaa Val Arg Gly Xaa Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1               5                   10                  15
```

<210> 377

<211> 20

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<220>

<221> carattere_misto

<222> (3)..(9)

<223> Xaa può essere qualsiasi amminoacido esistente in natura, e uno può essere assente

<220>

<221> carattere_misto

<222> (16)..(16)

<223> Xaa può essere qualsiasi amminoacido esistente in natura

<400> 377

```
Gly Gly Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Met Asp Val Trp Tyr Tyr Xaa
1               5                   10                  15

Met Asp Val Trp
            20
```

<210> 378

<211> 11

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<220>

<221> carattere_misto

<222> (9)..(9)

<223> Xaa può essere qualsiasi amminoacido esistente in natura

<400> 378

```
Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Xaa Leu Ala
1               5                   10
```

<210> 379

<211> 12

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<220>

<221> carattere_misto

<222> (6)..(8)

<223> Xaa può essere qualsiasi amminoacido esistente in natura, e uno può essere assente

<220>

<221> carattere_misto

<222> (10)..(10)

<223> Xaa può essere qualsiasi amminoacido esistente in natura

<400> 379

```
Arg Ala Ser Gln Gly Xaa Xaa Xaa Ser Xaa Leu Ala
1               5                   10
```

<210> 380

<211> 7

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<220>

<221> carattere_misto

<222> (6)..(6)

<223> Xaa può essere qualsiasi amminoacido esistente in natura

<400> 380

```
Asp Ala Ser Ser Leu Xaa Ser
1               5
```

<210> 381

<211> 9

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<220>

<221> carattere_misto

<222> (3)..(3)

<223> Xaa può essere qualsiasi amminoacido esistente in natura

<400> 381

Gln Gln Xaa Asn Ser Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 382

<211> 9

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Sintetico

<220>

<221> carattere_misto

<222> (3)..(4)

<223> Xaa può essere qualsiasi amminoacido esistente in natura

<220>

<221> carattere_misto

<222> (6)..(6)

<223> Xaa può essere qualsiasi amminoacido esistente in natura

<220>

<221> carattere_misto

<222> (8)..(8)

<223> Xaa può essere qualsiasi amminoacido esistente in natura

<400> 382

```
Gln Gln Xaa Xaa Ser Xaa Pro Xaa Thr
1               5
```

5

RIVENDICAZIONI

1. Anticorpo monoclonale isolato che si lega al recettore per TNF inducibile da glucocorticoidi (GITR) umano, l'anticorpo comprendendo sequenze di CDR1, CDR2 e CDR3 di catena pesante rispettivamente comprendenti SEQ ID NO:20, 21 e 22 e sequenze di CDR1, CDR2 e CDR3 di catena leggera rispettivamente comprendenti SEQ ID NO:23, 24 e 25.

2. Anticorpo della rivendicazione 1, in cui l'anticorpo comprende una regione variabile di catena pesante comprendente la sequenza di amminoacidi riportata in SEQ ID NO:13 e una regione variabile di catena leggera comprendente la sequenza di amminoacidi riportata in SEQ ID NO:14.

3. Anticorpo della rivendicazione 1 o della rivendicazione 2, in cui l'anticorpo stimola una risposta antigene-specifica delle cellule T.

4. Anticorpo di una qualsiasi delle rivendicazioni 1-3, in cui l'anticorpo si lega ad un GITR umano legato a membrana con una K_D di 1 nM o meno come misurata tramite analisi di Scatchard.

5. Anticorpo di una qualsiasi delle rivendicazioni 1-4, in cui l'anticorpo si lega a PTGGPGCGPGRLLLGTGT (SEQ ID NO:217) e CRDYPGEE (SEQ ID NO:218) del GITR umano maturo (SEQ ID NO:4) come determinato via HDX-MS.

6. Anticorpo della rivendicazione 1, in cui l'anticorpo comprende sequenze di catena pesante e catena leggera comprendenti le sequenze di amminoacidi rispettivamente riportate in SEQ ID NO:15 e 16.

7. Anticorpo della rivendicazione 1, in cui l'anticorpo comprende sequenze di catena pesante e catena leggera comprendenti le sequenze di amminoacidi rispettivamente riportate in SEQ ID NO:17 e 19.

8. Anticorpo della rivendicazione 1, in cui l'anticorpo comprende sequenze di catena pesante e catena leggera comprendenti le sequenze di amminoacidi rispettivamente riportate in SEQ ID NO:18 e 19.

9. Anticorpo di una qualsiasi delle rivendicazioni 1-5, in cui l'anticorpo è un anticorpo IgG1, IgG2 o IgG4.

10. Anticorpo di una qualsiasi delle rivendicazioni 1-9, in cui l'anticorpo è un anticorpo umano o umanizzato.

11. Acido nucleico codificante per la catena pesante e la catena leggera, o per le loro regioni variabili, dell'anticorpo di una qualsiasi delle rivendicazioni 1-10.

12. Vettore di espressione comprendente la molecola di acido nucleico della rivendicazione 11.

13. Cellula ospite trasformata con (i) un vettore di espressione della rivendicazione 12, o (ii) un vettore di espressione comprendente un acido nucleico codificante per la catena pesante dell'anticorpo di una qualsiasi delle rivendicazioni 1-10 e un vettore di espressione separato comprendente un acido nucleico codificante per la catena leggera dell'anticorpo di una qualsiasi delle rivendicazioni 1-10.

14. Composizione comprendente l'anticorpo di una qualsiasi delle rivendicazioni 1-10 e un trasportatore.

15. Composizione della rivendicazione 14, comprendente inoltre uno o più agenti terapeutici aggiuntivi.

16. Composizione della rivendicazione 15, in cui gli uno o più agenti terapeutici aggiuntivi sono selezionati dal gruppo costituito da: un anticorpo anti-PD1, un anticorpo anti-LAG-3, un anticorpo anti-CTLA-4, un anticorpo anti-PD-L1 e loro combinazioni.

17. Anticorpo di una qualsiasi delle rivendicazioni 1-10 per l'uso in un metodo di trattamento di un cancro.

18. Anticorpo per l'uso nel metodo della rivendicazione 17, che prevede inoltre di somministrare uno o più agenti terapeutici aggiuntivi.

19. Anticorpo per l'uso nel metodo della rivendicazione 18, in cui l'agente terapeutico aggiuntivo è un anticorpo anti-PD1, un anticorpo anti-LAG-3, un anticorpo anti-CTLA-4 o un anticorpo anti-PD-L1.

Il sottoscritto dichiara che la presente traduzione è conforme al testo originale.

Dott.ssa Tiziana SANTORO (USBM-CPI-072 BM)

TAVOLA I

```
28F3
QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVTWYEGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGSMVRAGDYYYGMDVWGQGTTVTVSS
18E10
QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVTWYAGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGRIAVAFYYSMDVWGQGTTVTVSS
19D3
QVQLVESGGGSVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGFHWVRQAPSKGLEWVAVIWYAGSNKFYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGQLDYFYYYWDVWGQGTIVIVSS

VL:
28F3    AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFNSYPITFGQGTKLEIK
18E10   DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSYPYTFGQGTKLEIK
19D3    DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSYPYTFGQGTKLEIK
```

Figura 1

TAVOLA II

Anti-GITR 28F3, VH (hIgG2)

segmento V: 3-33
segmento D: 3-10
segmento J: JH6b

```
        Q   V   Q   L   V   E   S   G   G   G   V   V   Q   P   G   R   S
1       CAG GTG CAG CTG GTG GAG TCT GGG GGA GGC GTG GTC CAG CCT GGG AGG TCC

                                                        _CDR1___________
        L   R   L   S   C   A   A   S   G   F   T   F   S   S   Y   G   M
52      CTG AGA CTC TCC TGT GCA GCG TCT GGA TTC ACC TTC AGT AGC TAT GGC ATG

        ___                                                     _CDR2____
        H   W   V   R   Q   A   P   G   K   G   L   E   W   V   A   V   I
103     CAC TGG GTC CGC CAG GCT CCA GGC AAG GGG CTG GAG TGG GTG GCA GTT ATA

        _____________________________________________________________
        W   Y   E   G   S   N   K   Y   Y   A   D   S   V   K   G   R   F
154     TGG TAT GAA GGA AGT AAT AAA TAT TAT GCA GAC TCC GTG AAG GGC CGA TTC

        T   I   S   R   D   N   S   K   N   T   L   Y   L   Q   M   N   S
205     ACC ATC TCC AGA GAC AAT TCC AAG AAC ACG CTG TAT CTG CAA ATG AAC AGC

                                                        _CDR3___________
        L   R   A   E   D   T   A   V   Y   Y   C   A   R   G   G   S   M
256     CTG AGA GCC GAG GAC ACG GCT GTG TAT TAC TGT GCG AGA GGG GGG AGT ATG

        _____________________________________________
        V   R   G   D   Y   Y   Y   G   M   D   V   W   G   Q   G   T   T
307     GTT CGG GGG GAC TAC TAC TAC GGT ATG GAC GTC TGG GGC CAA GGG ACC ACG

        V   T   V   S   S
358     GTC ACC GTC TCC TCA
```

Figura 2A

TAVOLA III

Anti-GITR 28F3, VK (hKappa)

segmento V: L18
segmento J: JK2

```
          A   I   Q   L   T   Q   S   P   S   S   L   S   A   S   V   G   D
1     GCC ATC CAG TTG ACC CAG TCT CCA TCC TCC CTG TCT GCA TCT GTA GGA GAC

                                _CDR1_____________________________________
          R   V   T   I   T   C   R   A   S   Q   G   I   S   S   A   L   A
52    AGA GTC ACC ATC ACT TGC CGG GCA AGT CAG GGC ATT AGC AGT GCT TTA GCC

                                                                _CDR2____
          W   Y   Q   Q   K   P   G   K   A   P   K   L   L   I   Y   D   A
103   TGG TAT CAG CAG AAA CCA GGG AAA GCT CCT AAG CTC CTG ATC TAT GAT GCC

          ____________________
          S   S   L   E   S   G   V   P   S   R   F   S   G   S   G   S   G
154   TCC AGT TTG GAA AGT GGG GTC CCA TCA AGG TTC AGC GGC AGT GGA TCT GGG

          T   D   F   T   L   T   I   S   S   L   Q   P   E   D   F   A   T
205   ACA GAT TTC ACT CTC ACC ATC AGC AGC CTG CAG CCT GAA GAT TTT GCA ACT

                    _CDR3_____________________________
          Y   Y   C   Q   Q   F   N   S   Y   P   Y   T   F   G   Q   G   T
256   TAT TAC TGT CAA CAG TTT AAT AGT TAC CCG TAC ACT TTT GGC CAG GGG ACC

          K   L   E   I   K
307   AAG CTG GAG ATC AAA
```

Figura 2B

TAVOLA IV

Anti-GITR 18E10, VH (hIgG2)

segmento V: 3-33
segmento D: 6-19
segmento J: JH6b

```
          Q   V   Q   L   V   E   S   G   G   G   V   V   Q   P   G   R   S
1         CAG GTG CAG CTG GTG GAG TCT GGG GGA GGC GTG GTC CAG CCT GGG AGG TCC

                                                            _CDR1_________
          L   R   L   S   C   A   A   S   G   F   T   F   S   S   Y   G   M
52        CTG AGA CTC TCC TGT GCA GCG TCT GGA TTC ACC TTC AGT AGC TAT GGC ATG

          ___                                                       _CDR2___
          H   W   V   R   Q   A   P   G   K   G   L   E   W   V   A   V   I
103       CAC TGG GTC CGC CAG GCT CCA GGC AAG GGG CTG GAG TGG GTG GCA GTT ATA

          _____________________________________________________________
          W   Y   A   G   S   N   K   Y   Y   A   D   S   V   K   G   R   F
154       TGG TAT GCT GGA AGT AAT AAA TAC TAT GCA GAC TCC GTG AAG GGC CGA TTC

          T   I   S   R   D   N   S   K   N   T   L   Y   L   Q   M   N   S
205       ACC ATC TCC AGA GAC AAT TCC AAG AAC ACG CTG TAT CTG CAA ATG AAC AGC

                                                            _CDR3_________
          L   R   A   E   D   T   A   V   Y   Y   C   A   R   G   G   R   I
256       CTG AGA GCC GAG GAC ACG GCT GTG TAT TAC TGT GCG AGA GGG GGG CGT ATA

          _____________________________________
          A   V   A   F   Y   Y   S   M   D   V   W   G   Q   G   T   T   V
307       GCA GTG GCC TTC TAC TAC AGT ATG GAC GTC TGG GGC CAA GGG ACC ACG GTC

          T   V   S   S
358       ACC GTC TCC TCA
```

Figura 3A

TAVOLA V

Anti-GITR 18E10, VK (hKappa)

segmento V: L15
segmento J: JK2

```
        D   I   Q   M   T   Q   S   P   S   S   L   S   A   S   V   G   D
1       GAC ATC CAG ATG ACC CAG TCT CCA TCC TCA CTG TCT GCA TCT GTA GGA GAC

                                _CDR1_____________________________________
        R   V   T   I   T   C   R   A   S   Q   G   I   S   S   W   L   A
52      AGA GTC ACC ATC ACT TGT CGG GCG AGT CAG GGT ATT AGC AGC TGG TTA GCC

                                                                _CDR2____
        W   Y   Q   Q   K   P   E   K   A   P   K   S   L   I   Y   A   A
103     TGG TAT CAG CAG AAA CCA GAG AAA GCC CCT AAG TCC CTG ATC TAT GCT GCA

        _____________________
        S   S   L   Q   S   G   V   P   S   R   F   S   G   S   G   S   G
154     TCC AGT TTG CAA AGT GGG GTC CCA TCA AGG TTC AGC GGC AGT GGA TCT GGG

        T   D   F   T   L   T   I   S   S   L   Q   P   E   D   F   A   T
205     ACA GAT TTC ACT CTC ACC ATC AGC AGC CTG CAG CCT GAA GAT TTT GCA ACT

                    _CDR3_____________________________
        Y   Y   C   Q   Q   Y   N   S   Y   P   Y   T   F   G   Q   G   T
256     TAT TAC TGC CAA CAG TAT AAT AGT TAC CCG TAC ACT TTT GGC CAG GGG ACC

        K   L   E   I   K
307     AAG CTG GAG ATC AAA
```

Figura 3B

TAVOLA VI

Anti-GITR 19D3, VH (hIgG2)

segmento V: 3-33
segmento D: 3-16
segmento J: JH6b

```
          Q   V   Q   L   V   E   S   G   G   G   V   V   Q   P   G   R   S
1         CAG GTG CAG CTG GTG GAG TCT GGG GGA GGC GTG GTC CAA CCT GGG AGG TCC

                                                          _CDR1_________
          L   R   L   S   C   A   A   S   G   F   T   F   S   S   Y   G   F
52        CTG AGA CTC TCC TGT GCA GCG TCT GGA TTC ACC TTC AGT AGC TAT GGC TTC

____                                                              _CDR2____
          H   W   V   R   Q   A   P   G   K   G   L   E   W   V   A   V   I
103       CAC TGG GTC CGC CAG GCT CCA GGC AAG GGG CTG GAG TGG GTG GCA GTT ATA

_____________________________________________________________________
          W   Y   A   G   S   N   K   F   Y   A   D   S   V   K   G   R   F
154       TGG TAT GCT GGA AGT AAT AAA TTC TAT GCA GAC TCC GTG AAG GGC CGA TTC

          T   I   S   R   D   N   S   K   N   T   L   Y   L   Q   M   N   S
205       ACC ATC TCC AGA GAC AAT TCC AAG AAC ACG CTG TAT CTG CAA ATG AAC AGC

                                                          _CDR3_________
          L   R   A   E   D   T   A   V   Y   Y   C   A   R   G   G   Q   L
256       CTA AGA GCC GAG GAC ACG GCT GTG TAT TAC TGT GCG AGA GGG GGA CAG TTG

_____________________________________________
          D   Y   Y   Y   Y   Y   V   M   D   V   W   G   Q   G   T   T   V
307       GAC TAC TAC TAC TAT TAC GTT ATG GAC GTC TGG GGC CAA GGG ACC ACG GTC

          T   V   S   S
358       ACC GTC TCC TCA
```

Figura 4A

TAVOLA VII

Anti-GITR 19D3, VK (hKappa)

segmento V: L15
segmento J: JK2

```
          D   I   Q   M   T   Q   S   P   S   S   L   S   A   S   V   G   D
1         GAC ATC CAG ATG ACC CAG TCT CCA TCC TCA CTG TCT GCA TCT GTA GGA GAC

                                  _CDR1_____________________________________
          R   V   T   I   T   C   R   A   S   Q   G   I   S   S   W   L   A
52        AGA GTC ACC ATC ACT TGT CGG GCG AGT CAG GGT ATT AGC AGC TGG TTA GCC

                                                                  _CDR2___
          W   Y   Q   Q   K   P   E   K   A   P   K   S   L   I   Y   A   A
103       TGG TAT CAG CAG AAA CCA GAG AAA GCC CCT AAG TCC CTG ATC TAT GCT GCA

          _____________________
          S   S   L   Q   S   G   V   P   S   R   F   S   G   S   G   S   G
154       TCC AGT TTG CAA AGT GGG GTC CCA TCA AGG TTC AGC GGC AGT GGA TCT GGG

          T   D   F   T   L   T   I   S   S   L   Q   P   E   D   F   A   T
205       ACA GAT TTC ACT CTC ACC ATC AGC AGC CTG CAG CCT GAA GAT TTT GCA ACT

                      _CDR3_____________________________
          Y   Y   C   Q   Q   Y   N   S   Y   P   Y   T   F   G   Q   G   T
256       TAT TAC TGC CAA CAG TAT AAT AGT TAC CCG TAC ACT TTT GGC CAG GGG ACC

          K   L   E   I   K
307       AAG CTG GAG ATC AAA
```

Figura 4B

TAVOLA VIII

Anti-GITR 3C3, VH (hIgG1)

segmento V: 4-34
segmento J: JH3b

```
1       CAG GTG CAA CTA CAG CAG TGG GGC GCA GGA CTG TTG AAG CCT TCG GAG ACC

                                                        _CDR1__________
         L   S   L   T   C   A   V   Y   G   G   S   F   S   G   Y   Y   W
52      CTG TCC CTC ACC TGC GCT GTC TAT GGT GGG TCC TTC AGT GGT TAC TAC TGG

        ___                                                     _CDR2____
         T   W   I   R   Q   P   P   G   K   G   L   E   W   I   G   K   I
103     ACC TGG ATC CGC CAG CCC CCA GGG AAG GGG CTG GAG TGG ATT GGG AAA ATC

        ____________________________________________________________
         N   H   S   G   N   T   N   Y   N   P   S   L   K   S   R   V   T
154     AAT CAT AGT GGA AAC ACC AAC TAC AAC CCG TCC CTC AAG AGT CGA GTC ACC

         I   S   V   D   T   S   K   N   Q   F   S   L   K   L   S   S   V
205     ATA TCA GTA GAC ACG TCC AAG AAC CAG TTC TCC CTG AAG CTG AGC TCT GTG

                                                    _CDR3_____________
         T   A   A   D   T   A   V   Y   Y   C   A   R   L   G   A   F   D
256     ACC GCC GCG GAC ACG GCT GTG TAT TAC TGT GCG AGA CTG GGG GCC TTT GAT

        ________________
         A   F   D   I   W   G   Q   G   T   M   V   T   V   S   S
307     GCT TTT GAT ATC TGG GGC CAA GGG ACA ATG GTC ACC GTC TCT TCA
```

Figura 5A

TAVOLA IX

Anti-GITR 3C3, VK1 (hKappa)

segmento V: L15
segmento J: JK2

```
          D   I   Q   M   T   Q   S   P   S   S   L   S   A   S   V   G   D
1         GAC ATC CAG ATG ACC CAG TCT CCA TCC TCA CTG TCT GCA TCT GTA GGA GAC

                                  _CDR1_____________________________________
          R   V   T   I   T   C   R   A   S   Q   G   I   S   S   W   L   A
52        AGA GTC ACC ATC ACT TGT CGG GCG AGT CAG GGT ATT AGC AGC TGG TTA GCC

                                                                  _CDR2____
          W   Y   Q   Q   K   P   E   K   A   P   K   S   L   I   Y   A   A
103       TGG TAT CAG CAG AAA CCA GAG AAA GCC CCT AAG TCC CTG ATC TAT GCT GCA

          ____________________
          S   S   L   Q   S   G   V   P   S   R   F   S   G   S   G   S   G
154       TCC AGT TTG CAA AGT GGG GTC CCA TCA AGG TTC AGC GGC AGT GGA TCT GGG

          T   D   F   T   L   T   I   S   S   L   Q   P   E   D   F   A   T
205       ACA GAT TTC ACT CTC ACC ATC AGC AGC CTG CAG CCT GAA GAT TTT GCA ACT

                      _CDR3_____________________________
          Y   Y   C   Q   Q   Y   N   S   Y   P   Y   T   F   G   Q   G   T
256       TAT TAC TGC CAA CAG TAT AAT AGT TAC CCG TAC ACT TTT GGC CAG GGG ACC

          K   L   E   I   K
307       AAG CTG GAG ATC AAA
```

Figura 5B

TAVOLA X

Anti-GITR 3C3, VK2 (hKappa)

segmento V: L20
segmento J: JK2

```
          E   I   V   L   T   Q   S   P   A   T   L   S   L   S   P   G   E
1         GAA ATT GTG TTG ACA CAG TCT CCA GCC ACC CTG TCT TTG TCT CCA GGG GAA

                                  _CDR1_____________________________________
          R   A   T   L   S   C   R   A   S   Q   G   V   S   S   Y   L   A
52        AGA GCC ACC CTC TCC TGC AGG GCC AGT CAG GGT GTT AGC AGC TAC TTA GCC

                                                                  _CDR2____
          W   Y   Q   Q   K   P   G   Q   A   P   R   L   L   I   Y   D   A
103       TGG TAC CAG CAG AAA CCT GGC CAG GCT CCC AGG CTC CTC ATC TAT GAT GCA

          ____________________
          S   N   R   A   T   G   I   P   A   R   F   S   G   S   G   P   G
154       TCC AAC AGG GCC ACT GGC ATC CCA GCC AGG TTC AGT GGC AGT GGG CCT GGG

          T   D   F   T   L   T   I   S   S   L   E   P   E   D   F   A   V
205       ACA GAC TTC ACT CTC ACC ATC AGC AGC CTA GAG CCT GAA GAT TTT GCA GTT

                      _CDR3_____________________________
          Y   Y   C   Q   Q   R   S   N   W   H   T   F   G   Q   G   T   K
256       TAT TAC TGT CAG CAG CGT AGC AAC TGG CAC ACT TTT GGC CAG GGG ACC AAG

          L   E   I   K
307       CTG GAG ATC AAA
```

Figura 5C

TAVOLA XI

Anti-GITR 2G6, VH (hIgG1)

segmento V: **3-33**
segmento J: **JH6b**

```
          Q   V   Q   L   V   E   S   G   G   G   V   V   Q   P   G   G   S
1     CAG GTT CAG CTG GTG GAG TCT GGG GGA GGC GTG GTC CAG CCT GGG GGG TCC

                                                          _CDR1_________
          L   R   L   S   C   A   A   S   G   F   I   L   S   D   Y   G   M
52    CTG AGA CTC TCC TGT GCA GCG TCT GGA TTC ATC TTG AGT GAC TAT GGC ATG

____                                                                  _CDR2____
          H   W   V   R   Q   A   P   G   K   G   L   E   W   V   T   V   I
103   CAC TGG GTC CGC CAG GCT CCA GGC AAG GGA CTG GAG TGG GTG ACA GTT ATC

_____________________________________________________________________
          W   Y   D   G   S   N   K   F   Y   V   D   S   V   K   G   R   F
154   TGG TAT GAT GGA AGT AAT AAA TTC TAT GTA GAC TCC GTG AAG GGC CGA TTC

          T   I   S   R   D   N   S   K   N   T   L   Y   L   Q   M   N   S
205   ACC ATC TCC AGA GAC AAT TCC AAG AAC ACG TTG TAT CTG CAA ATG AAC AGC

                                                          _CDR3_________
          L   R   V   E   D   T   A   V   Y   Y   C   A   R   G   G   R   L
256   CTG AGA GTC GAG GAC ACG GCT GTG TAT TAC TGT GCG AGA GGG GGA CGT CTA

_____________________________________________
          A   T   G   H   F   Y   Y   V   M   D   V   W   G   Q   G   T   T
307   GCA ACA GGT CAC TTC TAC TAC GTT ATG GAC GTC TGG GGC CAA GGG ACC ACG

          V   T   V   S   S
358   GTC ACC GTC TCC TCA
```

Figura 6A

TAVOLA XII

Anti-GITR 2G6, VK (hKappa)
segmento V: L15
segmento J: JK2

```
          D   I   Q   M   T   Q   S   P   S   S   L   S   A   S   V   G   D
1         GAC ATC CAG ATG ACC CAG TCT CCA TCC TCA CTG TCT GCA TCT GTA GGA GAC

                                  _CDR1_____________________________________
          R   V   T   I   T   C   R   A   S   Q   G   I   S   S   W   L   A
52        AGA GTC ACC ATC ACT TGT CGG GCG AGT CAG GGT ATT AGC AGC TGG TTA GCC

                                                                  _CDR2____
          W   Y   Q   Q   K   P   E   K   A   P   K   S   L   I   Y   A   A
103       TGG TAT CAG CAG AAA CCA GAG AAA GCC CCT AAG TCC CTG ATC TAT GCT GCA

          ____________________
          S   S   L   Q   S   G   V   P   S   R   F   S   G   S   G   S   G
154       TCC AGT TTG CAA AGT GGG GTC CCA TCA AGG TTC AGC GGC AGT GGA TCT GGG

          T   D   F   T   L   T   I   S   S   L   Q   P   E   D   F   A   T
205       ACA GAT TTC ACT CTC ACC ATC AGC AGC CTG CAG CCT GAA GAT TTT GCA ACT

                      _CDR3_____________________________
          Y   Y   C   Q   Q   Y   N   S   Y   P   Y   T   F   G   Q   G   T
256       TAT TAC TGC CAA CAG TAT AAT AGT TAC CCG TAC ACT TTT GGC CAG GGG ACC

          K   L   E   I   K
307       AAG CTG GAG ATC AAA
```

Figura 6B

TAVOLA XIII

Anti-GITR 8A6, VH (hIgG2)

segmento V: **3-33**
segmento D: **3-10**
segmento J: **JH6b**

```
          Q   V   Q   L   V   E   S   G   G   G   V   V   Q   P   G   R   S
1         CAG GTG CAG CTG GTG GAG TCT GGG GGA GGC GTG GTC CAG CCT GGG AGG TCC

                                                            _CDR1_________
          L   R   L   S   C   T   A   S   G   F   T   F   S   S   Y   G   M
52        CTG AGA CTC TCC TGT ACA GCG TCT GGA TTC ACC TTC AGT AGC TAT GGC ATG

          ___                                                       _CDR2___
          Q   W   V   R   Q   A   P   G   K   G   L   E   W   V   A   V   I
103       CAG TGG GTC CGC CAG GCT CCA GGC AAG GGG CTG GAG TGG GTG GCA GTT ATA

          ____________________________________________________________
          W   Y   E   G   S   N   K   Y   Y   A   D   S   V   K   G   R   F
154       TGG TAT GAA GGA AGT AAT AAA TAC TAT GCA GAC TCC GTG AAG GGC CGA TTC

          T   I   S   R   E   N   S   K   N   T   L   Y   L   Q   M   N   S
205       ACC ATC TCC AGA GAA AAT TCC AAG AAC ACG CTG TAT CTG CAA ATG AAC AGC

                                                            _CDR3_________
          L   R   A   E   D   T   A   V   Y   Y   C   A   R   G   G   L   M
256       CTG AGA GCC GAG GAC ACG GCT GTG TAT TAC TGT GCG AGA GGC GGT CTT ATG

          ____________________________________________
          V   R   G   L   F   Y   Y   G   M   D   V   W   G   Q   G   T   T
307       GTT CGG GGT CTC TTC TAC TAC GGT ATG GAC GTC TGG GGC CAA GGG ACC ACG

          V   T   V   S   S
358       GTC ACC GTC TCC TCA
```

Figura 7A

TAVOLA XIV

Anti-GITR 8A6, VK (hKappa)
segmento V: L18
segmento J: JK2

```
          A   I   Q   L   T   Q   S   P   S   S   L   S   A   S   V   G   D
1     GCC ATC CAG TTG ACC CAG TCT CCA TCC TCC CTG TCT GCA TCT GTA GGA GAC

                                  _CDR1_____________________________________
          R   V   T   I   T   C   R   A   S   Q   G   I   S   S   A   L   A
52    AGA GTC ACC ATC ACT TGC CGG GCA AGT CAG GGC ATT AGC AGT GCT TTA GCC

                                                                  _CDR2____
          W   Y   Q   Q   K   P   G   K   A   P   K   F   L   I   Y   D   A
103   TGG TAT CAG CAG AAA CCA GGG AAA GCT CCT AAG TTC CTG ATC TAT GAT GCC

          ____________________
          S   S   L   E   S   G   V   P   S   R   F   S   G   S   G   S   G
154   TCC AGT TTG GAA AGT GGG GTC CCA TCA AGG TTC AGC GGC AGT GGA TCT GGG

          T   D   F   T   L   T   I   S   S   L   Q   P   E   D   F   A   T
205   ACA GAT TTC ACT CTC ACC ATC AGC AGC CTG CAG CCT GAA GAT TTT GCA ACT

                      _CDR3_____________________________
          Y   Y   C   Q   Q   F   N   S   Y   P   Y   T   F   G   Q   G   T
256   TAT TAC TGT CAA CAG TTT AAT AGT TAC CCG TAC ACT TTT GGC CAG GGG ACC

          K   L   E   I   K
307   AAG CTG GAG ATC AAA
```

Figura 7B

TAVOLA XV

Anti-GITR 9G7, VH (hIgG4)

segmento V: 3-15
segmento D: 3-10
segmento J: JH6b

```
          E   V   Q   L   V   E   S   G   G   G   L   V   K   P   G   G   S
1         GAG GTG CAG CTG GTG GAG TCT GGG GGA GGC TTA GTA AAG CCT GGG GGG TCC

                                                        _CDR1_____________
          L   R   L   S   C   A   A   S   G   F   T   F   S   T   V   W   M
52        CTT AGA CTC TCC TGT GCA GCC TCT GGA TTC ACT TTC AGT ACC GTC TGG ATG

____                                                                _CDR2____
          S   W   V   R   Q   A   P   G   K   G   L   E   W   V   G   R   I
103       AGC TGG GTC CGC CAG GCT CCA GGG AAG GGG CTG GAG TGG GTT GGC CGT ATT

_____________________________________________________________________________
          K   S   K   T   D   G   G   T   T   D   Y   A   A   P   V   K   G
154       AAA AGC AAA ACT GAT GGT GGG ACA ACA GAC TAC GCT GCA CCC GTG AAA GGC

          R   F   T   I   S   R   D   D   S   K   N   T   L   Y   L   Q   M
205       AGA TTC ACC ATC TCA AGA GAT GAT TCA AAA AAC ACG CTG TAT CTG CAA ATG

                                                                _CDR3____
          N   S   L   H   T   E   D   T   A   V   Y   Y   C   T   T   G   Q
256       AAC AGC CTG CAC ACC GAG GAC ACA GCC GTG TAT TAC TGT ACC ACA GGG CAG

_____________________________________________________
          L   I   P   Y   S   Y   Y   Y   G   M   D   V   W   G   Q   G   T
307       CTG ATC CCT TAC TCC TAC TAC TAC GGT ATG GAC GTC TGG GGC CAA GGG ACC

          S   V   T   V   S   S
358       TCG GTC ACC GTC TCC TCA
```

Figura 8A

TAVOLA XVI

Anti-GITR 9G7, VK1 (hKappa)
segmento V: A27
segmento J: JK1

```
E   I   V   L   T   Q   S   P   G   T   L   S   L   S   P   G   E
1       GAA ATT GTG TTG ACG CAG TCT CCA GGC ACC CTG TCT TTG TCT CCA GGG GAA

                                _CDR1_____________________________________
        R   A   T   L   S   C   R   A   S   Q   S   V   S   S   S   Y   L
52      AGA GCC ACC CTC TCC TGC AGG GCC AGT CAG AGT GTT AGC AGC AGC TAC TTA

        ___                                                         _CDR2
        A   W   Y   Q   Q   K   P   G   Q   A   P   R   L   L   I   Y   G
103     GCC TGG TAC CAG CAG AAA CCT GGC CAG GCT CCC AGG CTC CTC ATC TAT GGT

        _____________________
        A   S   S   R   A   T   G   I   P   D   R   F   S   G   S   G   S
154     GCA TCC AGC AGG GCC ACT GGC ATC CCA GAC AGG TTC AGT GGC AGT GGG TCT

        G   T   D   F   T   L   T   I   S   R   L   E   P   E   D   F   A
205     GGG ACA GAC TTC ACT CTC ACC ATC AGC AGA CTG GAG CCT GAA GAT TTT GCA

                        _CDR3_____________________________
        V   Y   Y   C   Q   Q   Y   G   S   S   P   W   T   F   G   Q   G
256     GTG TAT TAC TGT CAG CAG TAT GGT AGC TCA CCG TGG ACG TTC GGC CAA GGG

        T   K   V   E   I   K
307     ACC AAG GTG GAA ATC AAA
```

Figura 8B

TAVOLA XVII

Anti-GITR 9G7, VK2 (hKappa)
segmento V: A27
segmento J: JK5

```
          E   I   V   L   T   Q   S   P   G   T   L   S   L   S   P   G   E
1         GAA ATT GTG TTG ACG CAG TCT CCA GGC ACC CTG TCT TTG TCT CCA GGG GAA

                                  _CDR1_____________________________________
          R   A   T   L   S   C   R   A   S   Q   S   V   T   S   S   Y   L
52        AGA GCC ACC CTC TCC TGC AGG GCC AGT CAG AGT GTT ACC AGC AGC TAC TTA

          ___                                                           _CDR2
          A   W   Y   Q   Q   K   P   G   Q   A   P   R   L   L   I   Y   G
103       GCC TGG TAC CAG CAG AAA CCT GGC CAG GCT CCC AGG CTC CTC ATC TAT GGT

          ____________________
          A   S   S   R   A   T   G   I   P   E   R   F   S   G   S   G   S
154       GCA TCC AGC AGG GCC ACT GGC ATC CCA GAG AGG TTC AGT GGC AGT GGG TCT

          G   T   D   F   T   L   T   I   S   R   L   E   P   E   D   F   A
205       GGG ACA GAC TTC ACT CTC ACC ATC AGC AGA CTG GAG CCT GAA GAT TTT GCA

                      _CDR3_____________________________
          V   Y   Y   C   Q   Q   Y   G   S   S   P   I   T   F   G   Q   G
256       GTG TAT TAC TGT CAG CAG TAT GGT AGC TCA CCG ATC ACC TTC GGC CAA GGG

          T   R   L   E   I   K
307       ACA CGA CTG GAG ATT AAA
```

Figura 8C

TAVOLA XVIII

Anti-GITR 14E3, VH (hIgG1)

segmento V: 4-34
segmento J: JH3b

```
        Q   V   Q   L   Q   Q   W   G   A   G   L   L   K   P   S   E   T
1       CAG GTG CAG CTA CAG CAG TGG GGC GCA GGA CTG TTG AAG CCT TCG GAG ACC

                                                        _CDR1___________
        L   S   L   T   C   A   V   Y   G   G   S   F   S   G   Y   Y   W
52      CTG TCC CTC ACC TGC GCT GTC TAT GGT GGG TCC TTC AGT GGT TAC TAC TGG

        ___                                                     _CDR2___
        S   W   I   R   Q   P   P   G   K   G   L   E   W   I   G   E   I
103     AGC TGG ATC CGC CAG CCC CCA GGG AAG GGG CTG GAG TGG ATT GGA GAA ATC

        ____________________________________________________________
        N   H   S   G   N   T   Y   Y   N   P   S   L   K   S   R   V   T
154     AAT CAT AGT GGA AAC ACC TAC TAC AAC CCG TCC CTC AAG AGT CGC GTC ACC

        I   S   V   D   T   S   K   N   Q   L   S   L   K   L   S   S   V
205     ATA TCA GTA GAC ACG TCC AAG AAC CAG TTA TCC CTG AAG CTG AGC TCT GTG

                                                        _CDR3___________
        T   A   A   D   T   A   V   Y   Y   C   A   R   F   G   S   N   D
256     ACC GCC GCG GAC ACG GCT GTG TAT TAC TGT GCG AGA TTT GGG AGT AAT GAT

        ________________
        A   F   D   I   W   G   Q   G   T   M   V   T   V   S   S
307     GCT TTT GAT ATC TGG GGC CAA GGG ACA ATG GTC ACC GTC TCT TCA
```

Figura 9A

TAVOLA XIX

Anti-GITR 14E3, VK (hKappa)
segmento V: L15
segmento J: JK1

```
          D   I   Q   M   T   Q   S   P   S   S   L   S   A   S   V   G   D
1         GAC ATC CAG ATG ACC CAG TCT CCA TCC TCA CTG TCT GCA TCT GTA GGA GAC

                                  _CDR1_____________________________________
          R   V   T   I   T   C   R   A   S   Q   G   I   S   S   W   L   A
52        AGA GTC ACC ATC ACT TGT CGG GCG AGT CAG GGT ATT AGC AGC TGG TTA GCC

                                                                  _CDR2____
          W   Y   Q   Q   K   P   E   K   A   P   K   S   L   I   Y   A   A
103       TGG TAT CAG CAG AAA CCA GAG AAA GCC CCT AAG TCC CTG ATC TAT GCT GCA

          _____________________
          S   S   L   Q   S   G   V   P   S   R   F   S   G   S   G   S   G
154       TCC AGT TTG CAA AGT GGG GTC CCA TCA AGG TTC AGC GGC AGT GGA TCT GGG

          T   D   F   T   L   T   I   S   S   L   Q   P   E   D   F   A   T
205       ACA GAT TTC ACT CTC ACC ATC AGC AGC CTG CAG CCT GAA GAT TTT GCA ACT

                      _CDR3_____________________________
          Y   Y   C   Q   Q   Y   N   S   Y   P   P   T   F   G   Q   G   T
256       TAT TAC TGC CAA CAG TAT AAT AGT TAC CCT CCG ACG TTC GGC CAA GGG ACC

          K   V   E   I   K
307       AAG GTG GAA ATC AAA
```

Figura 9B

TAVOLA XX

Anti-GITR 19H8, VH (hIgG2)

segmento V: 3-33
segmento D: 3-10
segmento J: JH6b

```
          Q   V   Q   L   V   E   S   G   G   G   V   V   Q   P   G   R   S
1         CAG GTG CAG CTG GTG GAG TCT GGG GGA GGC GTG GTC CAG CCT GGG AGG TCC

                                                            _CDR1_________
          L   R   L   S   C   A   A   S   G   F   T   F   S   N   Y   G   M
52        CTG AGA CTC TCC TGT GCA GCG TCT GGA TTC ACC TTC AGT AAC TAT GGC ATG

          ___                                               _CDR2____
          H   W   V   R   Q   A   P   G   K   G   L   E   W   M   A   V   I
103       CAC TGG GTC CGC CAG GCT CCA GGC AAG GGG CTG GAG TGG ATG GCA GTT ATA

          ____________________________________________________________
          W   Y   G   G   S   N   K   F   Y   A   D   S   V   K   G   R   F
154       TGG TAT GGT GGA AGT AAT AAA TTC TAT GCA GAC TCC GTG AAG GGC CGA TTC

          T   I   S   R   D   N   S   K   N   S   L   S   L   Q   M   N   S
205       ACC ATC TCC AGA GAC AAT TCC AAG AAC TCG CTG TCT CTG CAA ATG AAC AGC

                                                            _CDR3_________
          L   R   A   E   D   T   A   V   Y   Y   C   A   R   G   G   A   M
256       CTG AGA GCC GAG GAC ACG GCT GTG TAT TAC TGT GCG AGA GGG GGG GCT ATG

          ____________________________________
          V   R   G   V   Y   Y   Y   G   M   D   V   W   G   Q   G   T   T
307       GTT CGG GGA GTC TAC TAC TAC GGT ATG GAC GTC TGG GGC CAA GGG ACC ACG

          V   T   V   S   S
358       GTC ACC GTC TCC TCA
```

Figura 10A

TAVOLA XXI

Anti-GITR 19H8, VK1 (hKappa)
segmento V: L18
segmento J: JK1

```
          A   I   Q   L   T   Q   S   P   S   S   L   S   A   S   V   G   D
1     GCC ATC CAG TTG ACC CAG TCT CCA TCC TCC CTG TCT GCA TCT GTA GGA GAC

                                _CDR1_____________________________________
          R   V   T   I   T   C   R   A   S   Q   G   I   S   S   A   L   A
52    AGA GTC ACC ATC ACT TGC CGG GCA AGT CAG GGC ATT AGC AGT GCT TTA GCC

                                                                _CDR2____
          W   Y   Q   Q   K   P   G   K   A   P   K   F   L   I   Y   D   A
103   TGG TAT CAG CAG AAA CCA GGG AAA GCT CCT AAG TTC CTG ATC TAT GAT GCC

          _____________________
          S   S   L   E   S   G   V   P   S   R   F   S   G   S   G   S   G
154   TCC AGT TTG GAA AGT GGG GTC CCA TCA AGG TTC AGC GGC AGT GGA TCT GGG

          T   D   F   T   L   T   I   S   S   L   Q   P   E   D   F   A   T
205   ACA GAT TTC ACT CTC ACC ATC AGC AGC CTG CAG CCT GAA GAT TTT GCA ACT

                        _CDR3_____________________________
          Y   Y   C   Q   Q   F   N   S   Y   P   Q   T   F   G   Q   G   T
256   TAT TAC TGT CAA CAG TTT AAT AGT TAC CCT CAG ACG TTC GGC CAA GGG ACC

          K   V   E   I   K
307   AAG GTG GAA ATC AAA
```

Figura 10B

TAVOLA XXII

Anti-GITR 19H8, VK2 (hKappa)
segmento V: L6
segmento J: JK4

```
          E   I   V   L   T   Q   S   P   A   T   L   S   L   S   P   G   E
1         GAA ATT GTG TTG ACA CAG TCT CCA GCC ACC CTG TCT TTG TCT CCA GGG GAA

                                  _CDR1_____________________________________
          R   A   T   L   S   C   R   A   S   Q   S   V   S   S   Y   L   A
52        AGA GCC ACC CTC TCC TGC AGG GCC AGT CAG AGT GTT AGC AGC TAC TTA GCC

                                                                  _CDR2____
          W   Y   Q   Q   K   P   G   Q   A   P   R   L   L   I   Y   D   A
103       TGG TAC CAA CAG AAA CCT GGC CAG GCT CCC AGG CTC CTC ATC TAT GAT GCA

          ____________________
          S   N   R   A   T   G   I   P   A   R   F   S   G   S   G   S   G
154       TCC AAC AGG GCC ACT GGC ATC CCA GCC AGG TTC AGT GGC AGT GGG TCT GGG

          T   D   F   T   L   T   I   S   S   L   E   P   E   D   F   A   V
205       ACA GAC TTC ACT CTC ACC ATC AGC AGC CTA GAG CCT GAA GAT TTT GCA GTT

                      _CDR3_____________________________
          Y   Y   C   Q   Q   R   S   N   W   P   L   T   F   G   G   G   T
256       TAT TAC TGT CAG CAG CGT AGC AAC TGG CCG CTC ACT TTC GGC GGA GGG ACC

          K   V   E   I   K
307       AAG GTG GAG ATC AAA
```

Figura 10C

TAVOLA XXIII

Anti-GITR 6G10, VH (hIgG2)

segmento V: 3-33
segmento D: 3-10
segmento J: JH6b

```
          Q   V   Q   L   V   E   S   G   G   D   V   V   Q   P   G   R   S
1         CAG GTG CAG CTG GTG GAG TCT GGG GGA GAC GTG GTC CAG CCT GGG AGG TCC

                                                              _CDR1_________
          L   R   L   S   C   A   A   S   G   F   T   F   S   T   Y   G   M
52        CTG AGA CTC TCC TGT GCA GCG TCT GGA TTC ACC TTC AGT ACC TAT GGC ATG

____                                                                  _CDR2___
          H   W   V   R   Q   A   P   G   K   G   L   E   W   V   A   V   T
103       CAC TGG GTC CGC CAG GCT CCA GGC AAG GGG CTG GAG TGG GTG GCA GTT ACA

_____________________________________________________________
          W   Y   A   G   S   N   K   F   Y   A   D   S   V   K   G   R   F
154       TGG TAT GCT GGA AGT AAT AAA TTT TAT GCA GAC TCC GTG AAG GGC CGA TTC

          T   I   S   R   D   N   S   K   N   T   L   Y   L   Q   M   N   S
205       ACC ATC TCC AGA GAC AAT TCC AAG AAC ACG CTG TAT CTG CAA ATG AAC AGC

                                                              _CDR3_________
          L   R   A   E   D   T   A   V   Y   Y   C   A   R   G   G   S   M
256       CTG AGA GCC GAG GAC ACG GCT GTG TAT TAC TGT GCG AGA GGA GGT AGT ATG

_____________________________________________
          V   R   G   L   Y   Y   Y   G   M   D   V   W   G   Q   G   T   T
307       GTT CGG GGA CTT TAT TAT TAC GGT ATG GAC GTC TGG GGC CAA GGG ACC ACG

          V   T   V   S   S
358       GTC ACC GTC TCC TCA
```

Figura 11A

TAVOLA XXIV

Anti-GITR 6G10, VK1 (hKappa)
segmento V: L18
segmento J: JK2

```
          A   I   Q   L   T   Q   S   P   S   S   L   S   A   S   V   G   D
1     GCC ATC CAG TTG ACC CAG TCT CCA TCC TCC CTG TCT GCA TCT GTA GGA GAC

                                  _CDR1_____________________________________
          R   V   T   I   T   C   R   A   S   Q   G   I   S   S   A   L   A
52    AGA GTC ACC ATC ACT TGC CGG GCA AGT CAG GGC ATT AGC AGT GCT TTA GCC

                                                                  _CDR2___
          W   Y   Q   Q   K   P   G   K   A   P   K   L   L   I   Y   D   A
103   TGG TAT CAG CAG AAA CCA GGG AAA GCT CCT AAG CTC CTG ATC TAT GAT GCC

          _____________________
          S   S   L   E   S   G   V   P   S   R   F   S   G   S   G   S   G
154   TCC AGT TTG GAA AGT GGG GTC CCA TCA AGG TTC AGC GGC AGT GGA TCT GGG

          T   D   F   T   L   T   I   S   S   L   Q   P   E   D   F   A   T
205   ACA GAT TTC ACT CTC ACC ATC AGC AGC CTG CAG CCT GAA GAT TTT GCA ACT

                      _CDR3_____________________________
          Y   Y   C   Q   Q   F   N   S   Y   P   Y   T   F   G   Q   G   T
256   TAT TAC TGT CAA CAG TTT AAT AGT TAC CCG TAC ACT TTT GGC CAG GGG ACC

          K   L   E   I   K
307   AAG CTG GAG ATC AAA
```

Figura 11B

TAVOLA XXV

Anti-GITR 28F3, VH (hIgG2)

```
3-33      Q  V  Q  L  V  E  S  G  G  G  V  V  Q  P  G  R  S  L  R  L  S  C  A
28F3, VH  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -

                                  _CDR1_____
3-33      A  S  G  F  T  F  S  S  Y  G  M  H  W  V  R  Q  A  P  G  K  G  L  E
28F3, VH  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -

                     _CDR2_____________________________________________
3-33      W  V  A  V  I  W  Y  D  G  S  N  K  Y  Y  A  D  S  V  K  G  R  F  T
28F3, VH  -  -  -  -  -  -  -  E  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -

3-33      I  S  R  D  N  S  K  N  T  L  Y  L  Q  M  N  S  L  R  A  E  D  T  A
28F3, VH  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -

                              _CDR3_____________________________________
3-33      V  Y  Y  C  A  R
3-10                        M  V  R  G
JH6                                    Y  Y  Y  G  M  D  V  W  G
28F3, VH  -  -  -  -  -  -  G  G  S  -  -  -  -  D  -  -  -  -  -  -  -  -  -

JH6       Q  G  T  T  V  T  V  S  S
28F3, VH  -  -  -  -  -  -  -  -  -
```

Figura 12

TAVOLA XXVI

Anti-GITR 28F3, VK (hKappa)

```
L18        A  I  Q  L  T  Q  S  P  S  S  L  S  A  S  V  G  D  R  V  T  I  T  C
28F3, VK   -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -

           _CDR1_____________________________
L18        R  A  S  Q  G  I  S  S  A  L  A  W  Y  Q  Q  K  P  G  K  A  P  K  L
28F3, VK   -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -

                    _CDR2_____________
L18        L  I  Y  D  A  S  S  L  E  S  G  V  P  S  R  F  S  G  S  G  S  G  T
28F3, VK   -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -

                                                        _CDR3_____
L18        D  F  T  L  T  I  S  S  L  Q  P  E  D  F  A  T  Y  Y  C  Q  Q  F  N
28F3, VK   -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -

           _____________________
L18        N  Y
JK2                  Y  T  F  G  Q  G  T  K  L  E  I  K
28F3, VK   S  -  P  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -
```

Figura 13

TAVOLA XXVII

Anti-GITR 18E10, VH (hIgG2)

```
3-33        Q  V  Q  L  V  E  S  G  G  G  V  V  Q  P  G  R  S  L  R  L  S  C  A
18E10, VH   -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -

                                  _CDR1_____
3-33        A  S  G  F  T  F  S  S  Y  G  M  H  W  V  R  Q  A  P  G  K  G  L  E
18E10, VH   -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -

                     _CDR2_____________________________________________
3-33        W  V  A  V  I  W  Y  D  G  S  N  K  Y  Y  A  D  S  V  K  G  R  F  T
18E10, VH   -  -  -  -  -  -  -  A  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -

3-33        I  S  R  D  N  S  K  N  T  L  Y  L  Q  M  N  S  L  R  A  E  D  T  A
18E10, VH   -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -

                              _CDR3_____________________________________
3-33        V  Y  Y  C  A  R
6-19                          I  A  V  A
JH6                                        Y  Y  G  M  D  V  W  G  Q
18E10, VH   -  -  -  -  -  -  G  G  R  -  -  -  -  F  -  -  S  -  -  -  -  -  -

JH6         G  T  T  V  T  V  S  S
18E10, VH   -  -  -  -  -  -  -  -
```

Figura 14

TAVOLA XXVIII

Anti-GITR 18E10, VK (hKappa)

```
L15          D  I  Q  M  T  Q  S  P  S  S  L  S  A  S  V  G  D  R  V  T  I  T  C
18E10, VK    -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -

             _CDR1_____________________________
L15          R  A  S  Q  G  I  S  S  W  L  A  W  Y  Q  Q  K  P  E  K  A  P  K  S
18E10, VK    -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -

                      _CDR2_____________
L15          L  I  Y  A  A  S  S  L  Q  S  G  V  P  S  R  F  S  G  S  G  S  G  T
18E10, VK    -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -

                                                                  _CDR3_____
L15          D  F  T  L  T  I  S  S  L  Q  P  E  D  F  A  T  Y  Y  C  Q  Q  Y  N
18E10, VK    -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -

             ___________________
L15          S  Y
JK2                  Y  T  F  G  Q  G  T  K  L  E  I  K
18E10, VK    -  -  P  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -
```

Figura 15

TAVOLA XXIX

Anti-GITR 19D3, VH (hIgG2)

```
3-33      Q V Q L V E S G G G V V Q P G R S L R L S C A
19D3, VH  - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -

                                _CDR1_____
3-33      A S G F T F S S Y G M H W V R Q A P G K G L E
19D3, VH  - - - - - - - - - - F - - - - - - - - - - -

                    _CDR2_____________________________________
3-33      W V A V I W Y D G S N K Y Y A D S V K G R F T
19D3, VH  - - - - - - - A - - - - F - - - - - - - - -

3-33      I S R D N S K N T L Y L Q M N S L R A E D T A
19D3, VH  - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -

                          _CDR3_____________________________
3-33      V Y Y C A R
3-16                                D Y
JH6                                   Y Y Y Y Y G M D V W G Q
19D3, VH  - - - - - - G G Q L - - - - - - V - - - - - -

JH6       G T T V T V S S
19D3, VH  - - - - - - - -
```

Figura 16

TAVOLA XXX

Anti-GITR 19D3, VK (hKappa)

```
L15        D  I  Q  M  T  Q  S  P  S  S  L  S  A  S  V  G  D  R  V  T  I  T  C
19D3, VK   -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -

           _CDR1_____________________________
L15        R  A  S  Q  G  I  S  S  W  L  A  W  Y  Q  Q  K  P  E  K  A  P  K  S
19D3, VK   -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -

                    _CDR2_____________
L15        L  I  Y  A  A  S  S  L  Q  S  G  V  P  S  R  F  S  G  S  G  S  G  T
19D3, VK   -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -

                                                                  _CDR3_____
L15        D  F  T  L  T  I  S  S  L  Q  P  E  D  F  A  T  Y  Y  C  Q  Q  Y  N
19D3, VK   -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -

           _____________________
L15        S  Y
JK2              Y  T  F  G  Q  G  T  K  L  E  I  K
19D3, VK   -  -  P  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -
```

Figura 17

TAVOLA XXXI

Anti-GITR 3C3, VH (hIgG1)

4-34	Q	V	Q	L	Q	Q	W	G	A	G	L	L	K	P	S	E	T	L	S	L	T	C	A
INPUT	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
									_CDR1_____														
4-34	V	Y	G	G	S	F	S	G	Y	Y	W	S	W	I	R	Q	P	P	G	K	G	L	E
INPUT	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	T	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
				_CDR2_____																			
4-34	W	I	G	E	I	N	H	S	G	S	T	N	Y	N	P	S	L	K	S	R	V	T	I
INPUT	–	–	–	K	–	–	–	–	–	N	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
4-34	S	V	D	T	S	K	N	Q	F	S	L	K	L	S	S	V	T	A	A	D	T	A	V
INPUT	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
						_CDR3_____																	
4-34	Y	Y	C	A	R																		
JH3										D	A	F	D	I	W	G	Q	G	T	M	V	T	V
INPUT	–	–	–	–	–	L	G	A	F	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
JH3	S	S																					
INPUT	–	–																					

Figura 18

TAVOLA XXXII

Anti-GITR 3C3, VK1 (hKappa)

```
L15     D  I  Q  M  T  Q  S  P  S  S  L  S  A  S  V  G  D  R  V  T  I  T  C
INPUT   -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -

          _CDR1_____________________________
L15     R  A  S  Q  G  I  S  S  W  L  A  W  Y  Q  Q  K  P  E  K  A  P  K  S
INPUT   -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -

                   _CDR2_____________
L15     L  I  Y  A  A  S  S  L  Q  S  G  V  P  S  R  F  S  G  S  G  S  G  T
INPUT   -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -

                                                        _CDR3_____
L15     D  F  T  L  T  I  S  S  L  Q  P  E  D  F  A  T  Y  Y  C  Q  Q  Y  N
INPUT   -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -

        ___________________
L15     S  Y
JK2               Y  T  F  G  Q  G  T  K  L  E  I  K
INPUT   -  -  P   -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -
```

Figura 19A

TAVOLA XXXIII

Anti-GITR 3C3, VK2 (hKappa)

L20	E	I	V	L	T	Q	S	P	A	T	L	S	L	S	P	G	E	R	A	T	L	S	C
INPUT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	_CDR1_____																						
L20	R	A	S	Q	G	V	S	S	Y	L	A	W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L
INPUT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
				_CDR2_____																			
L20	L	I	Y	D	A	S	N	R	A	T	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	P	G	T
INPUT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
																				_CDR3_____			
L20	D	F	T	L	T	I	S	S	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	Q	Q	R	S
INPUT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	_____																						
L20	N	W																					
JK2				T	F	G	Q	G	T	K	L	E	I	K									
INPUT	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-									

Figura 19B

TAVOLA XXXIV

Anti-GITR 2G6, VH (hIgG2)

3-33	Q	V	Q	L	V	E	S	G	G	G	V	V	Q	P	G	R	S	L	R	L	S	C	A
INPUT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	G	-	-	-	-	-	-	-
								_CDR1_____															
3-33	A	S	G	F	T	F	S	S	Y	G	M	H	W	V	R	Q	A	P	G	K	G	L	E
INPUT	-	-	-	-	I	L	-	D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
				_CDR2_____																			
3-33	W	V	A	V	I	W	Y	D	G	S	N	K	Y	Y	A	D	S	V	K	G	R	F	T
INPUT	-	-	T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	F	-	V	-	-	-	-	-	-	-	-
3-33	I	S	R	D	N	S	K	N	T	L	Y	L	Q	M	N	S	L	R	A	E	D	T	A
INPUT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	V	-	-	-	-
							_CDR3_____																
3-33	V	Y	Y	C	A	R																	
JH6																Y	Y	G	M	D	V	W	G
INPUT	-	-	-	-	-	-	G	G	R	L	A	T	G	H	F	-	-	V	-	-	-	-	-
JH6	Q	G	T	T	V	T	V	S	S														
INPUT	-	-	-	-	-	-	-	-	-														

Figura 20

TAVOLA XXXV

Anti-GITR 2G6, VK (hKappa)

L15	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C
INPUT	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	_CDR1_____																						
L15	R	A	S	Q	G	I	S	S	W	L	A	W	Y	Q	Q	K	P	E	K	A	P	K	S
INPUT	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
				_CDR2_____																			
L15	L	I	Y	A	A	S	S	L	Q	S	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	T
INPUT	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
																				_CDR3_____			
L15	D	F	T	L	T	I	S	S	L	Q	P	E	D	F	A	T	Y	Y	C	Q	Q	Y	N
INPUT	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	_____																						
L15	S	Y																					
JK2				Y	T	F	G	Q	G	T	K	L	E	I	K								
INPUT	–	–	P	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–								

Figura 21

TAVOLA XXXVI

Anti-GITR 8A6, VH (hIgG2)

3-33	Q	V	Q	L	V	E	S	G	G	G	V	V	Q	P	G	R	S	L	R	L	S	C	A
INPUT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	T
									_CDR1_____														
3-33	A	S	G	F	T	F	S	S	Y	G	M	H	W	V	R	Q	A	P	G	K	G	L	E
INPUT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Q	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
				_CDR2_____																			
3-33	W	V	A	V	I	W	Y	D	G	S	N	K	Y	Y	A	D	S	V	K	G	R	F	T
INPUT	-	-	-	-	-	-	-	E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3-33	I	S	R	D	N	S	K	N	T	L	Y	L	Q	M	N	S	L	R	A	E	D	T	A
INPUT	-	-	-	E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
							_CDR3_____																
3-33	V	Y	Y	C	A	R																	
3-10										M	V	R	G										
JH6																Y	Y	G	M	D	V	W	G
INPUT	-	-	-	-	-	-	G	G	L	-	-	-	-	L	F	-	-	-	-	-	-	-	-
JH6	Q	G	T	T	V	T	V	S	S														
INPUT	-	-	-	-	-	-	-	-	-														

Figura 22

TAVOLA XXXVII

Anti-GITR 8A6, VK (hKappa)

```
L18      A  I  Q  L  T  Q  S  P  S  S  L  S  A  S  V  G  D  R  V  T  I  T  C
INPUT    -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -

         _CDR1_____________________________
L18      R  A  S  Q  G  I  S  S  A  L  A  W  Y  Q  Q  K  P  G  K  A  P  K  L
INPUT    -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  F

                  _CDR2_____________
L18      L  I  Y  D  A  S  S  L  E  S  G  V  P  S  R  F  S  G  S  G  S  G  T
INPUT    -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -

                                                                  _CDR3_____
L18      D  F  T  L  T  I  S  S  L  Q  P  E  D  F  A  T  Y  Y  C  Q  Q  F  N
INPUT    -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -

         ___________
L18      N  Y
JK2                  Y  T  F  G  Q  G  T  K  L  E  I  K
INPUT    S  -  P     -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -
```

Figura 23

TAVOLA XXXVIII

Anti-GITR 9G7, VH (hIgG4)

3-15	E	V	Q	L	V	E	S	G	G	G	L	V	K	P	G	G	S	L	R	L	S	C	A
INPUT	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
								_CDR1_____															
3-15	A	S	G	F	T	F	S	N	A	W	M	S	W	V	R	Q	A	P	G	K	G	L	E
INPUT	–	–	–	–	–	–	–	T	V	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
				_CDR2_____																			
3-15	W	V	G	R	I	K	S	K	T	D	G	G	T	T	D	Y	A	A	P	V	K	G	R
INPUT	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
3-15	F	T	I	S	R	D	D	S	K	N	T	L	Y	L	Q	M	N	S	L	K	T	E	D
INPUT	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	H	–	–	–
									_CDR3_____														
3-15	T	A	V	Y	Y	C	T	T															
3-10																Y	Y	Y	G				
JH6														Y	Y	Y	Y	Y	G	M	D	V	W
INPUT	–	–	–	–	–	–	–	–	G	Q	L	I	P	–	S	–	–	–	–	–	–	–	–
JH6	G	Q	G	T	T	V	T	V	S	S													
INPUT	–	–	–	–	S	–	–	–	–	–													

Figura 24

TAVOLA XXXIX

Anti-GITR 9G7, VK1 (hKappa)

A27	E	I	V	L	T	Q	S	P	G	T	L	S	L	S	P	G	E	R	A	T	L	S	C
INPUT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	_CDR1_____																						
A27	R	A	S	Q	S	V	S	S	S	Y	L	A	W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R
INPUT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
					_CDR2_____																		
A27	L	L	I	Y	G	A	S	S	R	A	T	G	I	P	D	R	F	S	G	S	G	S	G
INPUT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
																					_CDR3__		
A27	T	D	F	T	L	T	I	S	R	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	Q	Q	Y
INPUT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	_____																						
A27	G	S	S																				
JK1					W	T	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K							
INPUT	-	-	-	P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-							

Figura 25A

TAVOLA XL

Anti-GITR 9G7, VK2 (hKappa)

A27	E	I	V	L	T	Q	S	P	G	T	L	S	L	S	P	G	E	R	A	T	L	S	C
INPUT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	_CDR1_____																						
A27	R	A	S	Q	S	V	S	S	S	Y	L	A	W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R
INPUT	-	-	-	-	-	-	T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
					_CDR2_____																		
A27	L	L	I	Y	G	A	S	S	R	A	T	G	I	P	D	R	F	S	G	S	G	S	G
INPUT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E	-	-	-	-	-	-	-	-
																					_CDR3__		
A27	T	D	F	T	L	T	I	S	R	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	Q	Q	Y
INPUT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	_____																						
A27	G	S	S																				
JK5					I	T	F	G	Q	G	T	R	L	E	I	K							
INPUT	-	-	-	P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-							

Figura 25B

TAVOLA XLI

Anti-GITR 14E3, VH (hIgG1)

4-34	Q	V	Q	L	Q	Q	W	G	A	G	L	L	K	P	S	E	T	L	S	L	T	C	A
INPUT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
								_CDR1_____															
4-34	V	Y	G	G	S	F	S	G	Y	Y	W	S	W	I	R	Q	P	P	G	K	G	L	E
INPUT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			_CDR2_____																				
4-34	W	I	G	E	I	N	H	S	G	S	T	N	Y	N	P	S	L	K	S	R	V	T	I
INPUT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	N	-	Y	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4-34	S	V	D	T	S	K	N	Q	F	S	L	K	L	S	S	V	T	A	A	D	T	A	V
INPUT	-	-	-	-	-	-	-	-	L	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
						_CDR3_____																	
4-34	Y	Y	C	A	R																		
JH3										D	A	F	D	I	W	G	Q	G	T	M	V	T	V
INPUT	-	-	-	-	-	F	G	S	N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
JH3	S	S																					
INPUT	-	-																					

Figura 26

TAVOLA XLII

Anti-GITR 14E3, VK (hKappa)

L15	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C
INPUT	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	_CDR1_____																						
L15	R	A	S	Q	G	I	S	S	W	L	A	W	Y	Q	Q	K	P	E	K	A	P	K	S
INPUT	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
				_CDR2_____																			
L15	L	I	Y	A	A	S	S	L	Q	S	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	T
INPUT	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
																				_CDR3_____			
L15	D	F	T	L	T	I	S	S	L	Q	P	E	D	F	A	T	Y	Y	C	Q	Q	Y	N
INPUT	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	_____																						
L15	S	Y																					
JK1					T	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K								
INPUT	–	–	P	P	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–								

Figura 27

TAVOLA XLIII

Anti-GITR 19H8, VH (hIgG2)

3-33	Q	V	Q	L	V	E	S	G	G	G	V	V	Q	P	G	R	S	L	R	L	S	C	A
INPUT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
								_CDR1_____															
3-33	A	S	G	F	T	F	S	S	Y	G	M	H	W	V	R	Q	A	P	G	K	G	L	E
INPUT	-	-	-	-	-	-	-	N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			_CDR2_____																				
3-33	W	V	A	V	I	W	Y	D	G	S	N	K	Y	Y	A	D	S	V	K	G	R	F	T
INPUT	-	M	-	-	-	-	-	G	-	-	-	-	F	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3-33	I	S	R	D	N	S	K	N	T	L	Y	L	Q	M	N	S	L	R	A	E	D	T	A
INPUT	-	-	-	-	-	-	-	-	S	-	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
								_CDR3_____															
3-33	V	Y	Y	C	A	R																	
3-10															Y	Y	Y						
JH6															Y	Y	Y	G	M	D	V	W	G
INPUT	-	-	-	-	-	-	G	G	A	M	V	R	G	V	-	-	-	-	-	-	-	-	-
JH6	Q	G	T	T	V	T	V	S	S														
INPUT	-	-	-	-	-	-	-	-	-														

Figura 28

TAVOLA XLIV

Anti-GITR 19H8, VK1 (hKappa)

L18	A	I	Q	L	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C
INPUT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	_CDR1_____																						
L18	R	A	S	Q	G	I	S	S	A	L	A	W	Y	Q	Q	K	P	G	K	A	P	K	L
INPUT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	F
				_CDR2_____																			
L18	L	I	Y	D	A	S	S	L	E	S	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	T
INPUT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
																				_CDR3_____			
L18	D	F	T	L	T	I	S	S	L	Q	P	E	D	F	A	T	Y	Y	C	Q	Q	F	N
INPUT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	_____																						
L18	N	Y																					
JK1					T	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K								
INPUT	S	-	P	Q	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-								

Figura 29A

TAVOLA XLV

Anti-GITR 19H8, VK2 (hKappa)

L6	E	I	V	L	T	Q	S	P	A	T	L	S	L	S	P	G	E	R	A	T	L	S	C
INPUT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	_CDR1_____																						
L6	R	A	S	Q	S	V	S	S	Y	L	A	W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L
INPUT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
				_CDR2_____																			
L6	L	I	Y	D	A	S	N	R	A	T	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	S	G	T
INPUT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
																				_CDR3_____			
L6	D	F	T	L	T	I	S	S	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	Q	Q	R	S
INPUT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	_____																						
L6	N	W																					
JK4				L	T	F	G	G	G	T	K	V	E	I	K								
INPUT	-	-	P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-								

Figura 29B

TAVOLA XLVI

Anti-GITR 6G10, VH (hIgG2)

3-33	Q	V	Q	L	V	E	S	G	G	G	V	V	Q	P	G	R	S	L	R	L	S	C	A
INPUT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
									_CDR1_____														
3-33	A	S	G	F	T	F	S	S	Y	G	M	H	W	V	R	Q	A	P	G	K	G	L	E
INPUT	-	-	-	-	-	-	-	T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
				_CDR2_____																			
3-33	W	V	A	V	I	W	Y	D	G	S	N	K	Y	Y	A	D	S	V	K	G	R	F	T
INPUT	-	-	-	-	T	-	-	A	-	-	-	-	F	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3-33	I	S	R	D	N	S	K	N	T	L	Y	L	Q	M	N	S	L	R	A	E	D	T	A
INPUT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
							_CDR3_____																
3-33	V	Y	Y	C	A	R																	
3-10										M	V	R	G										
JH6														Y	Y	Y	G	M	D	V	W	G	
INPUT	-	-	-	-	-	-	G	G	S	-	-	-	-	L	-	-	-	-	-	-	-	-	-
JH6	Q	G	T	T	V	T	V	S	S														
INPUT	-	-	-	-	-	-	-	-	-														

Figura 30

TAVOLA XLVII

Anti-GITR 6G10, VK1 (hKappa)

L18	A	I	Q	L	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C
INPUT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	_CDR1_____																						
L18	R	A	S	Q	G	I	S	S	A	L	A	W	Y	Q	Q	K	P	G	K	A	P	K	L
INPUT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
				_CDR2_____																			
L18	L	I	Y	D	A	S	S	L	E	S	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	T
INPUT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
																				_CDR3_____			
L18	D	F	T	L	T	I	S	S	L	Q	P	E	D	F	A	T	Y	Y	C	Q	Q	F	N
INPUT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	_____																						
L18	N	Y																					
JK2				Y	T	F	G	Q	G	T	K	L	E	I	K								
INPUT	S	-	P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-								

Figura 31

TAVOLA XLVIII

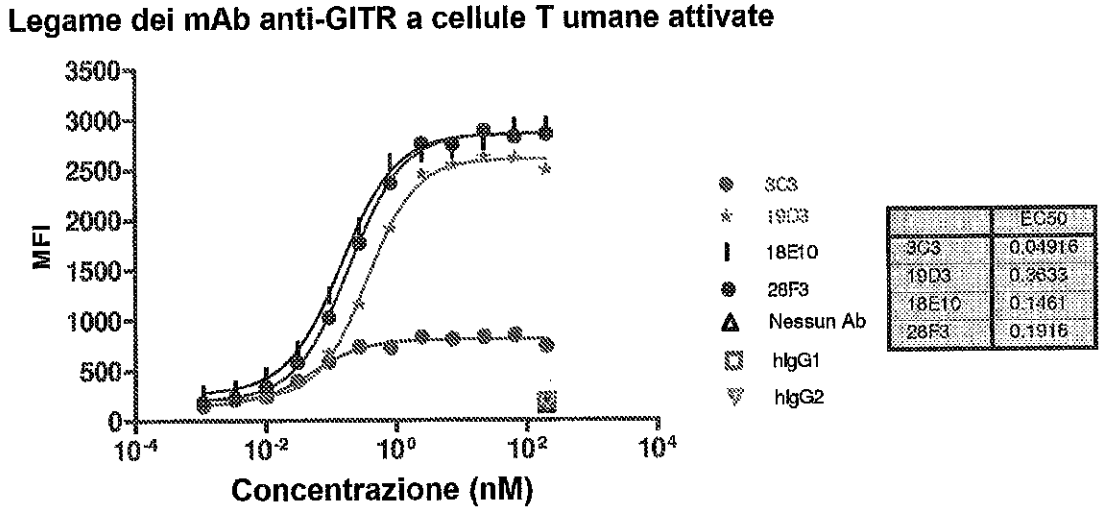
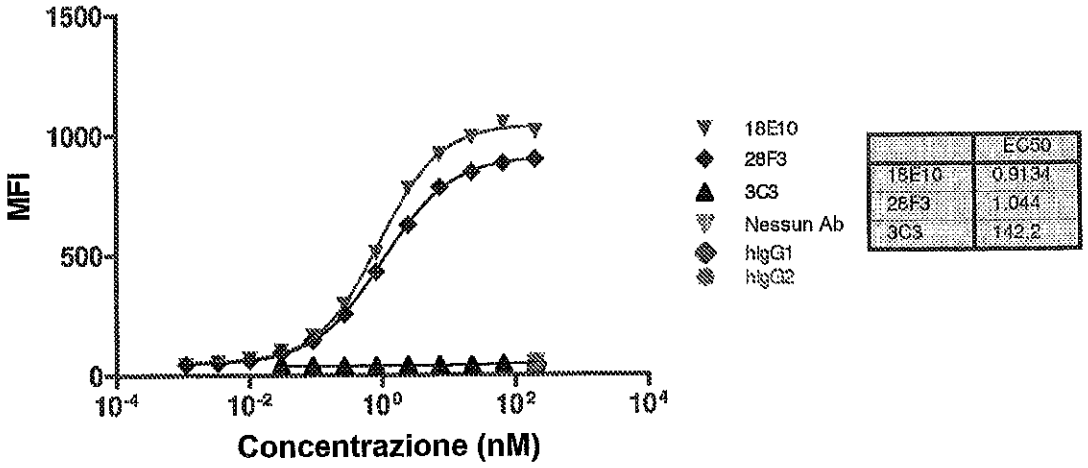


Figura 32

TAVOLA XLIX

Legame dei mAb anti-GITR a cellule T di cyno attivate

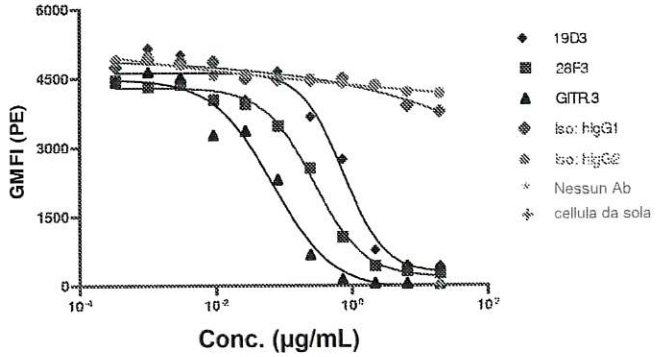


	EC50
18E10	0.9134
28F3	1.044
3C3	142.2

Figura 33

TAVOLA L

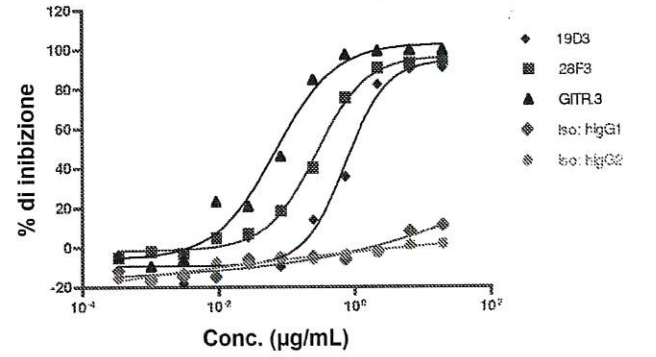
Gli HuMab anti-GITR bloccano il legame di GITRL alle cellule GITRL-3A9



	EC50
19D3	0.7546
28F3	0.2783
GITR.3	0.06934
Iso: hIgG1	~ 1.973e+013
Iso: hIgG2	~ 0.0

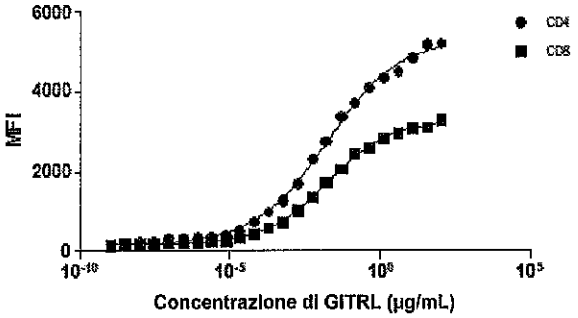
Figura 34A

Gli HuMab anti-GITR inibiscono il legame di GITRL alle cellule GITRL-3A9



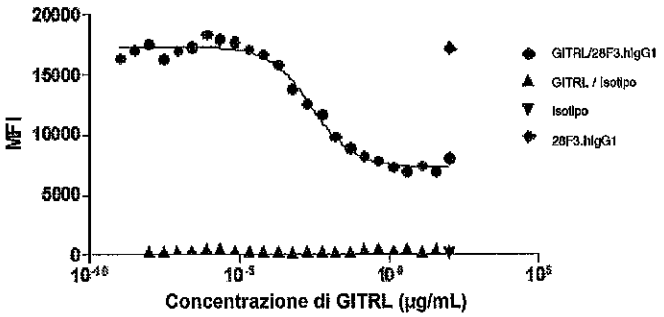
	EC50
19D3	0.7546
28F3	0.2783
GITR.3	0.06935
Iso: hIgG1	~ 1.999e+013
Iso: hIgG2	~ 0.0

Figura 34B



	CD4	CD8
IC50	0.01605	0.01635

Figura 34C



	GITRL/28F3.hIgG1
IC50	0.002440

Figura 34D

TAVOLA LII

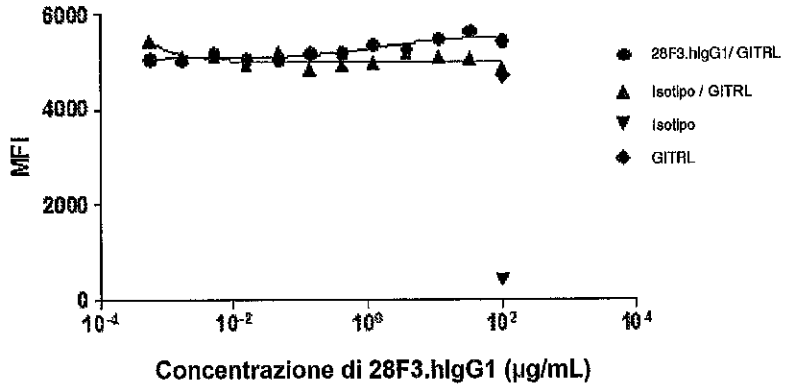
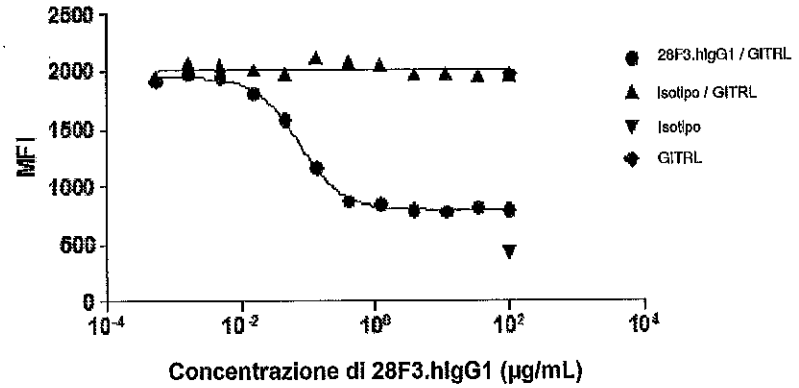


Figura 34E



	28F3.hIgG1 / GITRL
IC50	0.07575

Figura 34F

TAVOLA LIII

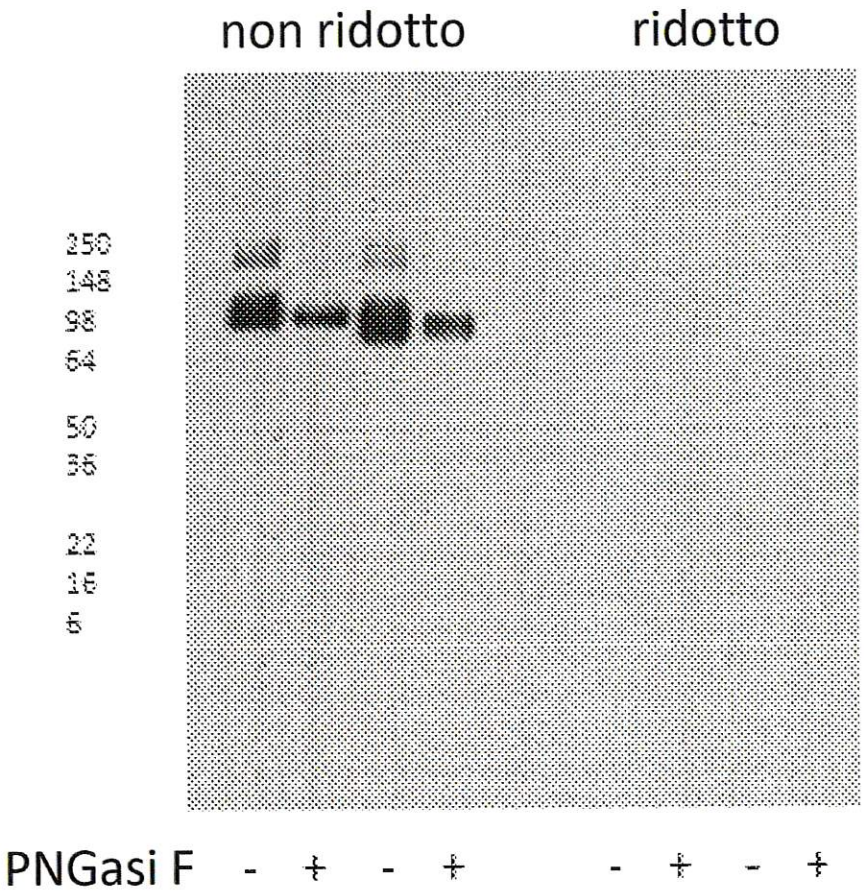
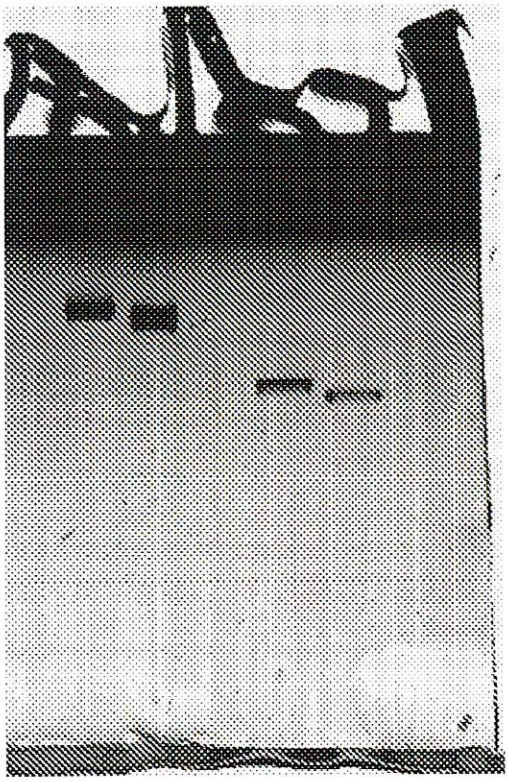


Figura 35A

TAVOLA LIV

non ridotto ridotto



PNGasi F - + - +

Figura 35B

TAVOLA LV

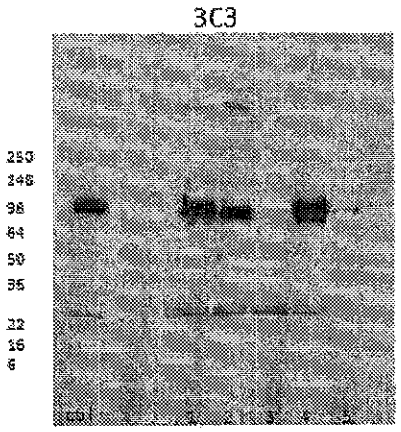


Figura 36A

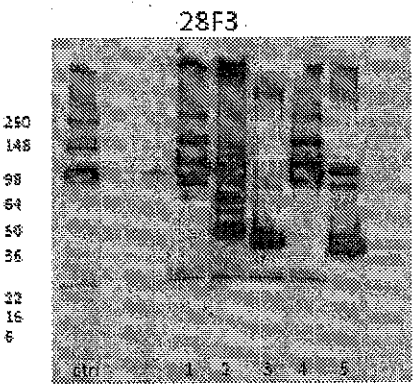


Figura 36B

TAVOLA LVI

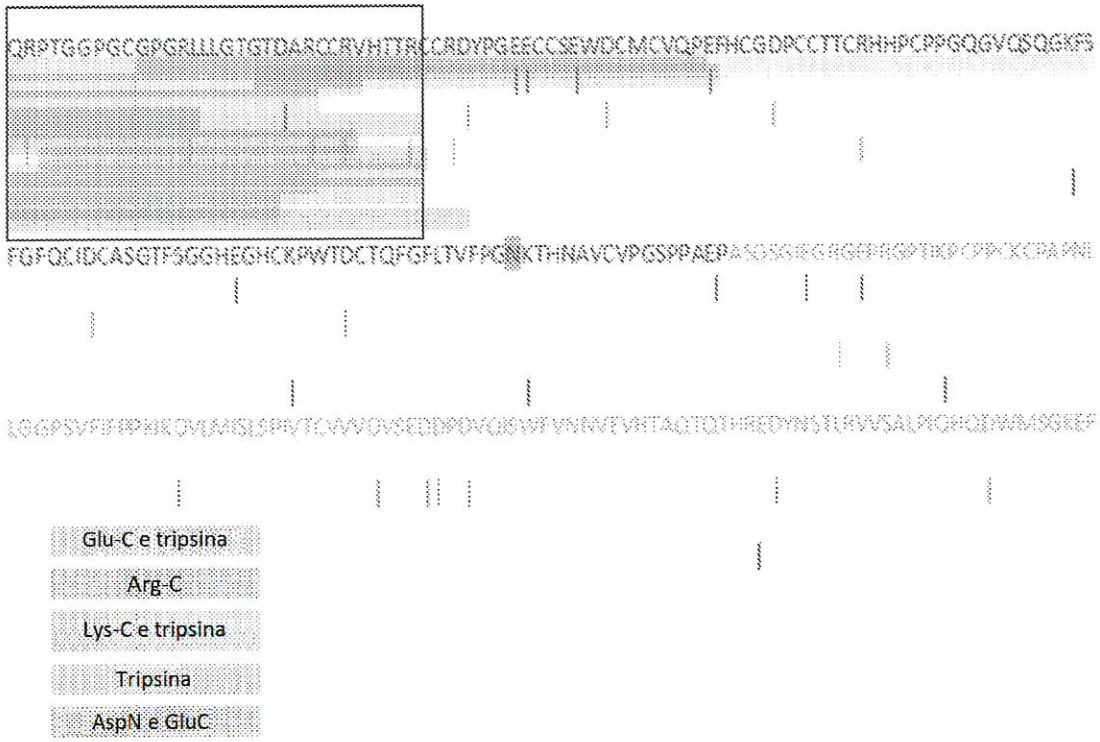


Figura 37

TAVOLA LVII

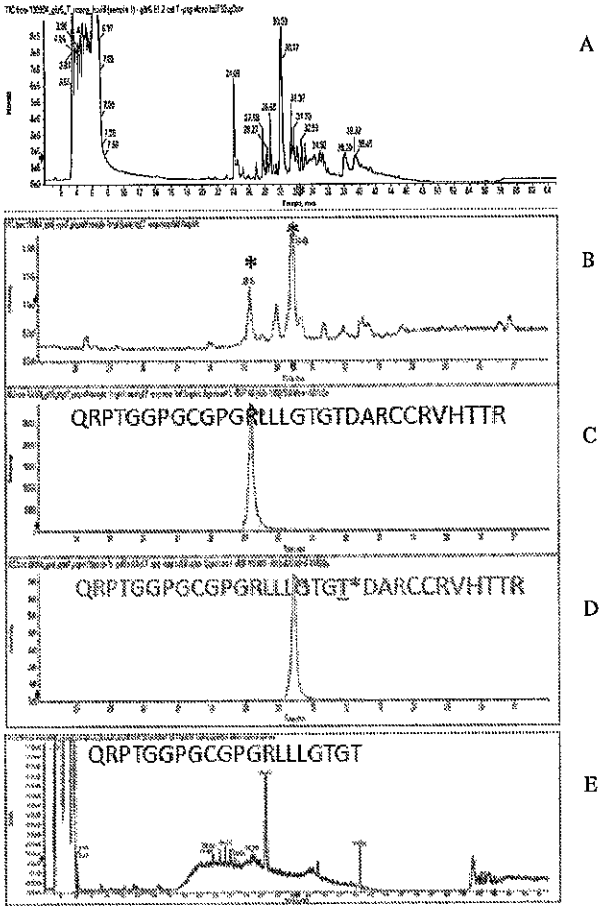
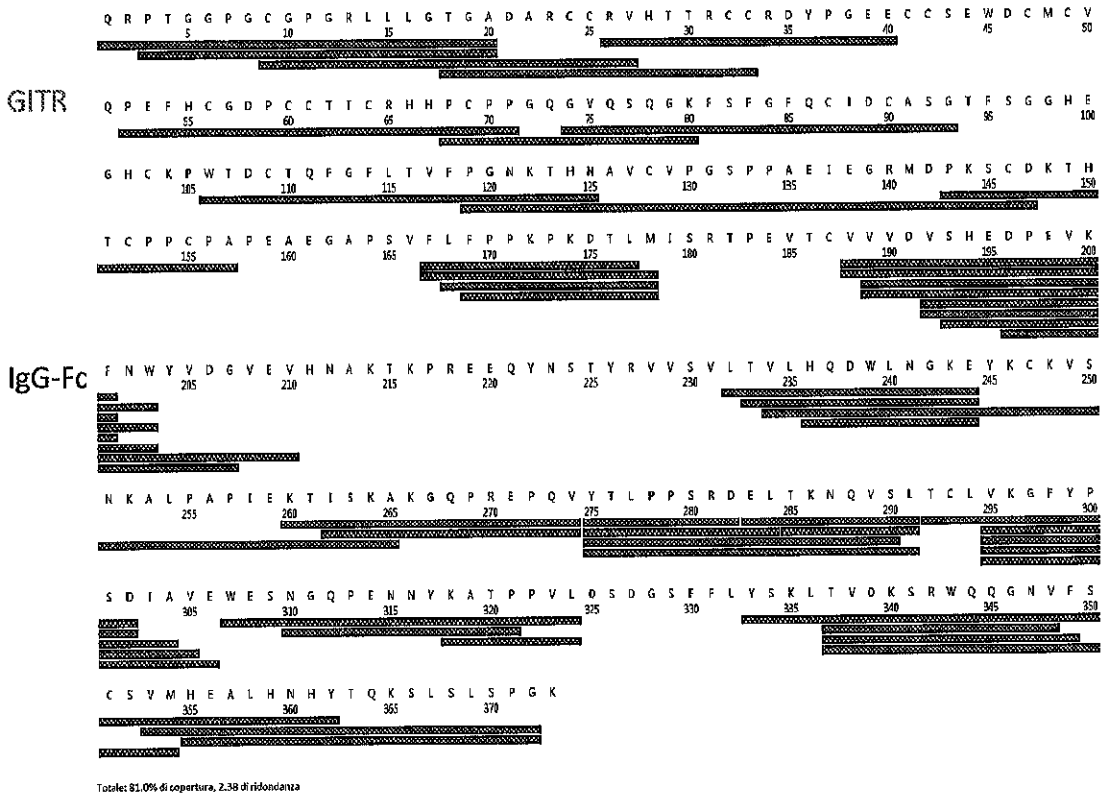


Figure 38A-38E

TAVOLA LVIII



86% di copertura
di sequenza

Figura 39A

TAVOLA LIX

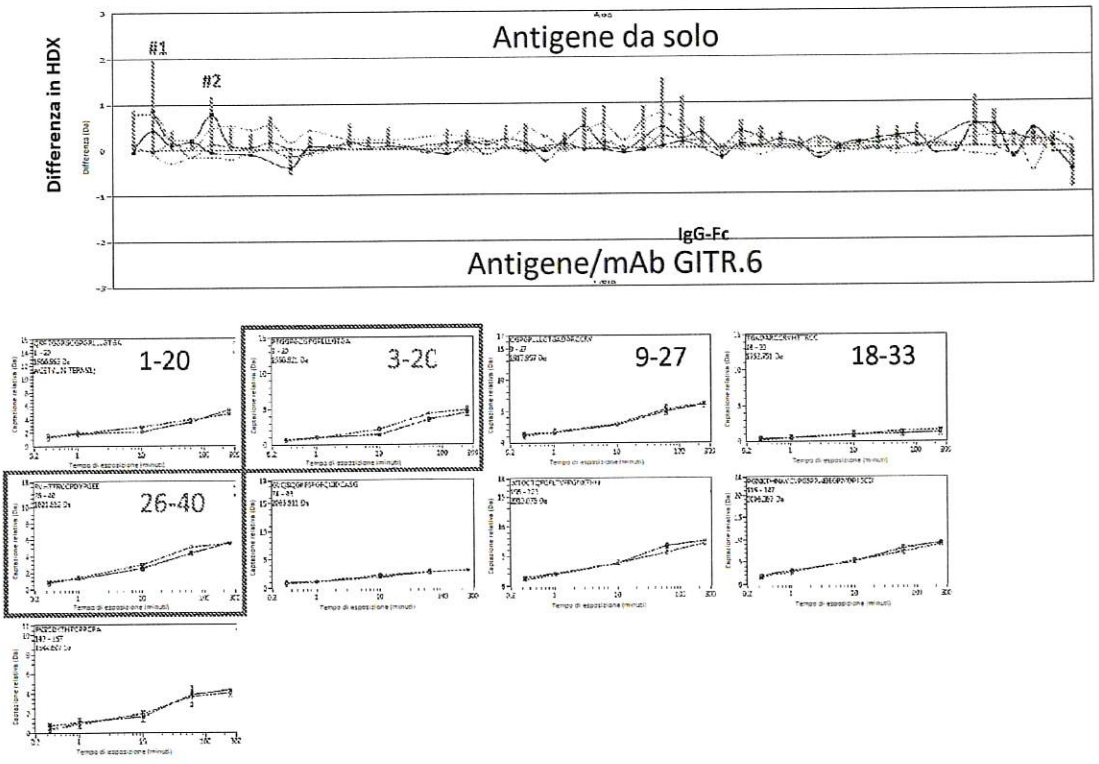


Figura 39B

TAVOLA LX

5

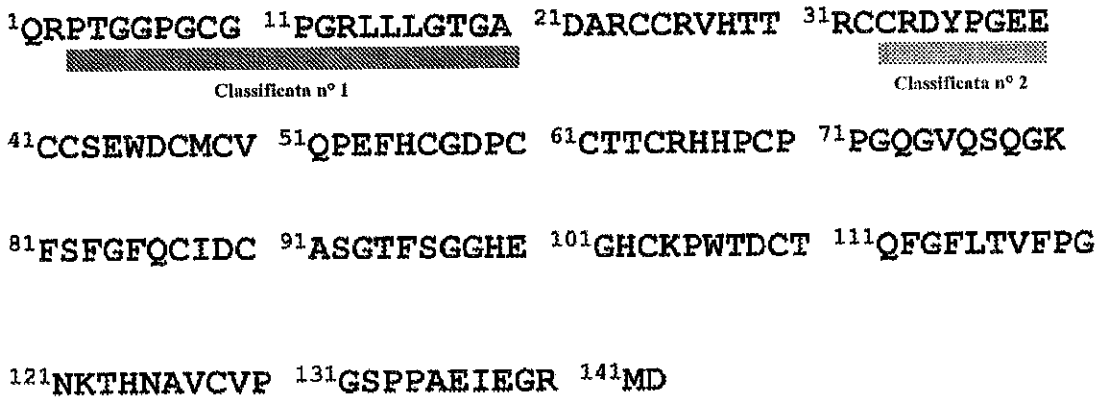


Figura 39C

TAVOLA LXI

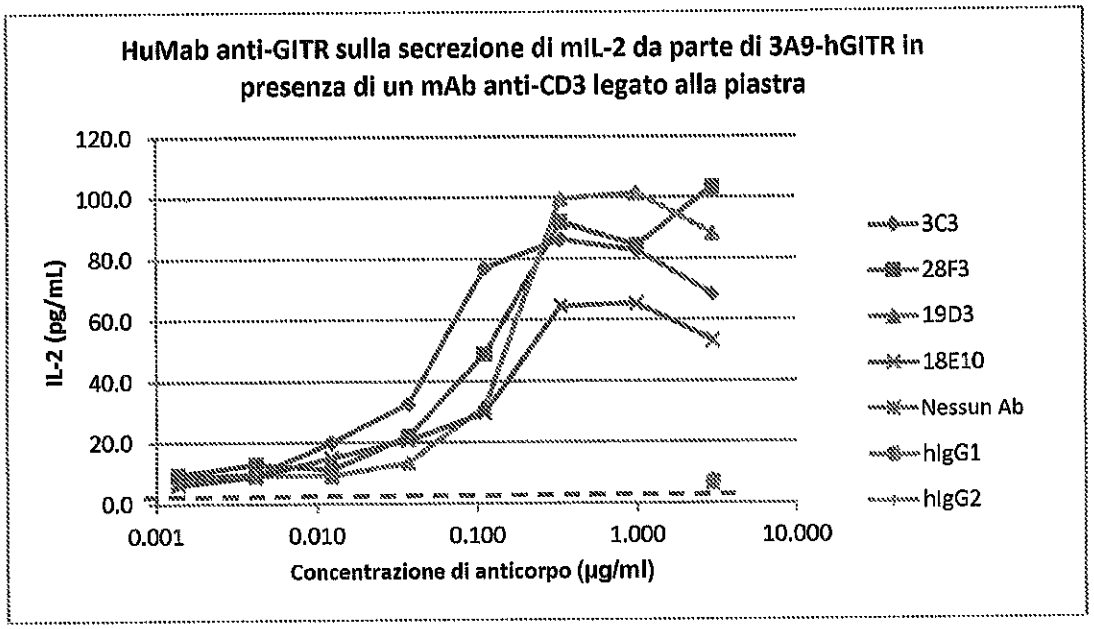


Figura 40

TAVOLA LXII

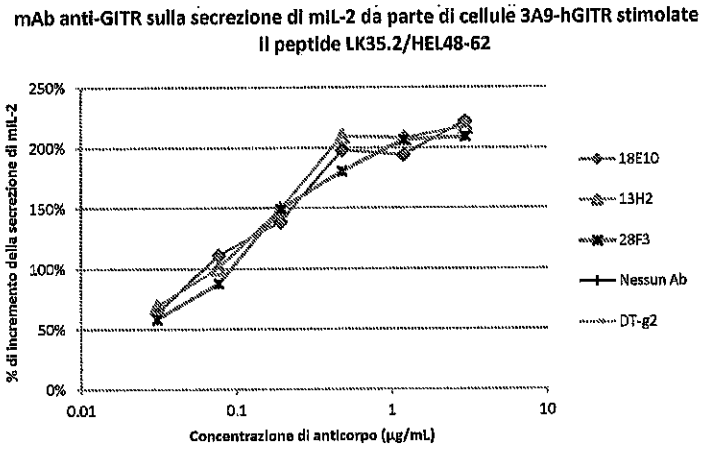


Figura 41A

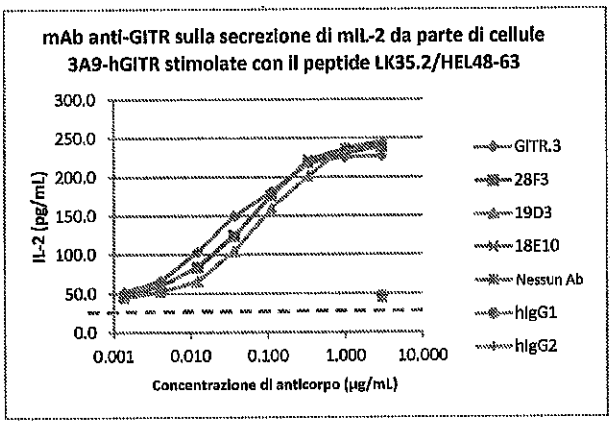


Figura 41B

TAVOLA LXIII

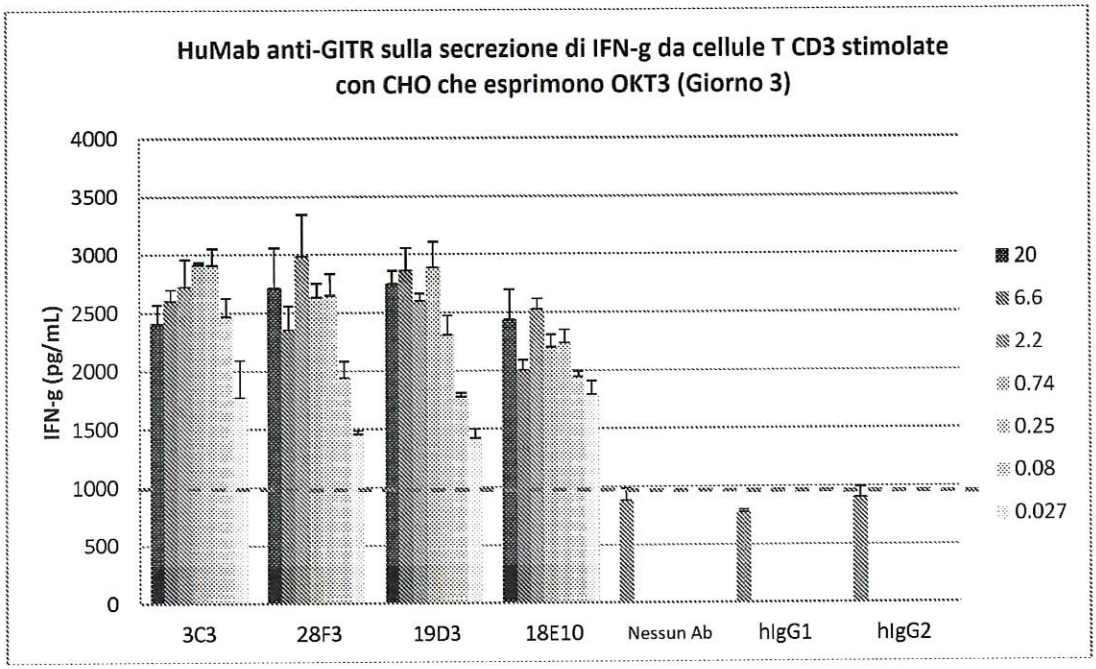


Figura 42A

TAVOLA LXIV

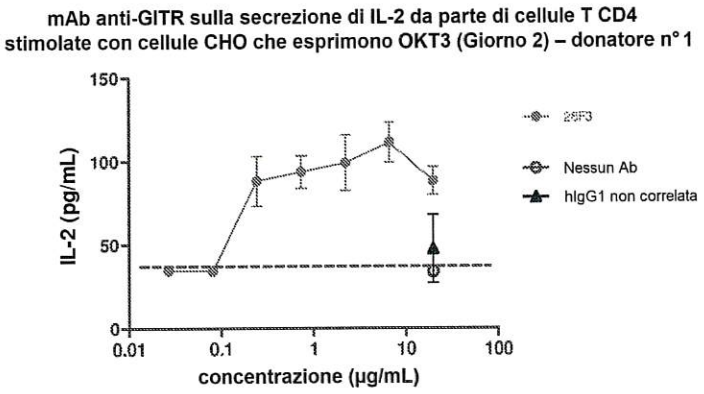


Figura 42B

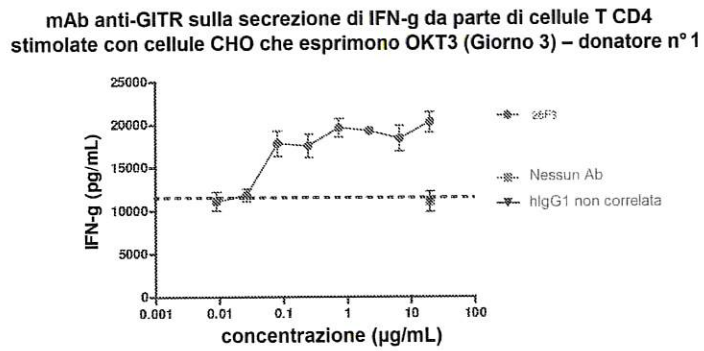


Figura 42C

TAVOLA LXV

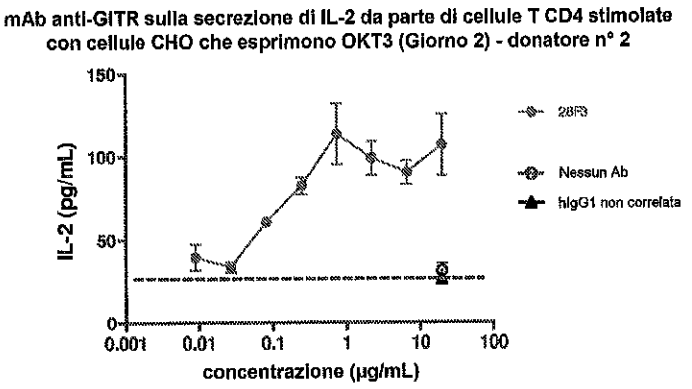


Figura 42D

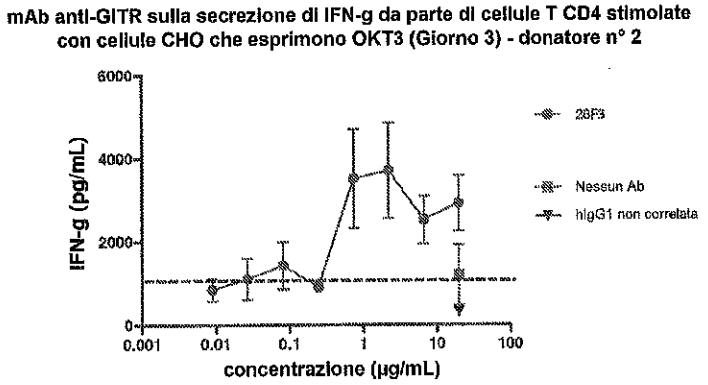


Figura 42E

TAVOLA LXVI

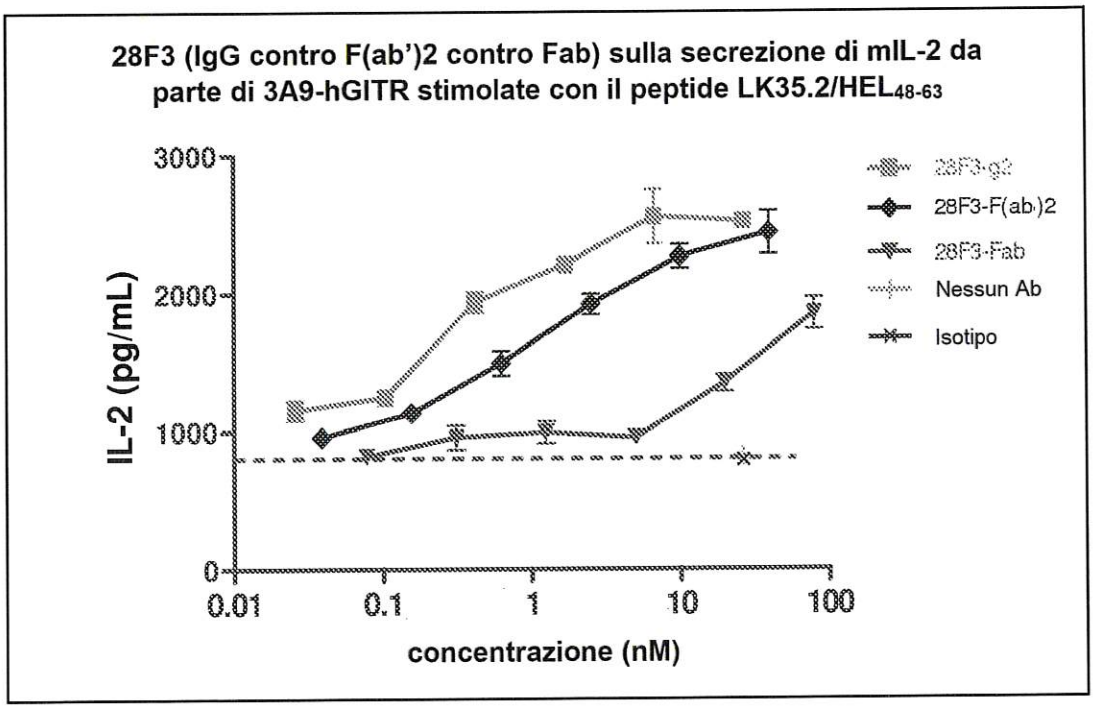


Figura 43

TAVOLA LXVII

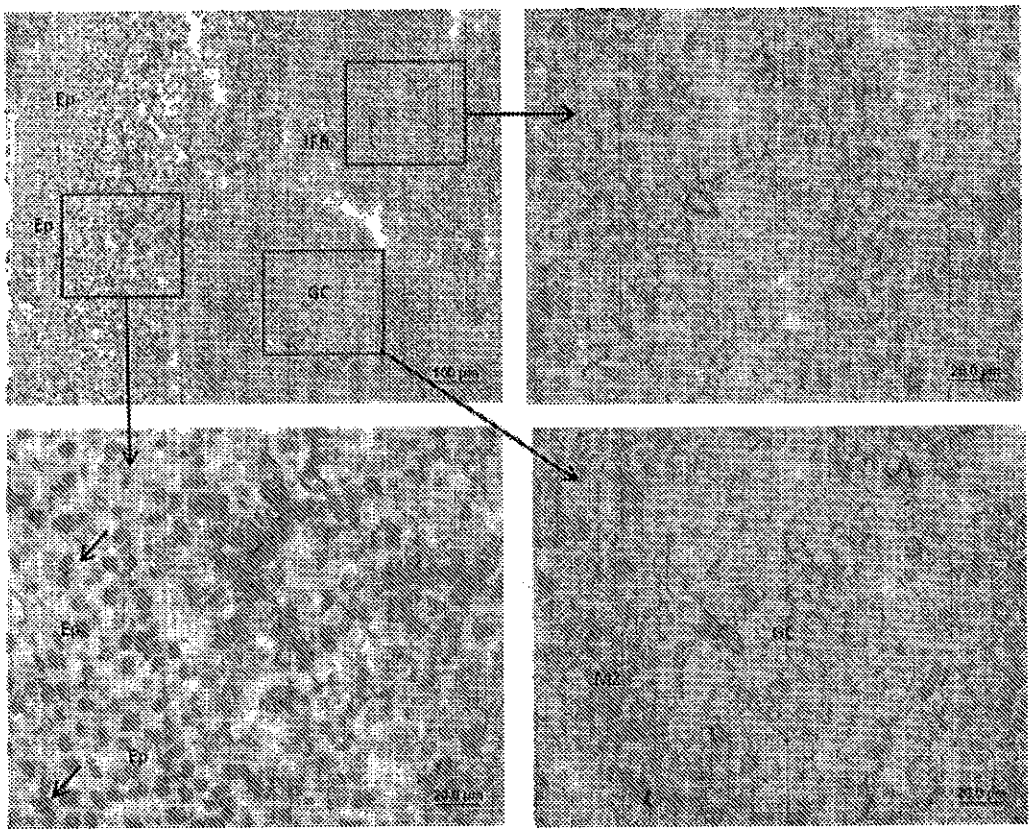


Figura 44

TAVOLA LXVIII

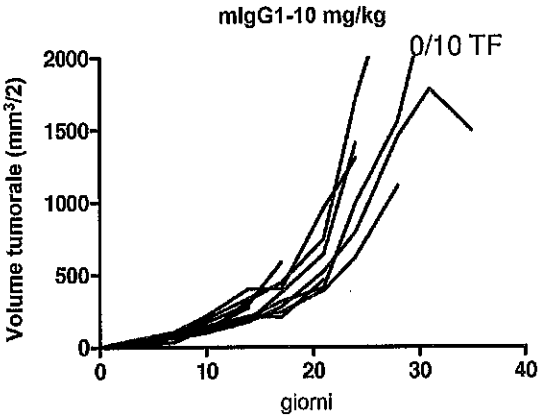


Figura 45A

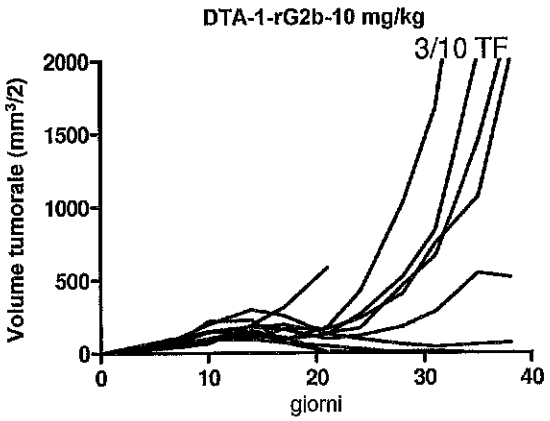


Figura 45B

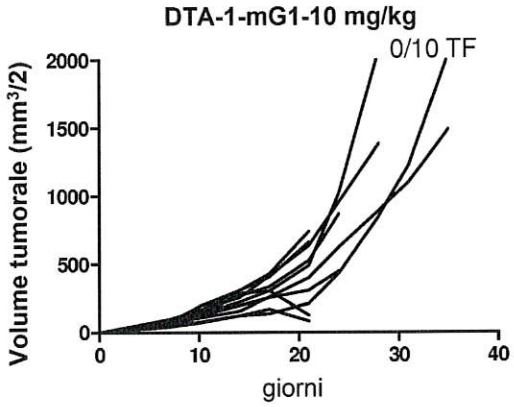


Figura 45C

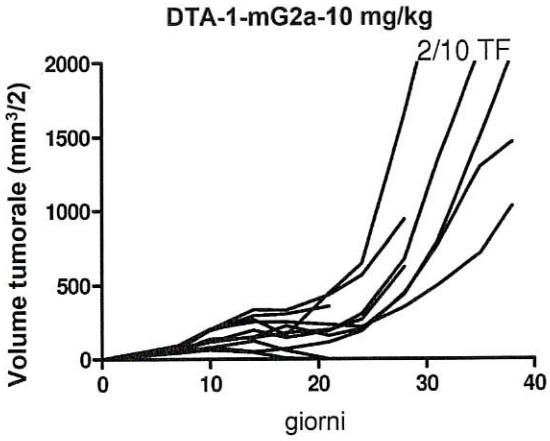


Figura 45D

TAVOLA LXX

A.

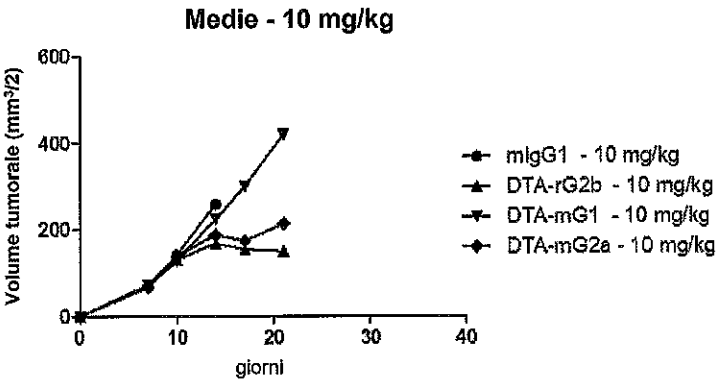


Figura 46A

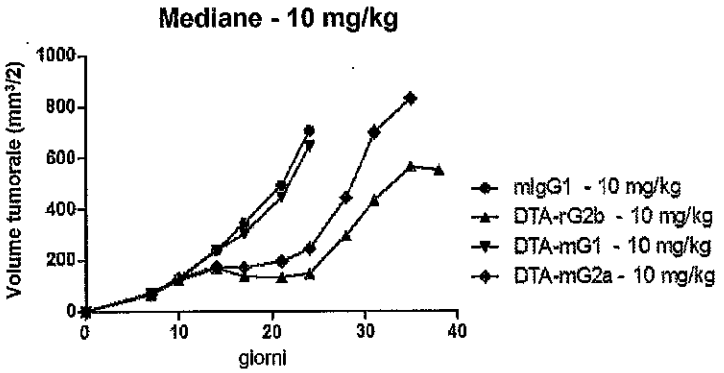


Figura 46B

TAVOLA LXXI

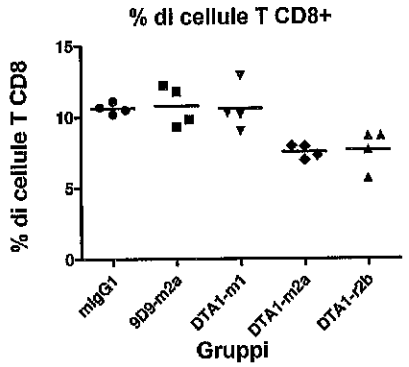


Figura 47A

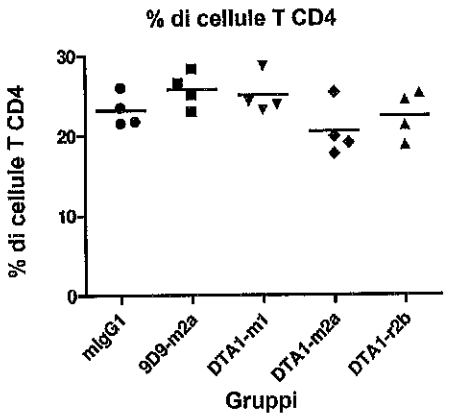


Figura 47B

TAVOLA LXXII

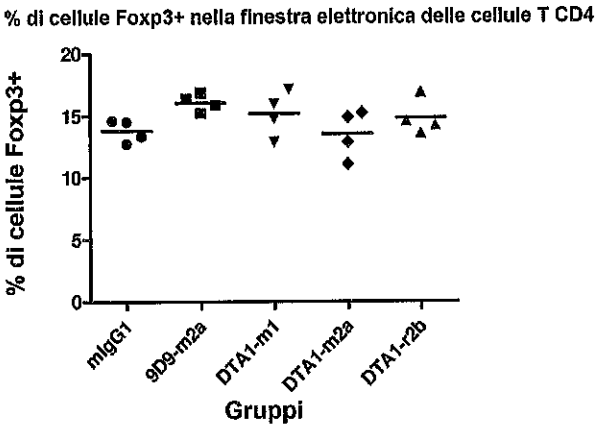


Figura 47C

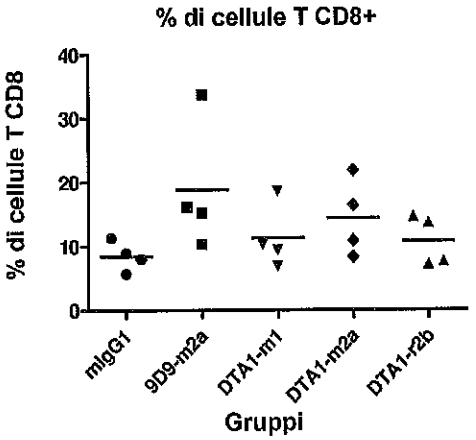


Figura 47D

TAVOLA LXXIII

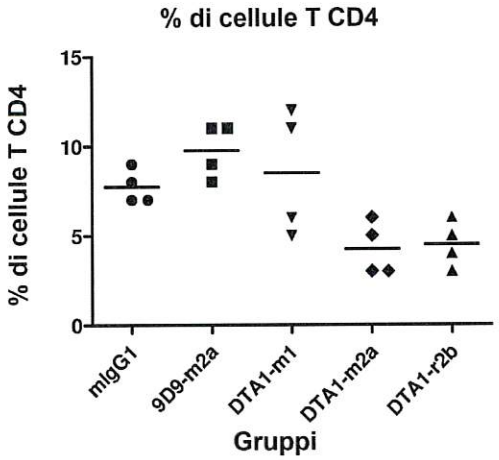


Figura 47E

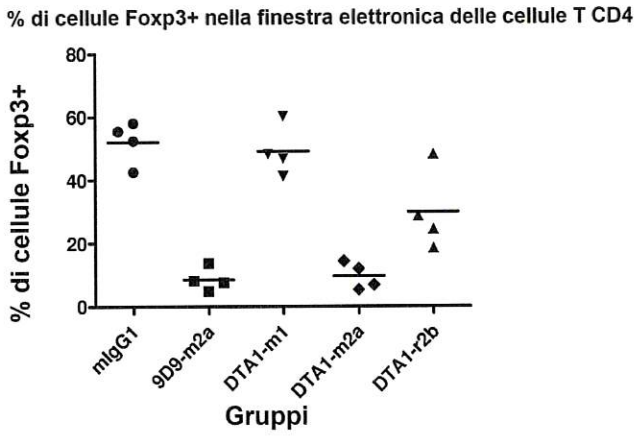


Figura 47F

TAVOLA LXXIV

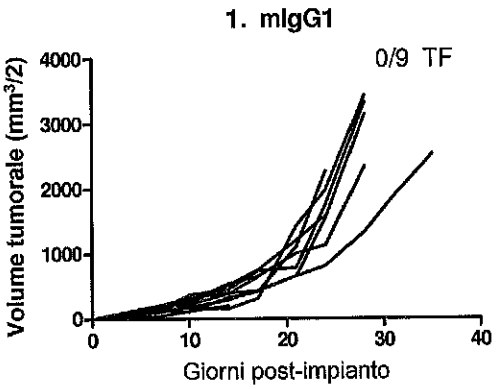


Figura 48A

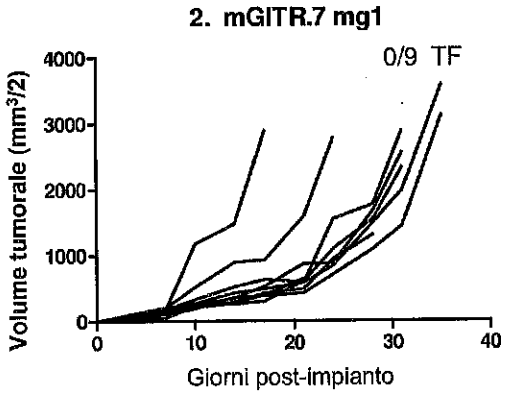


Figura 48B

TAVOLA LXXV

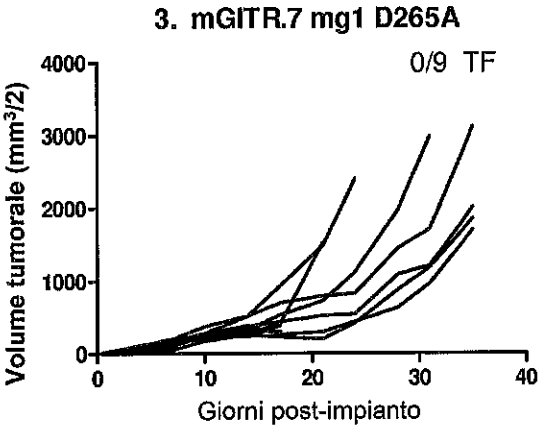


Figura 48C

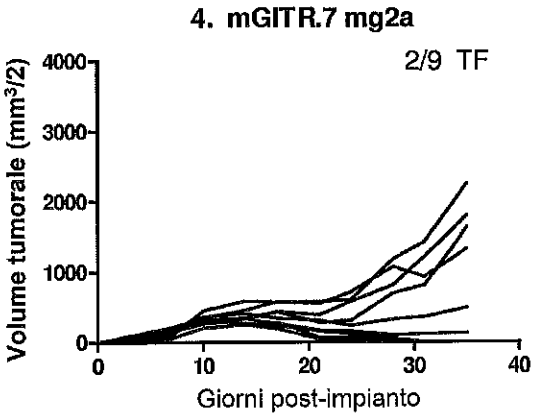


Figura 48D

TAVOLA LXXVI

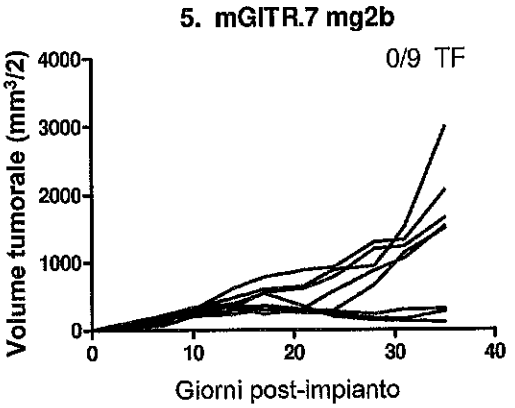


Figura 48E

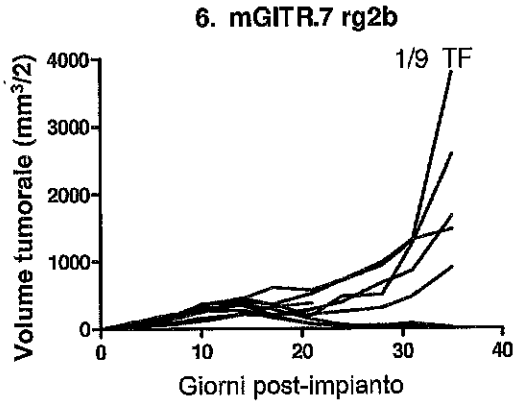


Figura 48F

TAVOLA LXXVII

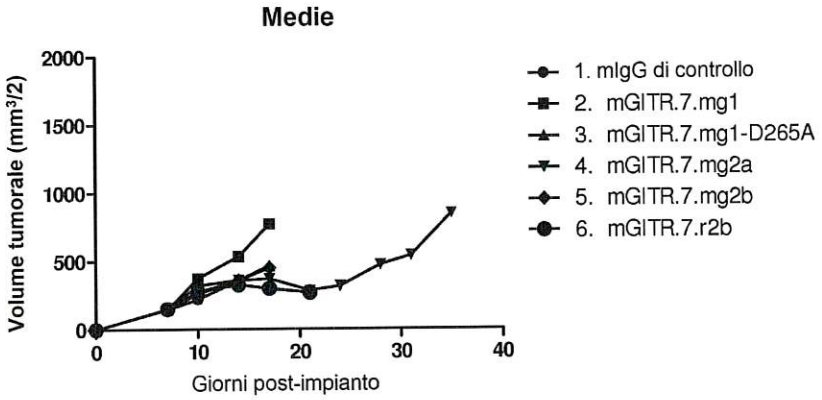


Figura 49A

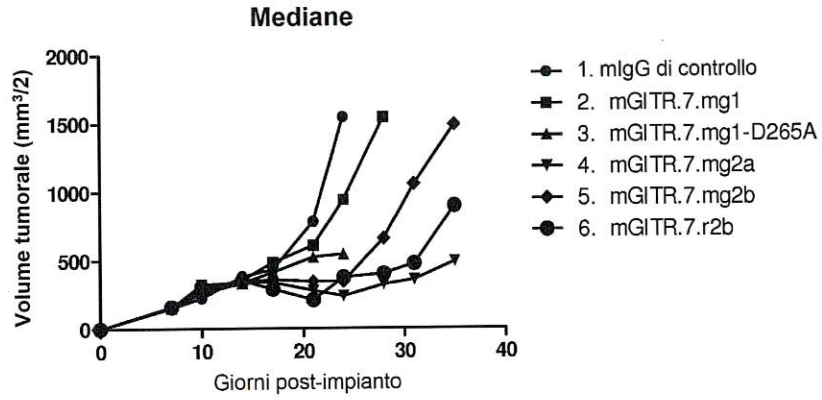


Figura 49B

TAVOLA LXXVIII

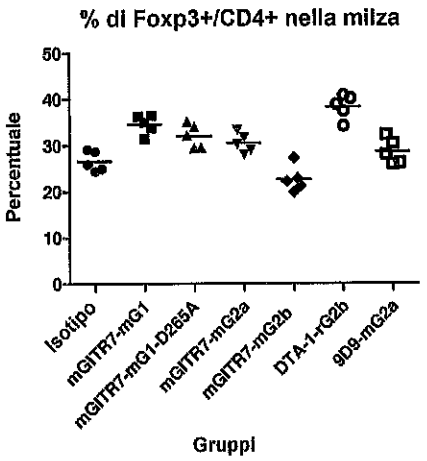


Figura 50A

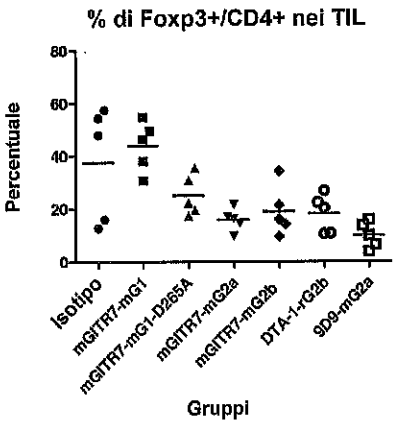


Figura 50B

TAVOLA LXXIX

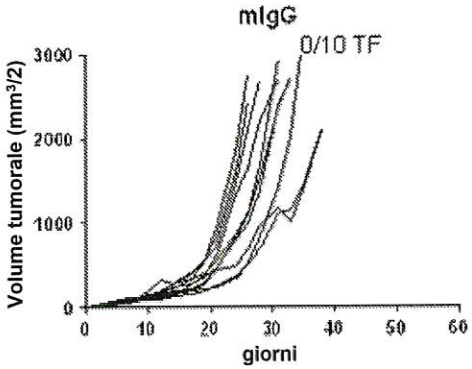


Figura 51A

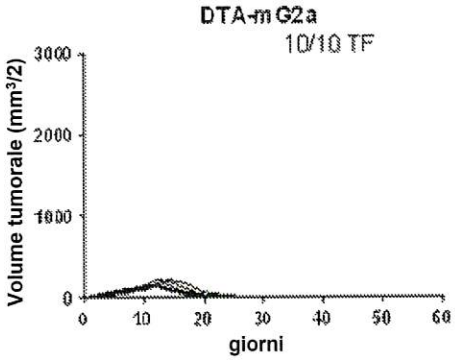


Figura 51B

TAVOLA LXXX

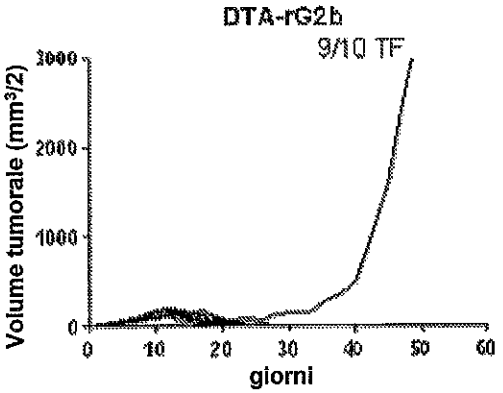


Figura 51C

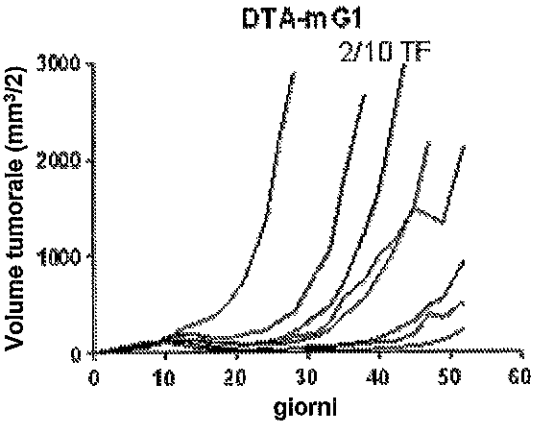


Figura 51D

TAVOLA LXXXI

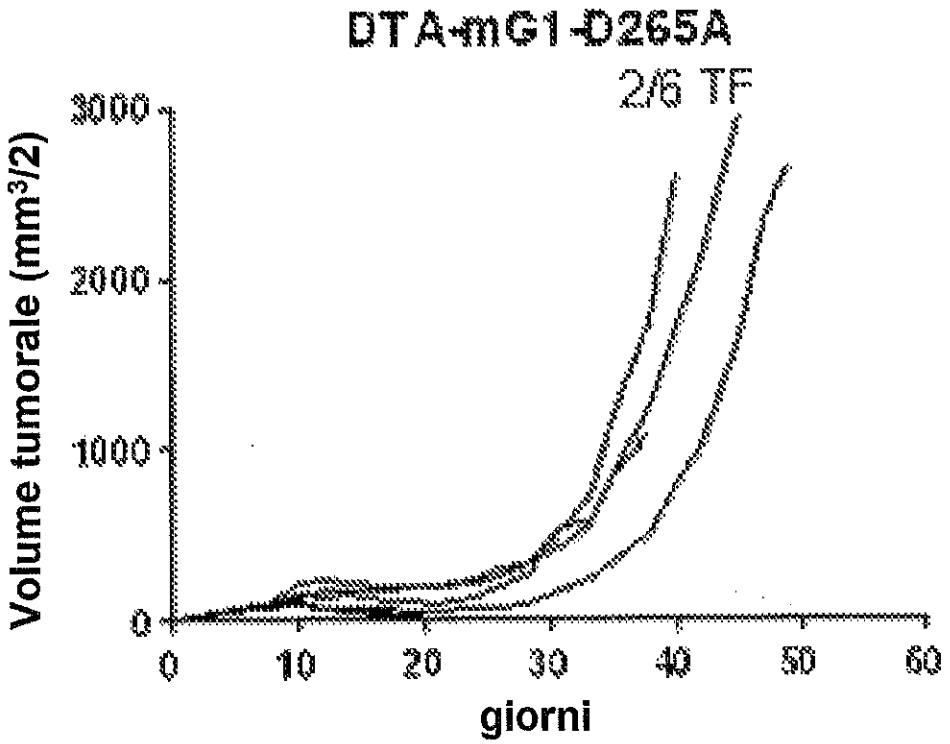


Figura 51E

TAVOLA LXXXII

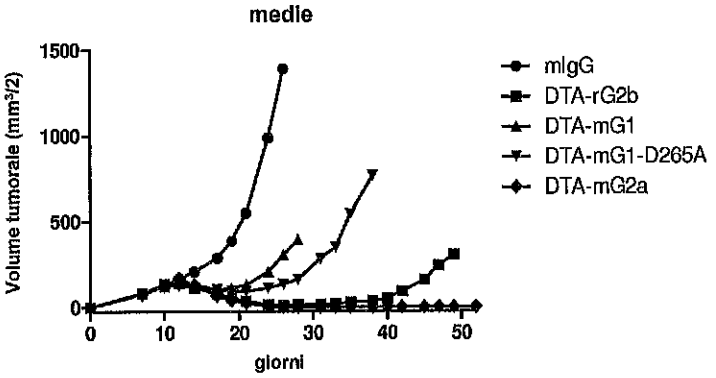


Figura 52A

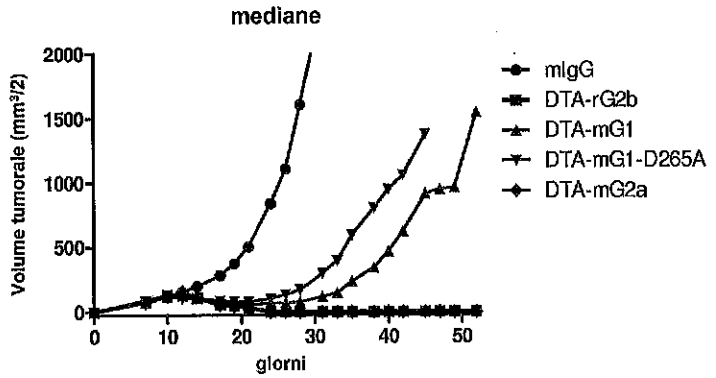


Figura 52B

TAVOLA LXXXIII

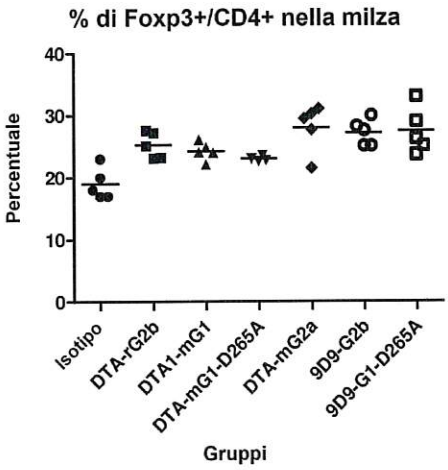


Figura 53A

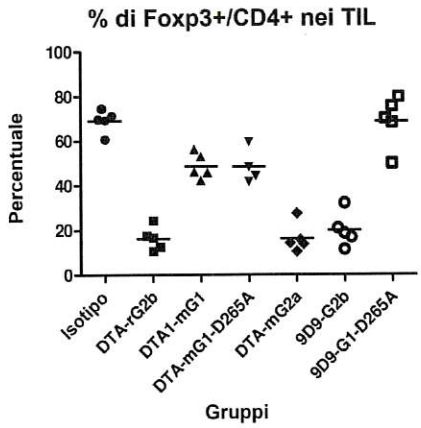


Figura 53B

TAVOLA LXXXIV

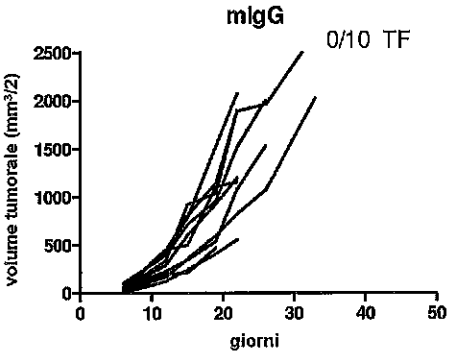


Figura 54A

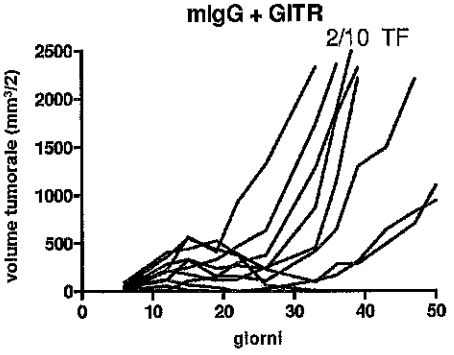


Figura 54B

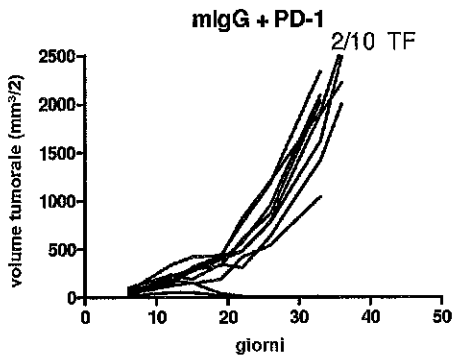


Figura 54C

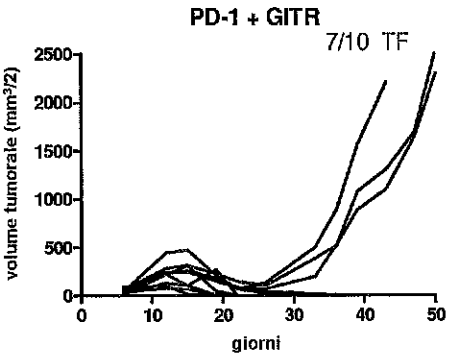


Figura 54D

TAVOLA LXXXV

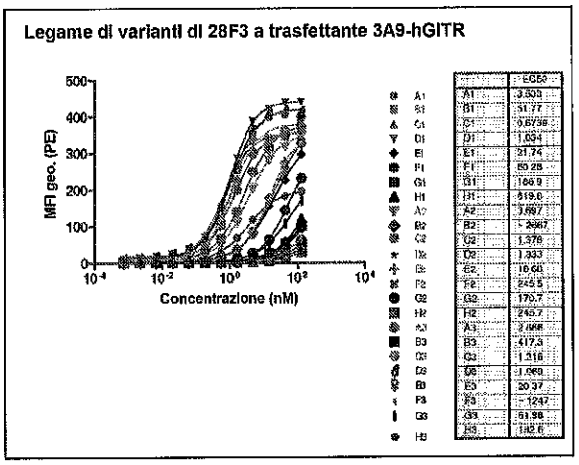


Figura 55A

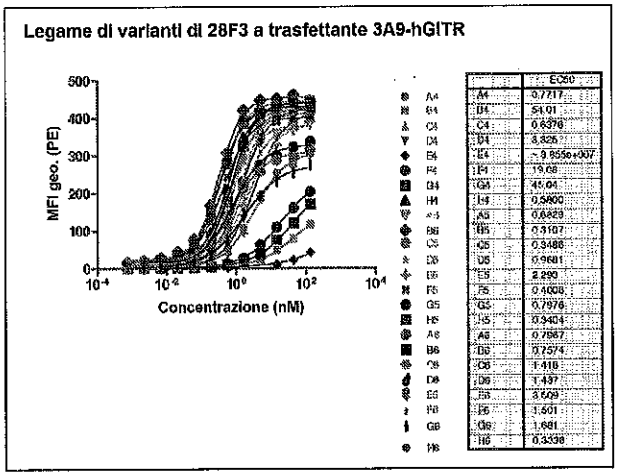


Figura 55B

TAVOLA LXXXVI

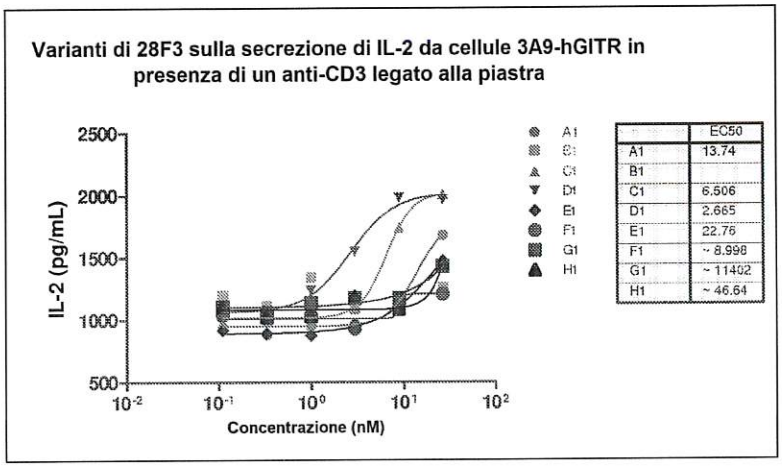


Figura 56A

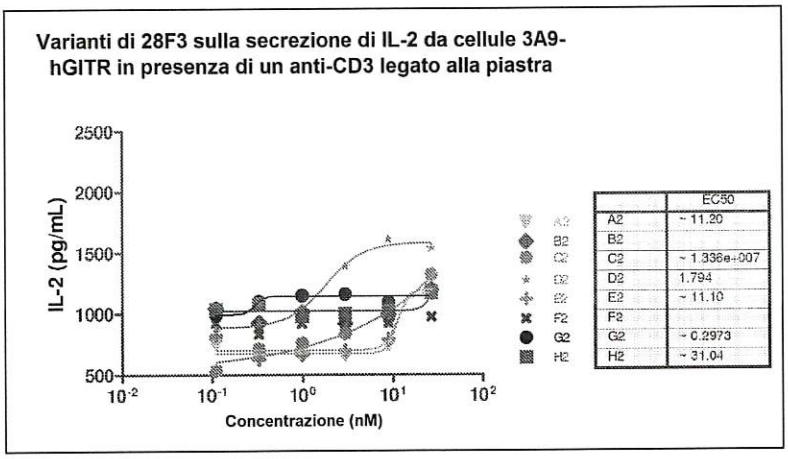


Figura 56B

TAVOLA LXXXVII

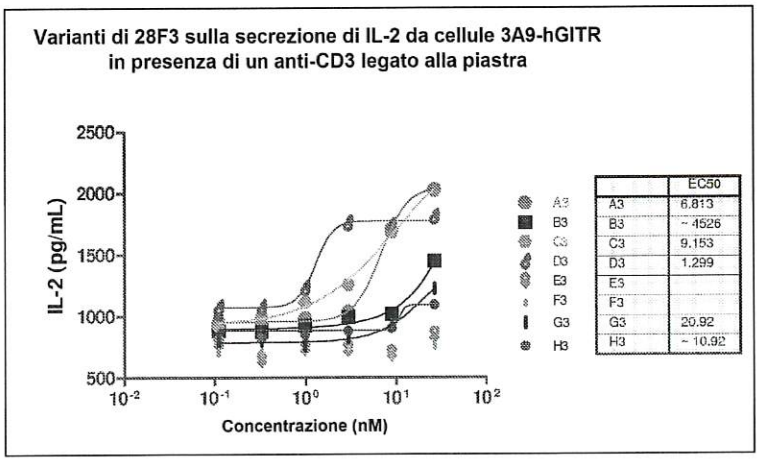


Figura 56C

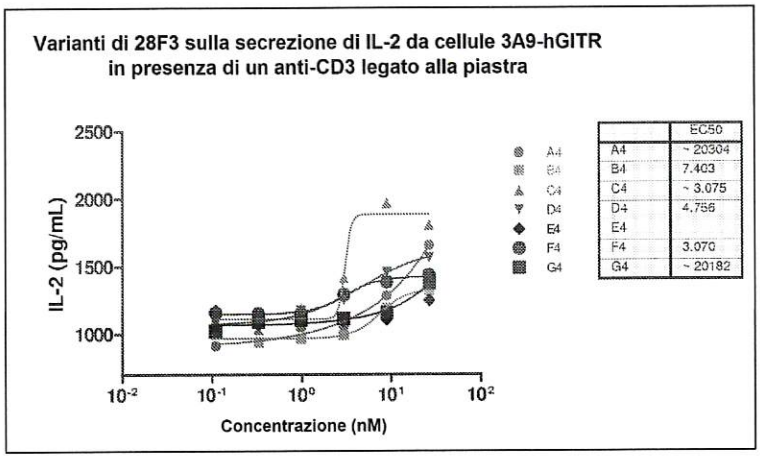


Figura 56D

TAVOLA LXXXVIII

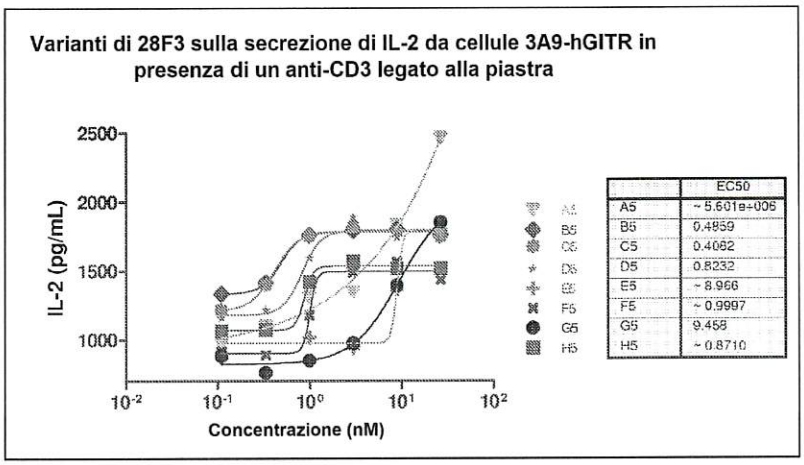


Figura 56E

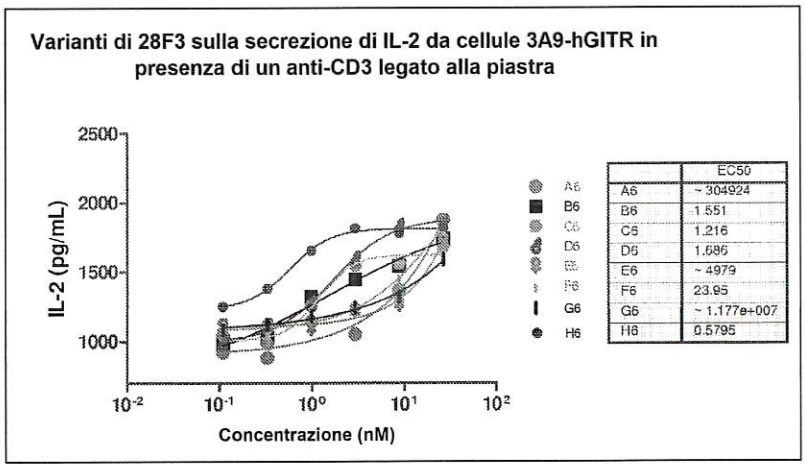
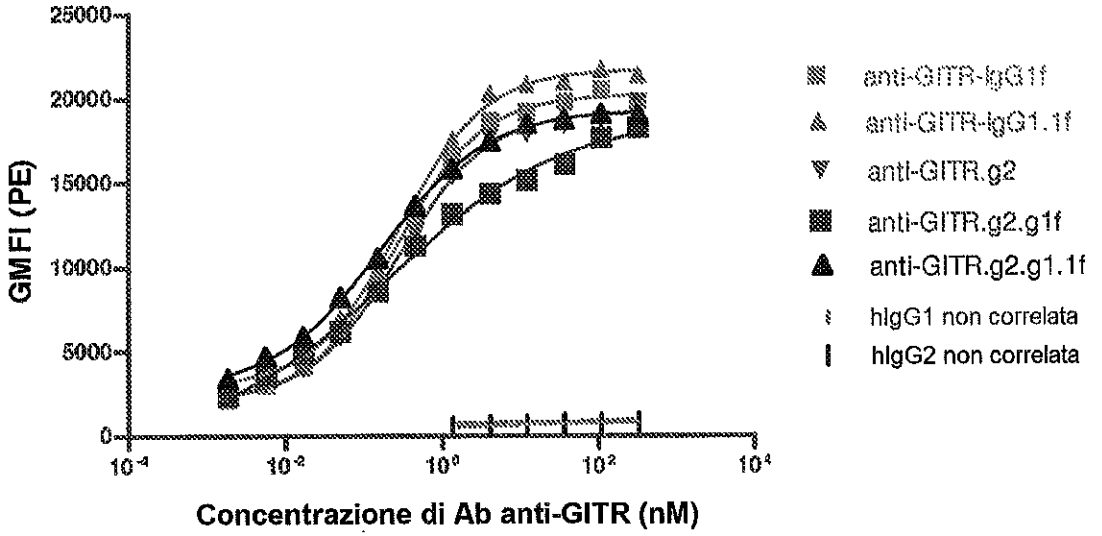


Figura 56F

TAVOLA LXXXIX



	EC50
anti-GITR-IgG1f	0,2566
anti-GITR-IgG1.1f	0.2865
anti-GITR.g2	0.2773
anti-GITR.g2.g1f	0.2034
anti-GITR.g2.g1.1f	0.1628
hIgG1 non correlata	131.8
hIgG2 non correlata	6.725

Figura 57

TAVOLA XC

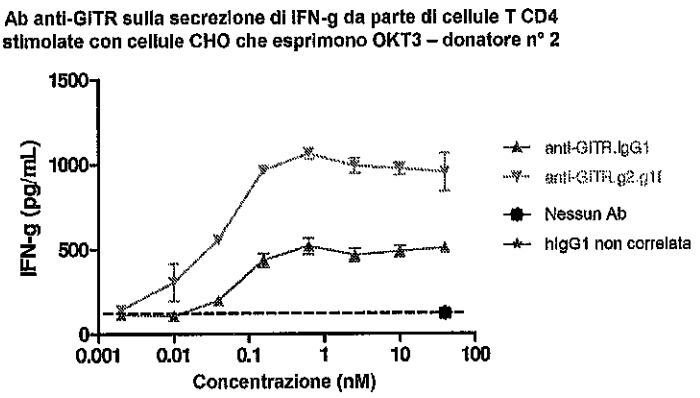


Figura 58A

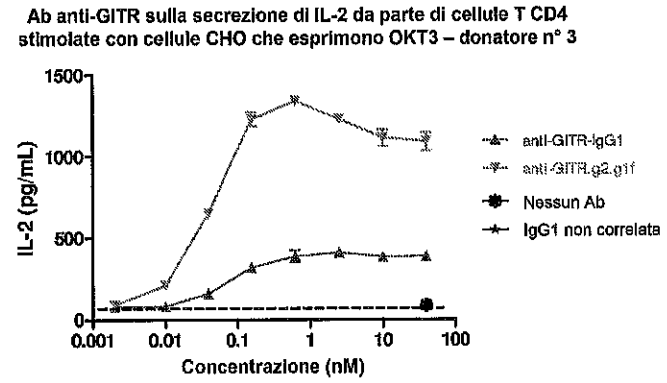


Figura 58B

TAVOLA XCI

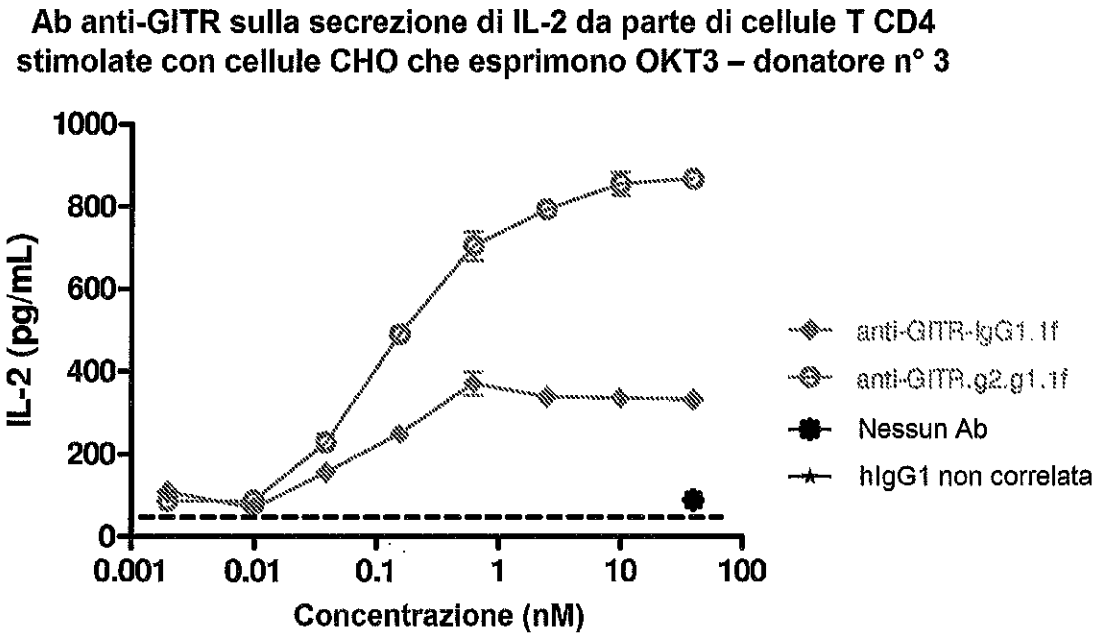


Figura 58C

TAVOLA XCII

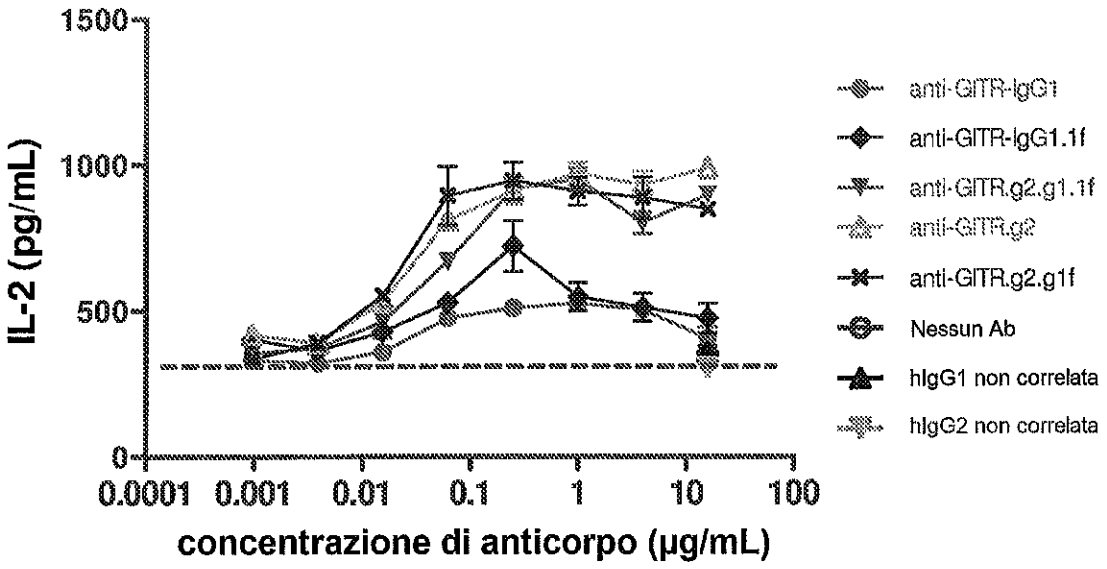
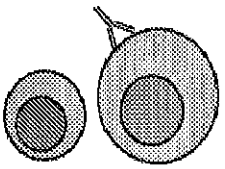
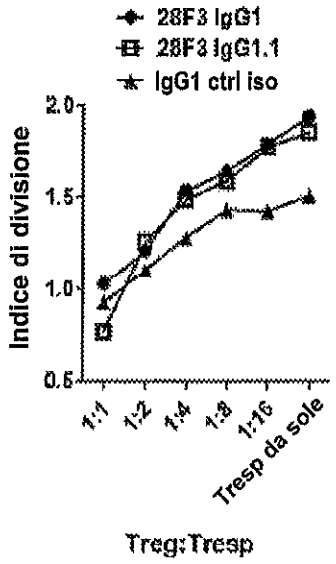


Figura 59

TAVOLA XCIII

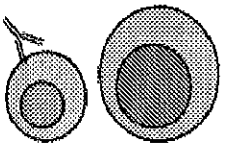


Treg	Teff
WT	huGITR



mAb 50 µg/mL

Figura 60A



Treg	Teff
huGITR	WT

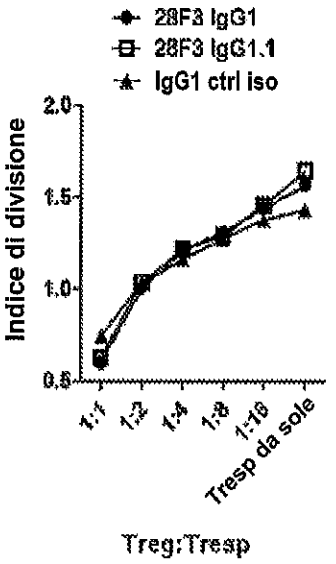


Figura 60B

TAVOLA XCIV

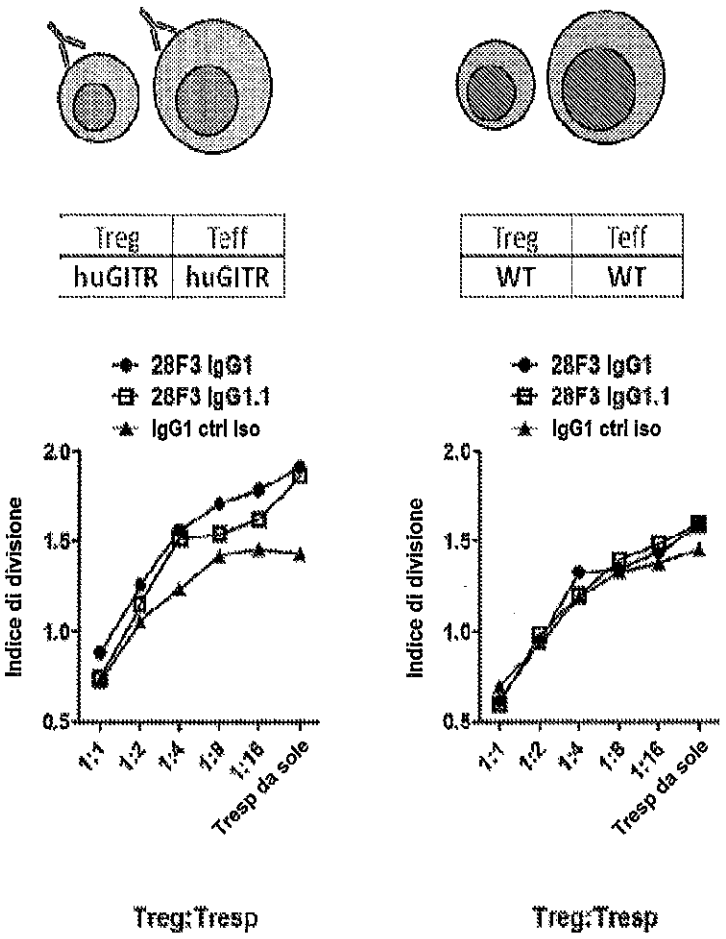


Figura 60C **Figura 60D**

TAVOLA XCV

Donatore 1

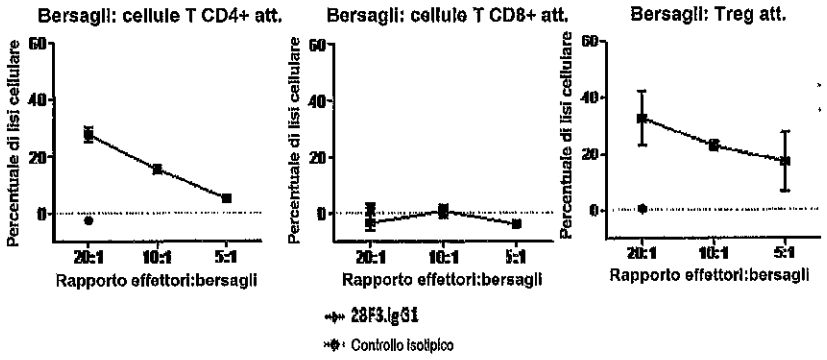


Figura 61A **Figura 61B** **Figura 61C**

Donatore 2

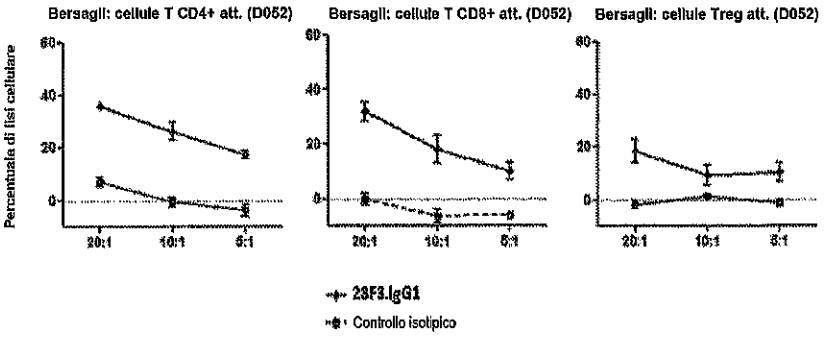


Figura 61D **Figura 61E** **Figura 61F**

TAVOLA XCVI

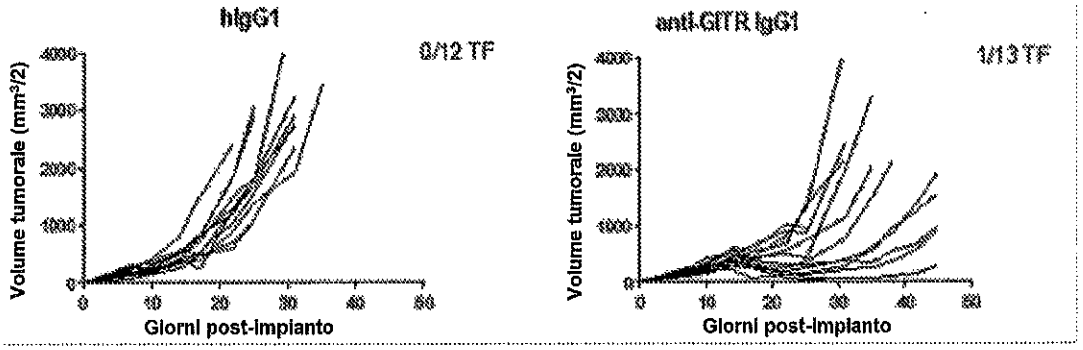


Figura 62A **Figura 62B**

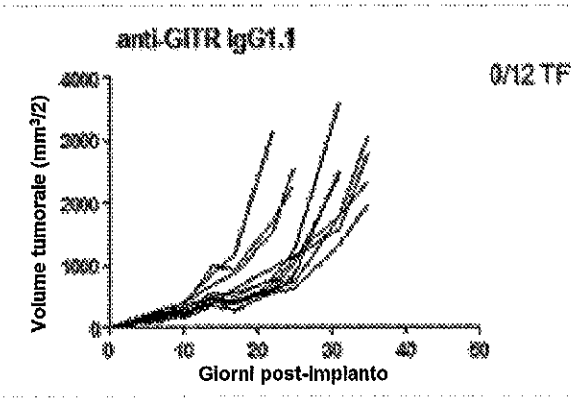


Figura 62C

TAVOLA XCVII

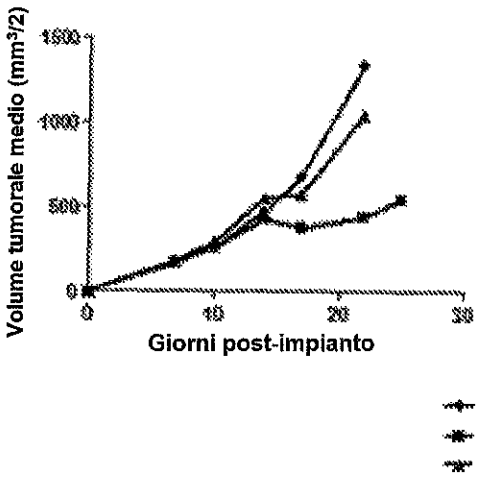


Figura 63A

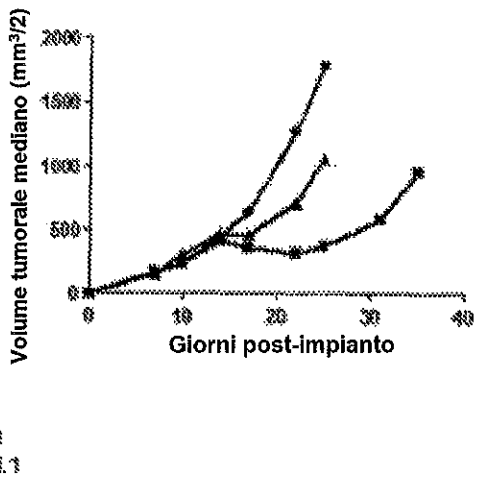


Figura 63B

TAVOLA XCVIII

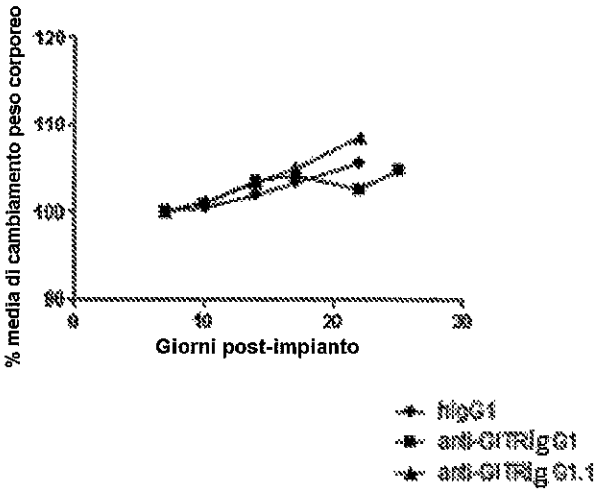


Figura 64A

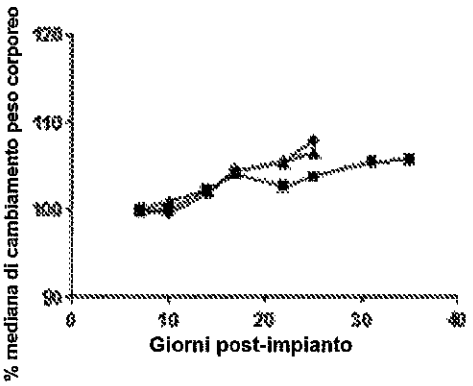


Figura 64B

TAVOLA XCIX

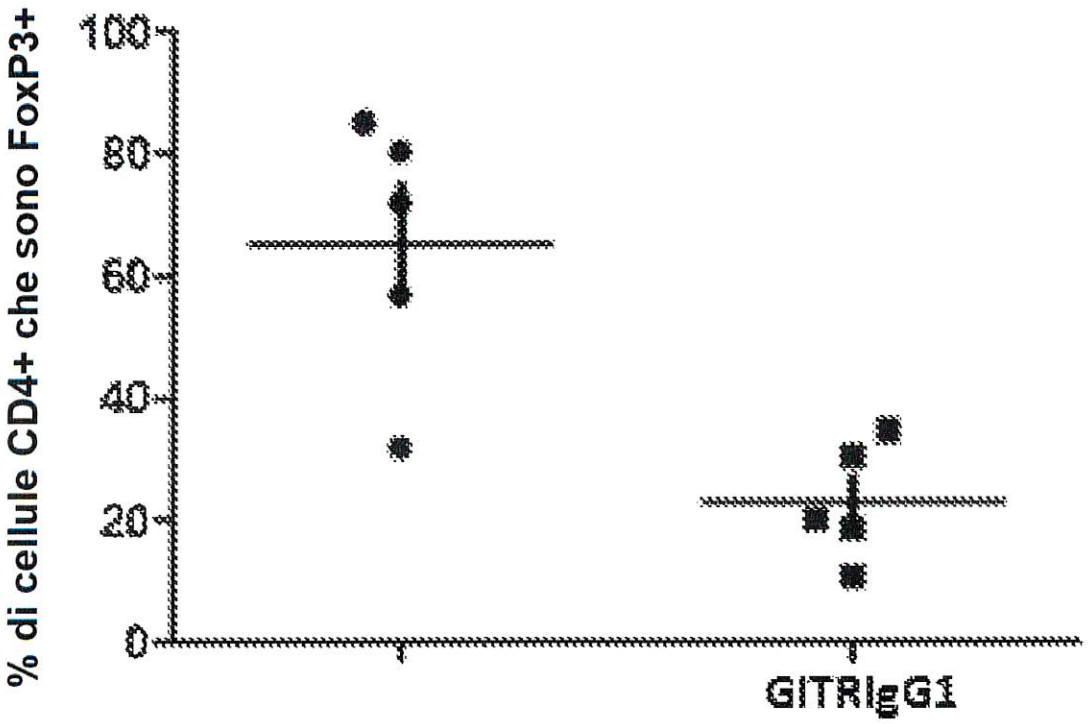


Figura 65

TAVOLA C

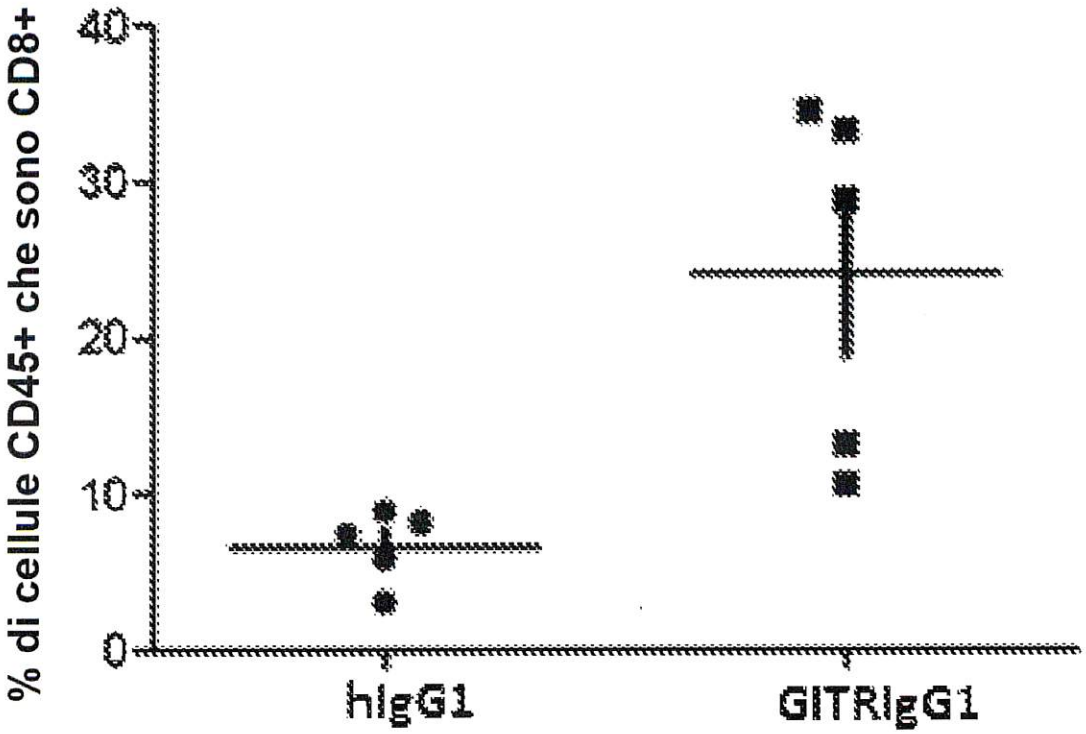


Figura 66

TAVOLA CI

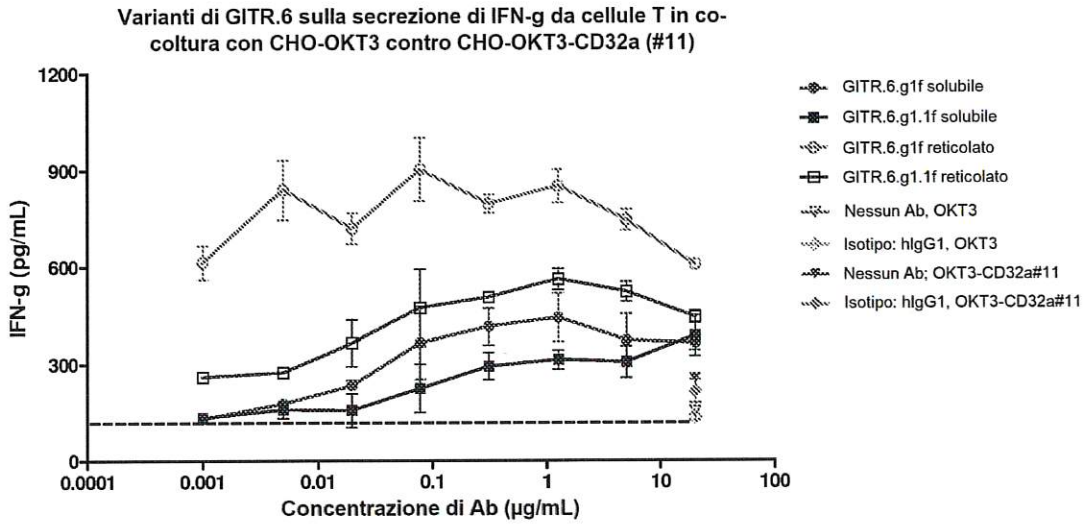


Figura 67

TAVOLA CII

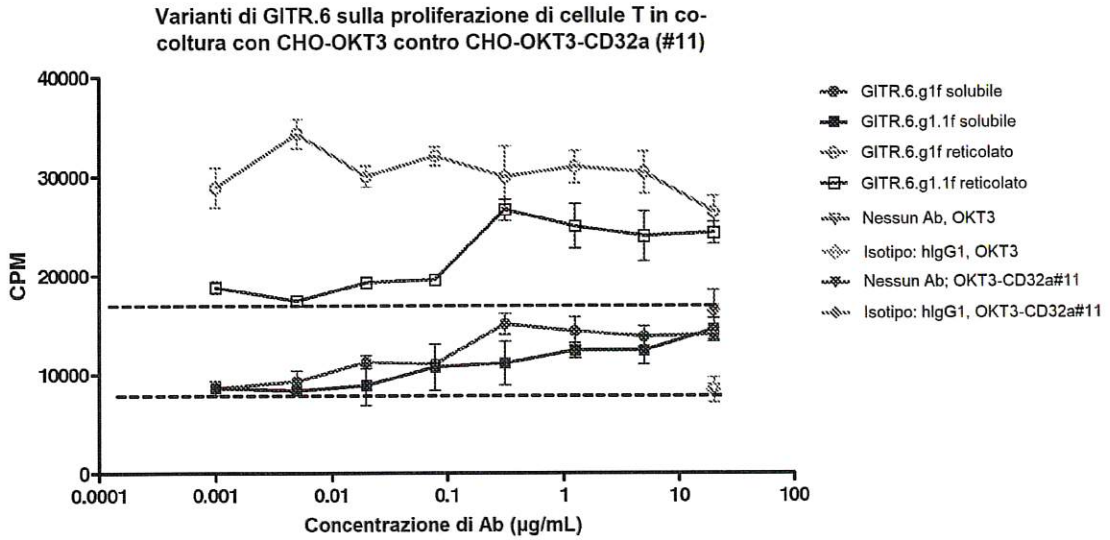


Figura 68