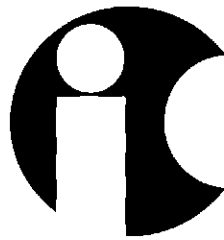




No. 11-052890-00000-0000

Fecha: 2011-04-29 17:02:26 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 493Fecha: 2011-04-29 17:02:26 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 496**Industria y Comercio**

SUPERINTENDENCIA

PCT

DELEGATURA DE PROPIEDAD INDUSTRIAL

División de Nuevas Creaciones

**SOLICITUD
PATENTE DE INVENCION**

21. EXPEDIENTE No.

11-52890

54. TÍTULO

Anticuerpos de Hepatitis C y sus usos

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL

71. SOLICITANTE

The Board of Trustees of the
Leland Stanford Junior University

DOMICILIO

Palo Alto, California, Estados Unidos

74. APODERADO

Alvaro Correa Ordoñez

22. BOGOTÁ, D.C.,

Abril 28, 2011

PETU



No. 11-052890-00000-0000

Fecha: 2011-04-29 17:02:26 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
 Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
 Act. 411 PRESENTACION Folios: 493

No. 11-052890-00000-0000

Fecha: 2011-04-29 17:02:26 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
 Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
 Act. 411 PRESENTACION Folios: 496

Industria y Comercio
 SUPERINTENDENCIA

FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE
 PCT
 ENTRADA EN FASE NACIONAL

SOLICITUD DE :

☒ Patente de Invención
 ☐ Patente de Modelo de Utilidad
☒ Capítulo I.
 ☐ Capítulo II.

2 SOLICITANTE (71)	Nombre: THE BOARD OF TRUSTEES OF THE LELAND STANFORD JUNIOR UNIVERSITY Dirección: 1705 El Camino Real Palo Alto, CA, 94306-1850, Estados Unidos de América Nacionalidad o Domicilio: Estados Unidos de América Lugar de Constitución: Estados Unidos de América Teléfono: Fax: E-Mail:	IDENTIFICACION C.C. ☐ NIT ☐ C.E. ☐ Otro ☐ Cual _____ Número _____
3 REPRESENTANTE O APODERADO	Nombre: ALVARO CORREA ORDOÑEZ Dirección: Avenida 82 No. 10-62 Piso 6 Teléfono: 6341500 Fax: 3762211 E-Mail: office.bogota@bakermckenzie.com	IDENTIFICACION C.C. ☒ NIT ☐ C.E. ☐ Otro ☐ Cual _____ Número 79.143.366 Usaquén TP 20281
4 INVENTOR (ES) (72)	Nombre: Foung, Steven, Zhen-yong Keck 588 Mayfield Avenue, Stanford, CA 94305, US; 617 Harbor County Court, Redwood City, CA 94065, US Nacionalidad o Domicilio: Estados unidos de América	

5 PCT (85)	
Solicitud Internacional No. PCT/US2008/078884	Fecha 05-10-2008
Publicación Internacional No. WO2010/039154	Fecha 08-04-2010

6 Título (54) ANTICUERPOS DE HEPATITIS C Y SUS USOS

7 Clasificación Internacional (51) C07K 16/10; A61K 39/395

8 Prioridad	(33) País de Origen	(32) Fecha	(31) Número de Solicitud
SI ☐ NO ☐	_____	_____	_____

9 Comprobante de pago No. 11-003569 Fecha 13 de Enero de 2011

10

ANEXOS

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud
- ☐ Documento que acredite la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica
- ☐ Poderes, si fuere el caso
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante
- ☐ Declaraciones
- ☒ Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☐ Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen preliminar (IPEA)
- ☐ Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA
- ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas
- ☐ De ser el caso, certificado de depósito del material biológico
- ☐ Arte final 12 x 12
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud
- ☐ De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.
- ☒ Otros: Extractos
 Listado de Secuencias

11

FIGURA CARATERISTICA

12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: ALVARO CORREA ORDOÑEZ

FIRMA:

C.C. 79.143.366 de UsaquénT.P. 20.281

Instrucciones para la presentación de los anexos, ver reverso de esta página

/BOGDMS-664478-VI-P2011_009011_-_PETITORIO.DOC

3
2011/001

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800.176.089-2

- / -

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 11 - 003569

Bogotá D.C., 13 de 2011 - 17:00:38

RECIBIDO DE : BAKER & MCKENZIE

NI 900.034.906

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	353200315	12/01/2011	148.414.500.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. UNIDITARIO	Vr. CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE INVENCIÓN	571.000.00	571.000.00
				\$571.000.00

SON: **QUINIENTOS SETENTA Y UN MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 11-052890-00000-0000

Fecha: 2011-04-29 17:02:26 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Evg. 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 496

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 11-052890-00000-0000

Fecha: 2011-04-29 17:02:26 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Evg. 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 493



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

TARJETA ARCHIVO PROPIETARIOS

SUPERINTENDENCIA PATENTE DE INVENCION ____ PCT ☒ MODELO DE UTILIDAD ____ DISEÑO INDUSTRIAL ____

(21) N° de solicitud:		(22) Fecha de solicitud:	
(51) Clasificación Internacional: C07K 16/10; A61K 39/395			
(71) Solicitante(s): THE BOARD OF TRUSTEES OF THE LELAND STANFORD JUNIOR UNIVERSITY			
(72) Inventor(es): Foung, Steven, Zhen-yong Keck			
(30) Prioridad	(31) No. Prioridad	32) Fecha	(33) País
(85) Fecha inicio fase nacional: 05-05-2011		(87) Publicación internacional	
(86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT		Fecha: 08-04-2010	
Fecha de presentación de la solicitud: 05-10-2008		N° publicación: WO2010/039154	
No. de solicitud: PCT/US2008/078884			
(54) Título: ANTICUERPOS DE HEPATITIS C Y SUS USOS			


Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIVISION DE NUEVAS CREACIONES
TARJETA ARCHIVO TEMATICO
SUPERINTENDENCIA PATENTE DE INVENCION **PCT** X **MODELO DE UTILIDAD** **DISEÑO INDUSTRIAL**

(21) N° de solicitud:		(22) Fecha de solicitud:		
(51) Clasificación Internacional: C07K 16/10; A61K 39/395				
(71) Solicitante(s) THE BOARD OF TRUSTEES OF THE LELAND STANFORD JUNIOR UNIVERSITY				
(72) Inventor(es) Foung, Steven, Zhen-yong Keck				
(74) Apoderado: ALVARO CORREA ORDOÑEZ				
(30) Prioridad		(31) No. Prioridad	32) Fecha	(33) País
(85) Fecha límite inicio fase nacional: 05-05-2011		(87) Publicación internacional:		
(86) Datos relativos a la presentación de la solíc. PCT		Fecha: 08-04-2010		
Fecha de presentación de la solicitud: 05-10-2008		No. Publicación: WO2010/039154		
No. de solicitud PCT/US2008/078884				
(54) Título: ANTICUERPOS DE HEPATITIS C Y SUS USOS				
(57) Resumen: La presente invención proporciona la identificación y caracterización de epitopos adaptativos de la proteína de envoltura E2 del virus de Hepatitis C (HCV). La presente invención provee un panel de anticuerpos monoclonales humanos que reconocen epitopos adaptativos de E2. Los anticuerpos se derivan de pacientes infectados con HCV. La presente invención proporciona métodos para utilizar anticuerpos HCV como agentes terapéuticos, de diagnóstico, y/o profilácticos. La presente invención proporciona métodos para estratificar pacientes con base en su respuesta a HCV. La presente invención provee composiciones farmacéuticas para la prevención y tratamiento de HCV que comprenden uno o más anticuerpos HCV.				
CONTINUA AL RESPALDO				

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA		SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO DIVISION DE NUEVAS CREACIONES EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION PCT	
(21) N° de solicitud:		(51) Int Cl: C07K 16/10; A61K 39/395	
22) Fecha de solicitud:		(71) Solicitante(s) THE BOARD OF TRUSTEES OF THE LELAND STANFORD JUNIOR UNIVERSITY	
(30) Prioridad	(31) No.	32) Fecha	(33) País
		(72) Inventor(es) Founq, Steven, Zhen-yong Keck	
		(74) Apoderado: ALVARO CORREA ORDOÑEZ	
(85)	Fecha limite inicio fase nacional: 05-05-2011		(87) Publicación internacional
(86)	Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT		Fecha: 08-04-2010
	Fecha de presentación de la solicitud: 05-10-2008		N° publicación: WO2010/039154
	No. de solicitud PCT/US2008/078884		
(54) Titulo: ANTICUERPOS DE HEPATITIS C Y SUS USOS			

Reivindicación(es): 1.- Un anticuerpo caracterizado porque se dirige hacia un épitopo adaptativo dentro de los aminoácidos 523 a 540 de la glicoproteína 2 de envoltura (E2) del virus de hepatitis C (HCV).

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTIFICATION OF THE RECORDING OF A CHANGE

(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

To:

BAKER, C., Hunter
Choate, Hall & Stewart LLP
Two International Place
Boston, MA 02110
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

Date of mailing (day/month/year)

22 March 2011 (22.03.2011)

Applicant's or agent's file reference

2002850-0058 (S07-16)

IMPORTANT NOTIFICATION

International application No.

PCT/US2008/078884

International filing date (day/month/year)

05 October 2008 (05.10.2008)

1. The following indications appeared on record concerning:

☒ the applicant

☐ the inventor

☐ the agent

☐ the common representative

Name and Address

BOARD OF TRUSTEES OF LELAND STANFORD JUNIOR UNIVERSITY
1705 El Camino Real
Palo Alto, CA 94306-1850
United States of America

State of Nationality

US

State of Residence

US

Telephone No.

Facsimile No.

E-mail address

2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:

☐ the person

☒ the name

☒ the address

☐ the nationality

☐ the residence

Name and Address

THE BOARD OF TRUSTEES OF THE LELAND STANFORD JUNIOR
UNIVERSITY
1705 El Camino Real
Palo Alto, CA 94306-1850
United States of America

State of Nationality

US

State of Residence

US

Telephone No.

Facsimile No.

E-mail address

☐ Notifications by e-mail authorized

3. Further observations, if necessary:

4. A copy of this notification has been sent to:

☒ the receiving Office

☒ the International Searching Authority

☐ the Authority(ies) specified for supplementary search

☐ the International Preliminary Examining Authority

☒ the designated Offices concerned

☐ the elected Offices concerned

☐ other:

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Authorized officer

Mafla Sergio

e-mail pt11.pct@wipo.int

Telephone No. +41 22 338 74 11

Facsimile No. +41 22 338 70 80

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
8 April 2010 (08.04.2010)

(10) International Publication Number
WO 2010/039154 A1

(51) International Patent Classification:
C07K 16/10 (2006.01) A61K 39/395 (2006.01)

(21) International Application Number:
PCT/US2008/078884

(22) International Filing Date:
5 October 2008 (05.10.2008)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(71) Applicant (for all designated States except US): BOARD OF TRUSTEES OF LELAND STANFORD JUNIOR UNIVERSITY [US/US]; 1705 El Camino Real, Palo Alto, CA 94306-1850 (US).

(72) Inventor; and

(75) Inventor/Applicant (for US only): FOUNG, Steven [US/US]; 588 Mayfield Avenue, Stanford, CA 94305 (US).

(74) Agent: BAKER, C., Hunter; Choate, Hall & Stewart LLP, Two International Place, Boston, MA 02110 (US).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of national protection available): AE, AG, AL, AM,

AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:

— with international search report (Art. 21(3))

(54) Title: HEPATITIS C ANTIBODIES AND USES THEREOF

(57) Abstract: The present invention provides identification and characterization of conformational epitopes of the envelope protein E2 of the Hepatitis C virus (HCV). The present invention provides a panel of human monoclonal antibodies that recognize conformational epitopes of E2. The antibodies are derived from patients infected with HCV. The present invention provides methods for utilizing HCV antibodies as therapeutic, diagnostic, and/or prophylactic agents. The present invention provides mimotopes with conformational epitopes intact and methods of using mimotopes. The present invention provides methods of stratifying patients based on their response to HCV. The present invention provides pharmaceutical compositions for prevention and treatment of HCV comprising one or more HCV antibodies.



WO 2010/039154 A1

HEPATITIS C ANTIBODIES AND USES THEREOF

Government Support

[0001] This invention was made with government support under grant number HL079381 awarded by the United States National Institutes of Health. The government has certain rights in the invention.

Background

[0002] Over 170 million people worldwide are infected with hepatitis C virus (HCV). Acute infection is usually silent, but the majority of infected individuals develop persistent infections (Major *et al.*, 2001, "Hepatitis C viruses," *Fields Virology*, 1127-1162; incorporated herein by reference). A small percentage of acute infections however resolve viremia with disease resolution. Cellular immunity is necessary, as a robust and sustained CD4⁺ T cell response is temporally associated with virus clearance leading to disease resolution (reviewed in Shoukry *et al.*, 2004, *Annu. Rev. Microbiol.*, 58:391; incorporated herein by reference).

[0003] Antiviral drugs (*e.g.*, interferon or PEGylated interferon) taken alone or in combination with ribavirin (*i.e.*, nucleoside analog which interferes with viral genome replication) can be used for the treatment of persons with chronic hepatitis C, but the cost of treatment is very high. Treatment with interferon alone is effective in about 10% to 20% of patients, while interferon combined with ribavirin is effective in about 30% to 50% of patients.

[0004] The present invention encompasses the recognition that antibodies may be developed that can be useful for prophylaxis, treatment, and/or diagnosis of HCV. A significant challenge for antibody-based vaccine development is defining conserved protective epitopes and generating antibodies that specifically recognize these epitopes.

Summary of the Invention

[0005] The present invention provides monoclonal antibodies, including human monoclonal antibodies, which bind to multiple hepatitis C virus (HCV) genotypes and/or subtypes. Such antibodies are useful in the prophylaxis, treatment, diagnosis, and/or study of HCV. In particular, the present invention provides monoclonal antibodies binding to conserved conformational epitopes of HCV envelope glycoprotein E2. In some embodiments, HCV

antibodies in accordance with the present invention are able to bind to many, most, or all cases of HCV. In some embodiments, monoclonal antibodies find use in a variety of diagnostic assays. HCV antibodies in accordance with the invention find use in passive immunotherapy for reducing viral load of infected individuals. Use of HCV antibodies in accordance with the invention may also interfere with the infection of target cells. Antibodies recognizing conserved epitopes can be used to provide a template for the rational design of peptide and conformationally defined epitope mimetics (*e.g.*, organic compounds, organometallic compounds, inorganic compounds, small molecules, *etc.*). In some embodiments, conserved regions of HCV E2 protein and fragments thereof are provided for use in therapeutics, prophylaxis, diagnostics, and/or other purposes.

[0006] In some embodiments, antibodies in accordance with the invention are directed to conformational epitopes of the E2 protein of HCV. Conformational and linear epitopes of E2 have been identified using a panel of monoclonal antibodies and a series of deletion constructs of E2. Previous studies (*see, e.g.*, U.S. Patent 6,692,908; and U.S. Patent Publications 2006/0104980 and 2006/0188571; all of which are incorporated herein by reference) have reported a class of antibodies that bind to conformational epitopes between E2 amino acids 411 – 644 from HCV 1b. Antibodies of this class have been found to inhibit the interaction of E2 with CD81. Another class of antibodies has been found to bind to conformational epitopes between HCV 1b E2 amino acids 470 – 644. A third class of antibodies binds to conformational epitopes between HCV 1b E2 amino acids 470 – 644 but fails to inhibit the binding of E2 to CD81. A fourth class binds to conformational epitopes between HCV 1b E2 amino acids 644 – 661. A fifth class binds to conformational epitopes between HCV 1b E1 amino acids 230 – 313. A sixth class binds to a linear HCV E1 epitopes derived from multiple genotypes. A seventh class binds to conformational epitopes that include in part HCV 1a E2 amino acids 657 – 698.

[0007] In some embodiments, conformational epitopes to which HCV antibodies are directed are conserved among HCV genotypes (*e.g.*, genotypes 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, and/or combinations thereof). In some embodiments, conformational epitopes to which HCV antibodies are directed are conserved among HCV subtypes (*e.g.*, subtypes 1a, 1b, 1c, 2a, 2b, 2c, 3a, 3b, 4a, 4b, 4c, 4d, 4e, 5a, 6a, 7a, 7b, 8a, 8b, 9a, 10a, 11a, and/or combinations thereof). In some embodiments, conformational epitopes to which HCV antibodies are directed are

conserved among HCV strains. It is estimated that over 100 strains of HCV exist, which are given numerical designations (*e.g.*, 1, 2, 3, *etc.*) after the genotype and subtype indication.

[0008] The present invention provides monoclonal antibodies that recognize HCV E2 epitopes that are more precisely defined than any of the epitopes described above. Antibodies in accordance with the invention cross-compete with some of the previously-described antibodies. However, some antibodies in accordance with the invention neutralize HCV in respected model systems with greater potency than previously-described antibodies. Thus, the present invention encompasses the recognition that the newly-identified antibodies, described herein, may provide greater therapeutic and/or prophylactic benefit than previously-described antibodies.

[0009] In some embodiments, anti-HCV E2 antibodies are selected from the group consisting of human monoclonal antibody HC-1 which is secreted by the hybridoma cell line deposited in the American Type Culture Collection (ATCC) under Accession number PTA-9416; human monoclonal antibody HC-3 secreted by the hybridoma cell line deposited in the ATCC under Accession number PTA-9417; human monoclonal antibody HC-11 secreted by the hybridoma cell line deposited in the ATCC under Accession number PTA-9418; and human monoclonal antibody CBH-23 secreted by the hybridoma cell line deposited in the ATCC under Accession number PTA-9419.

[0010] Antibodies in accordance with the present invention may be combined with pharmaceutically acceptable excipients to provide pharmaceutical formulations. The present invention provides pharmaceutical compositions for treatment, prevention, and/or diagnosis of hepatitis C infection. In some embodiments, pharmaceutical compositions in accordance with the invention comprise human antibodies capable of binding to the HCV envelope glycoprotein E2 and capable of neutralizing HCV infection *in vitro* and *in vivo*.

[0011] In some embodiments, pharmaceutical compositions in accordance with the invention may comprise fragments of HCV antibodies (*e.g.*, HC-1, HC-3, HC-11, and/or CBH-23) that substantially retain the antigen binding characteristics of the whole antibody. In some embodiments, pharmaceutical compositions may comprise HCV antibodies produced by recombinant methods that are well known in the art.

[0012] The present invention provides various therapeutic, prophylactic, and/or diagnostic uses of HCV antibodies in accordance with the invention. In some embodiments, pharmaceutical compositions comprising HC-1, HC-3, HC-11, and CBH-23 antibodies may be

used for the treatment of chronic and/or acute hepatitis C infection by administering to patients a therapeutically effective amount of the antibodies, or fragments thereof, capable of binding to HCV E2. A therapeutically effective amount is an amount sufficient to achieve one or more particular biological effects. A therapeutically effective amount may be administered in a single dose at a single time, or may be distributed over time in multiple individual doses (of the same or different sizes), or in continuous delivery (at a constant or variable rate). In certain embodiments, a therapeutically effective amount is an amount effective to achieve one or more desired biological results including, but not limited to: (i) alleviating one or more symptoms of HCV infection; (ii) reducing the number of circulating viral particles in an individual and/or in any one of an individual's organs (*e.g.*, liver); (iii) preventing reemergence, reducing the likelihood of reemergence, and/or delaying the reemergence of one or more symptoms of HCV infection; and/or (iv) preventing, reducing the likelihood of, and/or delaying the onset of an increase in the number of circulating viral particles in an HCV-infected individual and/or in any one of an individual's organs (*e.g.*, liver). Pharmaceutical compositions in accordance with the invention may be used to prevent, reduce the recurrence of, and/or delay the onset of HCV infection. They may be used, for example, for passive immunization of individuals recently exposed to HCV or at risk of being exposed to HCV, newborn babies born to HCV-positive mothers, and/or liver transplantation patients (*e.g.*, to prevent possible recurrent HCV infections in such patients).

[0013] The invention also provides pharmaceutical compositions comprising therapeutically effective amounts of antibodies in accordance with the invention combined with at least one other anti-viral agent as an additional active ingredient. Such agents may include, but are not limited to, interferons (*e.g.*, interferon α -2b, interferon- γ , *etc.*), anti-HCV monoclonal antibodies, anti-HCV polyclonal antibodies, RNA polymerase inhibitors, protease inhibitors, ribavirin, IRES inhibitors, helicase inhibitors, immunomodulators, antisense compounds, short interfering RNAs, short hairpin RNAs, micro RNAs, RNA aptamers, ribozymes, and combinations thereof.

[0014] Antibodies in accordance with the present invention define conformational epitopes in the HCV E2 protein, and compositions and compounds containing such epitopes are provided. For example, the present invention provides proteins, peptides, and small molecules comprising conformational epitopes of HCV E2 protein. Peptides may contain one or more epitopes recognized by antibodies in accordance with the present invention. In certain embodiments,

proteins are strings of concatenated peptides with optional linking sequences, at least one of which contains at least one conformational epitope of HCV. Peptides of the string may contain different conformational epitopes of HCV E2 protein. Alternatively, peptides of the string may all contain the same epitope. In general, it is desirable that the peptides of the string fold properly in order to display the conformational epitope(s) substantially as it appears in nature. Such proteins and peptides may be used in formulating vaccines or used in diagnostic tests.

[0015] The present invention also provides methods for stratifying patients based on their immunological response to HCV and for identifying those patients likely to respond well to HCV immunotherapy. For example, a patient's serum may be used to test for the presence of antibodies directed against a particular epitope of HCV. If the patient does not have adequate levels of antibodies directed to such an epitope, specifically a conformational epitope of HCV E2 protein, human monoclonal antibodies directed against the epitope may be administered to the patient. The patient's own immune response may be supplemented with antibodies in accordance with the invention or compositions thereof. In certain embodiments, immunotherapy aids in clearance of HCV virus and/or resolution of HCV infection. In certain embodiments, immunotherapy in accordance with the present invention treats and/or prevents chronic HCV infection.

Definitions

[0016] *Amino acid:* As used herein, term "amino acid," in its broadest sense, refers to any compound and/or substance that can be incorporated into a polypeptide chain. In some embodiments, an amino acid has the general structure $\text{H}_2\text{N}-\text{C}(\text{H})(\text{R})-\text{COOH}$. In some embodiments, an amino acid is a naturally occurring amino acid. In some embodiments, an amino acid is a synthetic amino acid; in some embodiments, an amino acid is a D-amino acid; in some embodiments, an amino acid is an L-amino acid. "Standard amino acid" refers to any of the twenty standard L-amino acids commonly found in naturally occurring peptides. "Nonstandard amino acid" refers to any amino acid, other than the standard amino acids, regardless of whether it is prepared synthetically or obtained from a natural source. As used herein, "synthetic amino acid" encompasses chemically modified amino acids, including but not limited to salts, amino acid derivatives (such as amides), and/or substitutions. Amino acids, including carboxy- and/or amino-terminal amino acids in peptides, can be modified by

methylation, amidation, acetylation, protecting groups, and/or substitution with other chemical groups that can change the peptide's circulating half-life without adversely affecting their activity. Amino acids may participate in a disulfide bond. Amino acids may comprise one or posttranslational modifications, such as association with one or more chemical entities (*e.g.*, methyl groups, acetate groups, acetyl groups, phosphate groups, formyl moieties, isoprenoid groups, sulfate groups, polyethylene glycol moieties, lipid moieties, carbohydrate moieties, biotin moieties, *etc.*). The term "amino acid" is used interchangeably with "amino acid residue," and may refer to a free amino acid and/or to an amino acid residue of a peptide. It will be apparent from the context in which the term is used whether it refers to a free amino acid or a residue of a peptide.

[0017] *Animal*: As used herein, the term "animal" refers to any member of the animal kingdom. In some embodiments, "animal" refers to humans, of either sex and at any stage of development. In some embodiments, "animal" refers to non-human animals, at any stage of development. In certain embodiments, the non-human animal is a mammal (*e.g.*, a rodent, a mouse, a rat, a rabbit, a monkey, a dog, a cat, a sheep, cattle, a primate, and/or a pig). In some embodiments, animals include, but are not limited to, mammals, birds, reptiles, amphibians, fish, insects, and/or worms. In certain embodiments, the animal is susceptible to infection by HCV. In some embodiments, an animal may be a transgenic animal, genetically engineered animal, and/or a clone.

[0018] *Antibody*: As used herein, the term "antibody" refers to any immunoglobulin, whether natural or wholly or partially synthetically produced. All derivatives thereof which maintain specific binding ability are also included in the term. The term also covers any protein having a binding domain which is homologous or largely homologous to an immunoglobulin-binding domain. Such proteins may be derived from natural sources, or partly or wholly synthetically produced. An antibody may be monoclonal or polyclonal. An antibody may be a member of any immunoglobulin class, including any of the human classes: IgG, IgM, IgA, IgD, and IgE. In certain embodiments, an antibody may be a member of the IgG immunoglobulin class. As used herein, the terms "antibody fragment" or "characteristic portion of an antibody" are used interchangeably and refer to any derivative of an antibody which is less than full-length. In general, an antibody fragment retains at least a significant portion of the full-length antibody's specific binding ability. Examples of antibody fragments include, but are not limited to, Fab,

Fab', F(ab')₂, scFv, Fv, dsFv diabody, and Fd fragments. An antibody fragment may be produced by any means. For example, an antibody fragment may be enzymatically or chemically produced by fragmentation of an intact antibody and/or it may be recombinantly produced from a gene encoding the partial antibody sequence. Alternatively or additionally, an antibody fragment may be wholly or partially synthetically produced. An antibody fragment may optionally comprise a single chain antibody fragment. Alternatively or additionally, an antibody fragment may comprise multiple chains which are linked together, for example, by disulfide linkages. An antibody fragment may optionally comprise a multimolecular complex. A functional antibody fragment typically comprises at least about 50 amino acids and more typically comprises at least about 200 amino acids. In some embodiments, an antibody may be a human antibody. In some embodiments, an antibody may be a humanized antibody.

[0019] *Approximately:* As used herein, the term “approximately” or “about,” as applied to one or more values of interest, refers to a value that is similar to a stated reference value. In certain embodiments, the term “approximately” or “about” refers to a range of values that fall within 25%, 20%, 19%, 18%, 17%, 16%, 15%, 14%, 13%, 12%, 11%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, or less in either direction (greater than or less than) of the stated reference value unless otherwise stated or otherwise evident from the context (except where such number would exceed 100% of a possible value).

[0020] *Biologically active:* As used herein, the phrase “biologically active” refers to a characteristic of any substance that has activity in a biological system (*e.g.*, cell culture, organism, *etc.*). For instance, a substance that, when administered to an organism, has a biological effect on that organism, is considered to be biologically active. In particular embodiments, where a protein or polypeptide is biologically active, a portion of that protein or polypeptide that shares at least one biological activity of the protein or polypeptide is typically referred to as a “biologically active” portion.

[0021] *Characteristic portion:* As used herein, the term a “characteristic portion” of a substance, in the broadest sense, is one that shares some degree of sequence or structural identity with respect to the whole substance. In certain embodiments, a characteristic portion shares at least one functional characteristic with the intact substance. For example, a “characteristic portion” of a protein or polypeptide is one that contains a continuous stretch of amino acids, or a collection of continuous stretches of amino acids, that together are characteristic of a protein or

polypeptide. In some embodiments, each such continuous stretch generally contains at least 2, 5, 10, 15, 20, 50, or more amino acids. In general, a characteristic portion of a substance (*e.g.*, of a protein, antibody, *etc.*) is one that, in addition to the sequence and/or structural identity specified above, shares at least one functional characteristic with the relevant intact substance. In some embodiments, a characteristic portion may be biologically active.

[0022] *Expression:* As used herein, “expression” of a nucleic acid sequence refers to one or more of the following events: (1) production of an RNA template from a DNA sequence (*e.g.*, by transcription); (2) processing of an RNA transcript (*e.g.*, by splicing, editing, 5’ cap formation, and/or 3’ end formation); (3) translation of an RNA into a polypeptide or protein; and/or (4) post-translational modification of a polypeptide or protein.

[0001] *Functional:* As used herein, a “functional” biological molecule is a biological molecule in a form in which it exhibits a property and/or activity by which it is characterized.

[0023] *Gene:* As used herein, the term “gene” has its meaning as understood in the art. It will be appreciated by those of ordinary skill in the art that the term “gene” may include gene regulatory sequences (*e.g.*, promoters, enhancers, *etc.*) and/or intron sequences. It will further be appreciated that definitions of gene include references to nucleic acids that do not encode proteins but rather encode functional RNA molecules such as tRNAs, RNAi-inducing agents, *etc.* For the purpose of clarity we note that, as used in the present application, the term “gene” generally refers to a portion of a nucleic acid that encodes a protein; the term may optionally encompass regulatory sequences, as will be clear from context to those of ordinary skill in the art. This definition is not intended to exclude application of the term “gene” to non-protein-coding expression units but rather to clarify that, in most cases, the term as used in this document refers to a protein-coding nucleic acid.

[0024] *Gene product or expression product:* As used herein, the term “gene product” or “expression product” generally refers to an RNA transcribed from the gene (pre-and/or post-processing) or a polypeptide (pre- and/or post-modification) encoded by an RNA transcribed from the gene.

[0025] *Homology:* As used herein, the term “homology” refers to the overall relatedness between polymeric molecules, *e.g.*, between nucleic acid molecules (*e.g.*, DNA molecules and/or RNA molecules) and/or between polypeptide molecules. In some embodiments, polymeric molecules are considered to be “homologous” to one another if their sequences are at least 25%,

30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, or 99% identical. In some embodiments, polymeric molecules are considered to be "homologous" to one another if their sequences are at least 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, or 99% similar.

[0026] *Identity*: As used herein, the term "identity" refers to the overall relatedness between polymeric molecules, *e.g.*, between nucleic acid molecules (*e.g.*, DNA molecules and/or RNA molecules) and/or between polypeptide molecules. Calculation of the percent identity of two nucleic acid sequences, for example, can be performed by aligning the two sequences for optimal comparison purposes (*e.g.*, gaps can be introduced in one or both of a first and a second nucleic acid sequences for optimal alignment and non-identical sequences can be disregarded for comparison purposes). In certain embodiments, the length of a sequence aligned for comparison purposes is at least 30%, at least 40%, at least 50%, at least 60%, at least 70%, at least 80%, at least 90%, at least 95%, or substantially 100% of the length of the reference sequence. The nucleotides at corresponding nucleotide positions are then compared. When a position in the first sequence is occupied by the same nucleotide as the corresponding position in the second sequence, then the molecules are identical at that position. The percent identity between the two sequences is a function of the number of identical positions shared by the sequences, taking into account the number of gaps, and the length of each gap, which needs to be introduced for optimal alignment of the two sequences. The comparison of sequences and determination of percent identity between two sequences can be accomplished using a mathematical algorithm. For example, the percent identity between two nucleotide sequences can be determined using the algorithm of Meyers and Miller (CABIOS, 1989, 4: 11-17), which has been incorporated into the ALIGN program (version 2.0) using a PAM120 weight residue table, a gap length penalty of 12 and a gap penalty of 4. The percent identity between two nucleotide sequences can, alternatively, be determined using the GAP program in the GCG software package using an NWSgapdna.CMP matrix.

[0027] *Isolated*: As used herein, the term "isolated" refers to a substance and/or entity that has been (1) separated from at least some of the components with which it was associated when initially produced (whether in nature and/or in an experimental setting), and/or (2) produced, prepared, and/or manufactured by the hand of man. Isolated substances and/or entities may be separated from about 10%, about 20%, about 30%, about 40%, about 50%, about 60%, about

70%, about 80%, about 90%, about 91%, about 92%, about 93%, about 94%, about 95%, about 96%, about 97%, about 98%, about 99%, or more than about 99% of the other components with which they were initially associated. In some embodiments, isolated agents are about 80%, about 85%, about 90%, about 91%, about 92%, about 93%, about 94%, about 95%, about 96%, about 97%, about 98%, about 99%, or more than about 99% pure. As used herein, a substance is “pure” if it is substantially free of other components. As used herein, calculation of percent purity of isolated substances and/or entities should not include excipients (*e.g.*, buffer, solvent, water, *etc.*)

[0028] *Mimotope*: As used herein, the term “mimotope” refers to a macromolecule which mimics the structure of an epitope. In some embodiments, a mimotope elicits an antibody response identical or similar to that elicited by its corresponding epitope. In some embodiments, an antibody that recognizes an epitope also recognizes a mimotope which mimics that epitope. In some embodiments, a mimotope is a peptide. In some embodiments, a mimotope is a small molecule, carbohydrate, lipid, or nucleic acid. In some embodiments, mimotopes are peptide or non-peptide mimotopes of conformationally-conserved HCV epitopes. In some embodiments, by mimicking the structure of the conformationally defined viral epitope, a mimotope interferes with the ability of HCV virus particles to bind to its natural binding partners (*e.g.*, HCV target receptor, E1 protein, *etc.*), *e.g.*, by binding to the natural binding partner itself.

[0029] *Nucleic acid*: As used herein, the term “nucleic acid,” in its broadest sense, refers to any compound and/or substance that is or can be incorporated into an oligonucleotide chain. In some embodiments, a nucleic acid is a compound and/or substance that is or can be incorporated into an oligonucleotide chain via a phosphodiester linkage. In some embodiments, “nucleic acid” refers to individual nucleic acid residues (*e.g.*, nucleotides and/or nucleosides). In some embodiments, “nucleic acid” refers to an oligonucleotide chain comprising individual nucleic acid residues. As used herein, the terms “oligonucleotide” and “polynucleotide” can be used interchangeably. In some embodiments, “nucleic acid” encompasses RNA as well as single and/or double-stranded DNA and/or cDNA. Furthermore, the terms “nucleic acid,” “DNA,” “RNA,” and/or similar terms include nucleic acid analogs, *i.e.*, analogs having other than a phosphodiester backbone. For example, the so-called “peptide nucleic acids,” which are known in the art and have peptide bonds instead of phosphodiester bonds in the backbone, are considered within the scope of the present invention. The term “nucleotide sequence encoding

an amino acid sequence” includes all nucleotide sequences that are degenerate versions of each other and/or encode the same amino acid sequence. Nucleotide sequences that encode proteins and/or RNA may include introns. Nucleic acids can be purified from natural sources, produced using recombinant expression systems and optionally purified, chemically synthesized, *etc.* Where appropriate, *e.g.*, in the case of chemically synthesized molecules, nucleic acids can comprise nucleoside analogs such as analogs having chemically modified bases or sugars, backbone modifications, *etc.* A nucleic acid sequence is presented in the 5’ to 3’ direction unless otherwise indicated. The term “nucleic acid segment” is used herein to refer to a nucleic acid sequence that is a portion of a longer nucleic acid sequence. In many embodiments, a nucleic acid segment comprises at least 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, or more residues. In some embodiments, a nucleic acid is or comprises natural nucleosides (*e.g.*, adenosine, thymidine, guanosine, cytidine, uridine, deoxyadenosine, deoxythymidine, deoxyguanosine, and deoxycytidine); nucleoside analogs (*e.g.*, 2-aminoadenosine, 2-thiothymidine, inosine, pyrrolo-pyrimidine, 3-methyl adenosine, 5-methylcytidine, C-5 propynyl-cytidine, C-5 propynyl-uridine, 2-aminoadenosine, C5-bromouridine, C5-fluorouridine, C5-iodouridine, C5-propynyl-uridine, C5-propynyl-cytidine, C5-methylcytidine, 2-aminoadenosine, 7-deazaadenosine, 7-deazaguanosine, 8-oxoadenosine, 8-oxoguanosine, O(6)-methylguanine, and 2-thiocytidine); chemically modified bases; biologically modified bases (*e.g.*, methylated bases); intercalated bases; modified sugars (*e.g.*, 2’-fluororibose, ribose, 2’-deoxyribose, arabinose, and hexose); and/or modified phosphate groups (*e.g.*, phosphorothioates and 5’-*N*-phosphoramidite linkages). In some embodiments, the present invention is specifically directed to “unmodified nucleic acids,” meaning nucleic acids (*e.g.*, polynucleotides and residues, including nucleotides and/or nucleosides) that have not been chemically modified in order to facilitate or achieve delivery.

[0030] *Protein:* As used herein, the term “protein” refers to a polypeptide (*i.e.*, a string of at least two amino acids linked to one another by peptide bonds). Proteins may include moieties other than amino acids (*e.g.*, may be glycoproteins, proteoglycans, *etc.*) and/or may be otherwise processed or modified. Those of ordinary skill in the art will appreciate that a “protein” can be a complete polypeptide chain as produced by a cell (with or without a signal sequence), or can be a characteristic portion thereof. Those of ordinary skill will appreciate that a protein can sometimes include more than one polypeptide chain, for example linked by one or more disulfide bonds or associated by other means. Polypeptides may contain L-amino acids, D-amino acids, or

both and may contain any of a variety of amino acid modifications or analogs known in the art. Useful modifications include, *e.g.*, terminal acetylation, amidation, methylation, *etc.* In some embodiments, proteins may comprise natural amino acids, non-natural amino acids, synthetic amino acids, and combinations thereof. The term “peptide” is generally used to refer to a polypeptide having a length of less than about 100 amino acids, less than about 50 amino acids, less than 20 amino acids, or less than 10 amino acids. In some embodiments, proteins are antibodies, antibody fragments, biologically active portions thereof, and/or characteristic portions thereof.

[0031] *Recurrent HCV infection:* As used herein, a “recurrent HCV infection” refers to reemergence of clinical and/or laboratory evidence of infection, *e.g.*, one or more symptoms of infection or the presence of circulating HCV particles and/or HCV particles in the subject’s liver. In some embodiments, a recurrent HCV infection refers to such a condition in a subject who has been previously infected with HCV but who has received a liver transplant.

[0032] *Small Molecule:* In general, a “small molecule” is understood in the art to be an organic molecule that is less than about 2000 g/mol, less than about 1500 g/mol, less than about 1000 g/mol, less than about 800 g/mol, or less than about 500 g/mol. In some embodiments, small molecules are non-polymeric. In some embodiments, small molecules are not proteins, peptides, or amino acids. In some embodiments, small molecules are not nucleic acids or nucleotides. In some embodiments, small molecules are not saccharides or polysaccharides.

[0033] *Subject:* As used herein, the term “subject” or “patient” refers to any organism to which a composition of this invention may be administered, *e.g.*, for experimental, diagnostic, prophylactic, and/or therapeutic purposes. Typical subjects include animals (*e.g.*, mammals such as mice, rats, rabbits, non-human primates, and humans; insects; worms; *etc.*). In some embodiments, a subject may be infected with, suffering from, and/or susceptible to HCV.

[0034] *Substantially:* As used herein, the term “substantially” refers to the qualitative condition of exhibiting total or near-total extent or degree of a characteristic or property of interest. One of ordinary skill in the biological arts will understand that biological and chemical phenomena rarely, if ever, go to completion and/or proceed to completeness or achieve or avoid an absolute result. The term “substantially” is therefore used herein to capture the potential lack of completeness inherent in many biological and chemical phenomena.

[0035] *Suffering from:* An individual who is “suffering from” a disease, disorder, and/or condition (e.g., HCV infection) has been diagnosed with and/or displays one or more symptoms of a disease, disorder, and/or condition.

[0002] *Susceptible to:* An individual who is “susceptible to” a disease, disorder, and/or condition (e.g., HCV infection) has not been diagnosed with a disease, disorder, and/or condition. In some embodiments, an individual who is susceptible to a disease, disorder, and/or condition may exhibit symptoms of the disease, disorder, and/or condition. In some embodiments, an individual who is susceptible to a disease, disorder, and/or condition may not exhibit symptoms of the disease, disorder, and/or condition. In some embodiments, an individual who is susceptible to a disease, disorder, and/or condition will develop the disease, disorder, and/or condition. In some embodiments, an individual who is susceptible to a disease, disorder, and/or condition will not develop the disease, disorder, and/or condition.

[0036] *Therapeutically effective amount:* As used herein, the term “therapeutically effective amount” means an amount of inventive composition that is sufficient, when administered to a subject suffering from or susceptible to a disease, disorder, and/or condition (e.g., HCV infection), to treat, diagnose, prevent, and/or delay the onset of the disease, disorder, and/or condition.

[0037] *Therapeutic agent:* As used herein, the phrase “therapeutic agent” refers to any agent that, when administered to a subject, has a therapeutic effect and/or elicits a desired biological and/or pharmacological effect. In some embodiments, a therapeutic agent is any substance that can be used to alleviate, ameliorate, relieve, inhibit, prevent, delay onset of, reduce severity of and/or reduce incidence of one or more symptoms or features of HCV infection.

[0038] *Treating:* As used herein, the term “treat,” “treatment,” or “treating” refers to any method used to partially or completely alleviate, ameliorate, relieve, inhibit, prevent, delay onset of, reduce severity of and/or reduce incidence of one or more symptoms or features of a disease, disorder, and/or condition (e.g., HCV infection). Treatment may be administered to a subject who does not exhibit signs of a disease, disorder, and/or condition. In some embodiments, treatment may be administered to a subject who exhibits only early signs of the disease, disorder, and/or condition for the purpose of decreasing the risk of developing pathology associated with the disease, disorder, and/or condition.

[0039] *Vector*: As used herein, “vector” refers to a nucleic acid molecule capable of transporting another nucleic acid to which it is associated. In some embodiment, vectors are capable of extra-chromosomal replication and/or expression of nucleic acids to which they are linked in a host cell such as a eukaryotic and/or prokaryotic cell. Vectors capable of directing the expression of operatively linked genes are referred to herein as “expression vectors.”

HCV Nomenclature

[0040] It is well known by those skilled in the art that HCV nomenclature typically utilizes an Arabic numeral (e.g., “1,” “2,” “3,” “4,” *etc.*) that represents HCV genotype and a lowercase letter (e.g., “a,” “b,” *etc.*) that represents HCV subtype. Although the rules of nomenclature are generally accepted in the art, those of ordinary skill in the art recognize that the rules of nomenclature are not always strictly followed by those of skill in the art in publications, presentations, conversation, *etc.* Thus, those skilled in the art would recognize that, for example, it is implicit that “HCV 1a,” “HCV genotype 1a,” and “HCV subtype 1a” could be used interchangeably by one of skill in the art, and that all three terms are intended to refer to HCV genotype 1, subtype a.

[0041] As used herein, Arabic numerals (e.g., “1,” “2,” “3,” “4,” *etc.*) are used to refer to HCV genotype, and lowercase letters (e.g., “a,” “b,” *etc.*) are used to refer to HCV subtypes. It will also be understood that, when HCV of a particular genotype is referred to herein, it is meant to encompass all subtypes of the named genotype. To give but one example, “genotype 1” is used herein to refer to all subtypes of genotype 1 (e.g., genotype 1, subtype a; genotype 1, subtype b; *etc.*).

[0042] As used herein, any Arabic numerals (e.g., “1,” “2,” “3,” “4,” *etc.*) that are present *after* the genotype and subtype designations will be understood to refer to the HCV strain.

Brief Description of the Drawing

[0043] *Figure 1: Binding to different HCV genotypes by indirect immunofluorescent assay.* 293T cells were transfected with the constructs bearing E1E2 sequences of genotypes 1 to 6. Twenty-four hours post-transfection, cells were fixed onto slides, and antibody binding to fixed

cells was detected by fluorescence microscopy. HC-1, HC-3, HC-11, and CBH-23 bound to genotypes 1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 4, 5, and 6.

[0044] *Figure 2: Human monoclonal antibodies V_L and V_H domain CDR sequences translated from cDNA sequences.* Analysis revealed that each antibody contains distinct V_L and V_H CDR sequences.

[0045] *Figure 3: IgG subclass typing.* HC-1 is IgG2, whereas HC-3, HC-11, and CBH-23 are IgG1.

[0046] *Figure 4: Neutralization with different HCV genotypes.* Each antibody was tested at 20 μ g/ml for its ability to neutralize different HCV genotypes. The numbers are percent neutralization compared to no antibody control. RO4 is an isotype-matched human monoclonal antibody to HCMV and serves as a negative control.

[0047] *Figure 5: Antibody competition assay.* Competition analysis with representative biotin-labeled domains A (CBH-4D), B (CBH-5), and C (CBH-7) HCV antibodies was performed. HC-1 and HC-11 showed minimum competition with domains A and C antibodies, and 60% – 80% competition with CBH-5, suggesting that epitopes recognized by these new antibodies are located within domain B. CBH-23 showed minimum or no competition with domains A and B antibodies, and >90% competition with CBH-7, suggesting that this epitope is located within domain C. HC-3 showed minimum or no competition with domains A, B, and C antibodies, suggesting that this antibody recognizes a new distinct domain. Each control antibody (*i.e.*, CBH-4D, CBH-5 and CBH-7) inhibits itself and minimally inhibits the other two antibodies.

[0048] *Figure 6: Inhibition of E2 binding to CD81 by human monoclonal antibodies.* Genotype 1b E1E2 expressed in 293T containing 1 μ g/ml E2 was incubated with each test antibody at 10 μ g/ml and the antibody-antigen complex was then added onto CD81 pre-coated wells. Detection of bound E2 to CD81 was measured with biotinylated CBH-4D. CBH-5 was used as a positive control and RO4 as a negative control. Preincubation of E2 glycoproteins with HC-1, HC-11, CBH-23, or CBH-5 reduced by over 90% E2 binding to CD81 compared to the RO4 negative control. Similar to other domain B or C HCV antibodies, these HCV antibodies neutralize HCV by blocking E2 binding to CD81. In contrast, preincubation of E2 glycoproteins in the presence of HC-3 did not reduce E2 binding to CD81. Experiments were performed twice in triplicate. Error bars indicate one standard deviation from the mean.

[0049] *Figure 7: Epitope mapping of HC-1 and HC-11 by alanine replacement.* Mutations were introduced into E2 from genotype 1a H77c strain (GenBank accession no. AF009606) by site-directed mutagenesis (Stratagene, CA). Mutated E2 proteins were expressed in 293T cells and analyzed by ELISA. Mutated amino acids are depicted on the y-axis. The number at the beginning of each peptide corresponds to the position in the polyprotein of reference strain H. (A) HC-1 and (B) HC-11 HCV antibodies binding to each mutant is expressed as the percent of binding value normalized by the binding of CBH-17 and divided by HC antibody binding to the wild-type on the x-axis.

[0050] *Figure 8: Epitope mapping of HC-3 by alanine replacement.* Alanine replacement was performed as shown in Figure 7.

[0051] *Figure 9: Time course of antibody-mediated neutralization of HCVpp infection.* To approximate the step that HC-3 inhibits during the entry pathway, a time course study was performed compared to domain B and an antibody to CD81. There are similar patterns of progressive loss in blocking virus entry with both anti-CD81 and the domain B HCV antibody, HC-11. This is expected as domain B HCV antibodies inhibit virus entry by blocking E2 binding to CD81. The similarity in patterns with HC-3 with these two antibodies suggests that HC-3 inhibits virus entry at a temporal step near virus interaction with CD81. This includes the possible inhibition of E2 interaction with a different HCV co-receptor, such as SR-B1 or a step immediately following CD81 engagement.

[0052] *Figure 10: HC-3 epitope is involved in E1-E2 dimerization.* Compared to H77c, HCVpp mutants R657A and D658A (and to a lesser extent, F679A) showed significant reduction in E1 in the cushion pellet HCVpp. This suggests that these residues are involved in heterodimer formation between E1 and E2. These residues have not been previously identified as being involved in E1E2 dimerization. Similar observations were observed with E1E2 from cell lysates. The E431A mutant serves as a control of a mutation not affecting heterodimer formation.

[0053] *Figure 11: Effect of HC-3 epitope mutagenesis on the infectivity of HCVpp.* Infectivity of virus having R657A, D658A and F679A, L692A, I696A, or D698A mutations was determined. Each mutation is lethal to the virus. A control mutation at E431A showed no change.

Description of Certain Embodiments of the Invention

[0054] The present invention provides antibodies which recognize hepatitis C virus (HCV) envelope glycoprotein 2 (E2). In some embodiments, HCV E2 antibodies are monoclonal antibodies, such as human monoclonal antibodies. In some embodiments, HCV E2 antibodies bind to E2 associated with one or more hepatitis C virus (HCV) genotypes and/or subtypes. In some embodiments, HCV E2 antibodies are useful for therapeutic, diagnostic, and/or prophylactic applications. The present invention provides pharmaceutical compositions comprising HCV E2 antibodies and methods for treating patients using HCV E2 antibodies.

[0055] In some embodiments, HCV E2 antibodies are identified and isolated from serum from infected patients. As described in the examples, a group of human monoclonal antibodies from peripheral B-cells of three HCV-infected individuals having high serum neutralization of binding titers were produced and characterized. Four human monoclonal antibodies to HCV E2 were produced and isolated, HC-1, HC-3, HC-11, and CBH-23. All four antibodies bind to genotypes 1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 4, 5, and 6 of HCV (Figure 1). These antibodies bind to conformational epitopes, which are conserved across virus types and genotypes. HC-1, HC-11 and CBH-23 inhibit the interaction of E2 protein with human CD81 (Figure 6). HC-3 does not inhibit E2 binding to CD81 (Figure 6).

[0056] In some embodiments, HCV E2 antibodies in accordance with the invention provide for neutralization of a broad spectrum of HCV genotypes and/or subtypes. Both breadth of reactivity to multiple HCV genotypes and/or subtypes and the ability to interfere with the binding of HCV virions to susceptible cells are desirable for a therapeutically useful neutralizing antibody. The present invention also provides for design of peptide and non-peptide structural mimetics of HCV envelope proteins.

Hepatitis C Virus (HCV)

[0057] Hepatitis C virus (HCV) is an enveloped virus the genetic information for which is encoded in a 9.5 kb positive strand RNA genome. A highly conserved noncoding region of 341 bp is localized at the 5'-end of this viral genome, which is followed by a long open-reading frame coding for a polyprotein of approximately 3,010 amino acids. Two putative envelope glycoproteins E1 (gp35) and E2 (gp72) have been identified with 5 or 6 and 11 *N*-linked glycosylation sites, respectively. A high level of genetic variability is associated with the envelope genes. This variability is highly accentuated at the 5'-end of the E2 gene, where two

hypervariable regions termed HVR1 and HVR2, have been described. Antibodies to HVR1 appear to mediate virus neutralization in cell culture and chimpanzee protection studies (Farci *et al.*, 1996, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 93:15394-15399; and Shimizu *et al.*, 1994, *J. Virol.*, 68:1494-1500; both of which are incorporated herein by reference). Although progress has been made at inducing a broader immune response to HVR1 related sequences (Puntoriero *et al.*, 1998, *EMBO J.*, 17:3521-3533; incorporated herein by reference), unfortunately, antibodies to HVR1 tend to be isolate-specific and over time drive the replication of new viral variants that the existing immune response does not recognize (Farci *et al.*, 1994, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 91:7792-7796; Weiner *et al.*, 1992, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 89:3468-3472; and Kato *et al.*, 1993, *J. Virol.*, 67:3923-3930; all of which are incorporated herein by reference). HCV envelope antigens appear to be highly immunogenic when expressed in glycosylated forms (da Silva Cardoso *et al.*, 1997, *Ann. Hematol.*, 74:135-7; incorporated herein by reference). Preliminary data suggest the existence of conserved epitopes within the E2 protein (Lcsniewski *et al.*, 1995, *J. Med. Virol.*, 45:415-22; incorporated herein by reference). The existence of neutralizing antibodies in serum from infected patients has been proposed.

[0058] Studies using HCV E1-E2 proteins expressed in mammalian cells have shown that infected individuals have an antibody response to HCV E2 composed in part to epitopes that are both conformational and linear in nature (Harada *et al.*, 1994, *J. Gen. Virol.*, 76:1223-1231; incorporated herein by reference). Studies involving the isolation of human monoclonal or recombinant antibodies to HCV E2 protein showed that a substantial fraction of these antibodies recognize conformational epitopes (da Silva Cardoso *et al.*, 1998, *J. Med. Virol.*, 55:28-34; incorporated herein by reference). As to biological function of these domains, investigators have employed surrogate assays to provide insights into virus neutralization since the virus cannot be grown *in vitro* (Houghton, "Hepatitis C viruses," In Fields, Knipe, Howley (eds.) *Virology*, Lippincott-Raven, Philadelphia, 1035-1058; incorporated herein by reference). One surrogate assay, the neutralization of binding (NOB) assay, evaluates the ability of a given antibody or serum to prevent the association of HCV E2 protein with a human T-cell line (Rosa *et al.*, 1996 *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 93:1759-1763; incorporated herein by reference). The finding that serum antibodies obtained from chimpanzees protected by vaccination were strongly positive in the NOB assay provides support for the relevance of the assay as a measure of virus

neutralization activity (Rosa *et al.*, *supra*; and Ishii *et al.*, 1998, *Hepatology*, 28:1117-1120; both of which are incorporated herein by reference).

[0059] The human tetraspannin cell surface protein CD81 (also known as TAPA-1; for review see Levy *et al.*, 1998, *Ann. Rev. Immunol.*, 16:89-109; incorporated herein by reference) is the target protein bound by HCV E2 in the NOB assay (Pileri *et al.*, 1998, *Science*, 282:938-941; incorporated herein by reference). Furthermore, human CD81 binds to free virions, and subsequently is a possible receptor for HCV (Pileri *et al.*, *supra*). However, little is known about the conservation of the epitopes recognized by the previously identified NOB positive antibodies in HCV E2 proteins of different genotypes and/or subtypes.

[0060] Other approaches to detection of and protection against HCV include the development of peptide mimetics. As an example, peptide mimetics of Hepatitis type A and C viral proteins have been created through production of randomly generated synthetic and phage-display peptide libraries for use in detection assays and vaccination therapies (Mattioli *et al.*, 1995, *J. Virol.*, 69:5294-5299; and Prezzi *et al.*, 1996, *J. Immunol.*, 156:4504-4513; both of which are incorporated herein by reference). However, effective antibody binding of these mimotopes has only been compared to linearly defined viral epitopes. The sequential recombinant fusing of several linearly defined immunodominant HCV epitopes has been described for use in diagnostic assays (Chein *et al.*, 1999, *J. Clin. Microbiol.*, 37:1393-1397; incorporated herein by reference). However, this multiple-epitope fusion antigen designed from linear epitopes was not created to function in the same capacity as a conformational mimetic. It was not designed to interfere with binding to a target receptor.

[0061] References providing background information concerning HCV include Abrignani, 1997, *Springer Semin. Immunopathology*, 19:47-55; Simmonds, 1995, *Hepatology*, 21:570:583; and Mahaney *et al.*, 1994, *Hepatology*, 20:1405-1411; all of which are incorporated herein by reference. Vaccinia virus or baculovirus constructs having a portion of the HCV genome are described by Ralston *et al.* (1993, *J. Virology*, 67:6733-6761; incorporated herein by reference) and Lanford *et al.* (1993, *Virology*, 197:225-235; incorporated herein by reference).

HCV Antibodies

[0062] HCV envelope glycoprotein genes display some of the highest levels of genetic heterogeneity across genotypes and subtypes, with E2 displaying greater variability than E1. A

hypervariable region (HVR1) found at the N-terminus of E2 is highly immunogenic and is the major determinant for isolate-specific neutralizing antibody responses (Farci *et al.*, 1996, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 93:15394; and Shimizu *et al.*, 1994, *J. Virol.*, 68:1494; both of which are incorporated herein by reference). A study of sequential HCV isolates obtained from serum samples collected over a 26-year period from a specific patient showed that the serum antibodies fail to neutralize the concurrent dominant E1E2 species present at the same time point (von Hahn *et al.*, 2007, *Gastroenterology*, 132:667; incorporated herein by reference). Escape is associated with mutations in HVR1 leading to decreased binding and neutralization by monoclonal antibodies to HVR1 that were produced to the earliest isolate obtained from this patient. More broadly neutralizing antibodies are usually directed against conformational epitopes within E2 (Allander *et al.*, 2000, *J. Gen. Virol.*, 81:2451; Bugli *et al.*, 2001, *J. Virol.*, 75:9986; Habersetzer *et al.*, 1998, *Virology*, 249:32; Hadlock *et al.*, 2000, *J. Virol.*, 74:10407; and Ishii *et al.*, 1998, *Hepatology*, 28:1117; all of which are incorporated herein by reference).

[0063] The present inventors previously described a panel of neutralizing and nonneutralizing human monoclonal antibodies to conformational epitopes on HCV E2 derived from peripheral B cells of an individual infected with genotype 1b HCV. By cross-competition analysis three immunogenic clusters of overlapping epitopes with distinct functions and properties were identified (Keck *et al.*, 2005, *J. Virol.*, 79:13199; and Keck *et al.*, 2004, *J. Virol.*, 78:9224; both of which are incorporated herein by reference). All nonneutralizing antibodies fell within one cluster designated as domain A (Keck *et al.*, 2005, *J. Virol.*, 79:13199; incorporated herein by reference). Neutralizing antibodies segregated into two clusters, designated as domains B and C, with domain B antibodies having greater potency than domain C antibodies in blocking genotype 2a infectious cell culture virus (HCVcc) infection (Keck *et al.*, 2007, *J. Virol.*, 81:1043; incorporated herein by reference). All domain B antibodies as well as domain C antibodies were shown to inhibit E2 binding to CD81, a receptor for HCV shown to be essential for HCVpp and HCVcc entry into host cells (Hsu *et al.*, 2003, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 100:7271; and Tscherne *et al.*, 2006, *J. Virol.*, 80:1734; both of which are incorporated herein by reference).

[0064] Although four antibodies to overlapping epitopes within domain B were previously isolated from one HCV infected individual, it remains unclear to the extent that domain B epitopes on E2 are dominant targets of the immune response. Example 1 describes the isolation of two new human monoclonal antibodies, HC-1 and HC-11, from a genotype 1a HCV infected

individual that cross-compete with domain B antibodies from the earlier panel, thus, expanding the number of overlapping epitopes within this domain. These antibodies are directed at conformational epitopes conserved among all genotypes and/or subtypes; neutralize HCVpp and HCVcc, with some having greater potency than previously noted with other antibodies to this domain. The mechanism of neutralization with these antibodies is by inhibiting E2 binding to CD81. In addition, alanine substitution studies on E2 in a region that has been defined to engage CD81 (Owsianka *et al.*, 2006, *J. Virol.*, 80:8695; incorporated herein by reference) show that some contact residues within these HCV antibody epitopes are the same contact residues needed for E2 binding to CD81. A third human monoclonal antibody, CBH-23, was isolated from a genotype 1b HCV infected individual. CBH-23 cross-competes with a representative antibody to domain C and mediates neutralization by inhibiting E2 binding to CD81. A fourth human monoclonal antibody, HC-3, was isolated from a genotype 1b HCV infected individual. HC-3 does not cross-compete with representative domain A, B, and C antibodies from the earlier panel, thus indicating a new domain, designated D. HC-3 does not inhibit E2 binding to CD81 (Figure 6). The present invention encompasses the recognition that mechanisms by which HC-3 mediates virus neutralization occur at approximately the same time during virus entry as the virus interacts with CD81. While not wishing to be bound by any one particular theory, HC-3 may mediate virus neutralization by blocking virus attachment, which occurs prior to E2 binding to CD81; blocking virus interaction with a different co-receptor just before or after E2 binds to CD81; and/or blocking a conformational change in one or more viral envelope glycoproteins involved in successful virus entry.

[0065] By virtue of the variety of binding profiles of the antibodies, diagnostic assays may be employed which will detect a plurality of types and genotypes and/or subtypes, so as to provide a pan-anti-HCV antibody. In some embodiments, antibodies may be used for passive immunization, as protective therapy for individuals at risk for HCV or as a therapy for people who are seropositive for HCV.

[0066] References relating to the use of antibodies to HCV include Akatsuka *et al.*, 1993, *Hepatology*, 18:503-510; DeLalla *et al.*, 1993, *J. Hepatol.*, 18:163-167; Mondelli *et al.*, 1994, *J. Virol.*, 68:4829-4836; Siemoneit *et al.*, 1994, *Hybridoma*, 13:9-13; and Moradpour *et al.*, 1996, *J. Med. Virol.*, 48:234-241; all of which are incorporated herein by reference.

[0067] HCV antibodies in accordance with the invention offer several advantages over existing antibodies against HCV. Because non-homologous primary amino acid sequences may still define immunologically identical three-dimensional protein structures, antibodies binding to structurally conserved epitopes can recognize multiple, sequentially divergent HCV genotypes and/or subtypes in native conformation, whereas antibodies recognizing only linear or denatured epitopes may not. In particular, antibodies that recognize conformationally dependent epitopes of E2 may effectively interfere with the interaction of HCV virus with its cellular target receptor. Using antibodies that recognize conformationally dependent epitopes to actively interfere with the ability of native HCV virus to bind to target cell receptors (*e.g.*, CD81) has specific therapeutic application for reducing viral load in infected individuals, and/or preventing infection or re-infection of organs in non-infected individuals (for example, by (i) recognizing HCV E2 proteins encoded by different HCV genotypes and/or subtypes; (ii) binding HCV particles; and/or (iii) preventing attachment and entry of HCV viral particles to their target cells), particularly in recent organ transplant recipients, individuals undergoing renal dialysis, babies born to HCV-infected mothers, and/or individuals undergoing treatment for hemophilia or other blood clotting disorders. In some embodiments, other recipients include individuals recently exposed to HCV (*e.g.*, via exposure to HCV-containing bodily fluids). In some embodiments, HCV antibodies may be useful for treatment of patients with strains of HCV that are identical to the strain of HCV to which the antibodies were raised. In some embodiments, HCV antibodies may be useful for treatment of patients with strains of HCV that are different from the strain of HCV to which the antibodies were raised. Both individual HCV antibodies and a cocktail of several HCV antibodies recognizing several epitopes may be employed.

[0068] In some embodiments, HCV antibodies may interfere with E2-associated viral infection by mechanisms other than preventing direct interaction with CD81. In some embodiments, HCV antibodies may interfere with viral infectivity by a number of possible mechanisms, including preventing E2 binding to co-receptor proteins, disrupting conformational changes in E2 proteins necessary for target cell binding, inhibiting E2-mediated viral fusion to target cells, and/or inhibiting uncoating of HCV virions. In some embodiments, HCV antibodies that directly interfere with E2 binding to CD81 may effectively complement HCV antibodies that interfere with infectivity by other mechanisms.

[0069] HCV antibodies in accordance with the invention which recognize viral epitopes and interfere with virus/target receptor interaction and viral epitopes which bind to such antibodies may also serve as templates for rationally designing peptide and other structural mimics of the viral epitopes. Structural molecular mimics defined by these HCV antibodies find use in their ability to block binding of the native virus to target receptors by binding to the target receptor themselves.

[0070] By producing human or humanized monoclonal antibodies, it is possible to directly analyze the human immune response to HCV. In some cases, it is desirable to use human or humanized monoclonal antibodies. By using human monoclonal antibodies, immune responses against the antibodies themselves as foreign antigens can be minimized, whereas vigorous immune responses are typically generated against monoclonal antibodies produced from non-human sources, because they are recognized as foreign antigens. Selecting for HCV antibodies that recognize conserved viral conformational epitopes affords broader and more effective therapeutic application of these reagents for ameliorating or preventing HCV infection than antibodies able to bind only linear or denatured epitopes. Antibodies described herein recognize conformational epitopes, which are highly conserved HCV E2 proteins of multiple different genotypes and/or subtypes. Thus, antibodies described herein have the advantage that they are more potent against a wide range of HCV isolates than many previously described neutralizing antibodies. An additional advantage is that the high conservation of the epitopes recognized by the antibodies described herein indicates that these antibodies recognize sequences with functional and/or structural significance within the HCV E2 protein. Thus peptides or small molecules isolated with these antibodies have a high probability of being functional regions within HCV E2.

Production and Characterization of HCV Antibodies

[0071] The overall strategy employed for the development of the subject HCV antibodies is described in Example 1. Briefly, (1) individuals with evidence of exposure to HCV were identified; (2) antigen specific B-cells from their peripheral blood were expanded and activated *in vitro*; (3) these cells were immortalized by electrofusion with a suitable mouse-human heteromyeloma; (4) relevant human antibody secreting hybridomas were identified; and (5) the relevant hybridomas were stabilized by cloning. This strategy resulted in the identification of

HCV antibodies that are specific to the HCV E2 protein and which bound to conformational epitopes of E2 of HCV genotypes 1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 4, 5, and 6 (Figure 1).

[0072] As described in Example 1, peripheral B cells from individuals with either HCV 1a or 1b infection and high serum antibody neutralization activities were used to produce and characterize a panel of human monoclonal antibodies. The initial screening made use of a genotype 1b E2 protein to screen for antibodies derived from a 1a infected donor, or 1a E2 protein to screen for antibodies derived from a 1b infected donor. This step biased the screening approach used to the selection of antibodies to epitopes conserved between genotypes 1a and 1b since the donor was infected with either a genotype 1a or 1b isolate. Antibodies identified by such screening (*i.e.*, HC-1, HC-3, HC-11, and CBH-23) did not recognize E2 protein by western blot, but did recognize E2 protein by immunoprecipitation. These results suggest that these HCV antibodies recognize conformational epitopes.

[0073] HCV antibodies HC-1, HC-3, HC-11, and CBH-23 were all able to bind to E1E2 of HCV genotypes 1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 4, 5, and 6 (Figure 1). HC-1 and HC-11 neutralize the majority of HCV genotypes 1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 4, 5, and 6 HCVpp 1a (Figure 4) and 1b infection, as well as HCVcc 1a and 2a infection (Figure 4). HC-3 was able to neutralize HCVpp 1a and HCVcc 2a. HC-3 neutralizes 1a HCVpp and 2a HCVcc (Figure 4), and CBH-23 neutralizes genotype 1a, 1b, 2a HCVpp, and 2a HCVcc (Figure 4). These data indicate that all four HCV antibodies are able to recognize and neutralize multiple HCV genotypes. CD81 capture assays show that three of these four antibodies (*i.e.*, HC-1, HC-11, and CBH-23) are capable of blocking the interaction of E2 and CD81 (Figure 6). The present invention shows that epitopes that partially or fully overlap the CD81 binding site within HCV E2 are both conformational in nature and highly conserved. A high degree of sequence conservation in the CD81 binding site is consistent with the proposition that the interaction between HCV E2 and CD81 is biologically relevant. The present invention encompasses the recognition that, since HC-3 neutralizes HCV 1a and 2a but does not inhibit E2 binding to CD81, HC-3 might utilize alternative mechanisms of virus neutralization.

[0074] Competition analysis has been employed to define antibodies with similar binding sites in HCV E2. Previously identified HCV antibodies that recognize one of HCV E2 domains A, B, or C were biotinylated, and the binding of the biotinylated antibodies to HCV E2 in the presence of increasing amounts of competing HCV antibodies (*i.e.*, HC-1, HC-3, HC-11, and

CBH-23) was determined. HCV antibodies HC-1 and HC-11 effectively competed with antibodies that recognize domain B, but not domains A or C. CBH-23 effectively competed with an antibody recognizing domain C and not domains A or B. HC-3 did not compete with any domain A, B, or C antibodies.

[0075] These results indicate that conformational epitopes within HCV E2 glycoprotein are highly conserved among divergent HCV genotypes and/or subtypes. The antibodies that recognize these epitopes are useful as reagents to better define the structure of HCV E2. Furthermore, the antibodies that inhibited binding of HCV virions to human CD81 were shown to mediate virus neutralization of HCVpp and HCVcc models, which are well-accepted HCV models in the art. Indeed, one of ordinary skill in the art recognizes that successful neutralization of HCVpp and/or HCVcc is predictive of *in vivo* therapeutic activity (see, *e.g.*, Lavie *et al.*, 2007, *Curr. Issues Mol. Biol.*, 9:71-86; Bartosch *et al.*, 2003, *J. Exp. Med.*, 197:633-642; and Law *et al.*, 2008, *Nat. Med.*, 14:25-27; all of which are incorporated herein by reference).

[0076] Thus, the present invention provides HCV E2 antibodies HC-1, HC-3, HC-11, and/or CBH-23. The present invention provides antibodies that recognize the same or similar epitopes as HC-1, HC-3, HC-11, and/or CBH-23. In some embodiments, the invention provides antibodies that compete with HC-1, HC-3, HC-11, and/or CBH-23 for binding to E2 protein. In some embodiments, the invention provides antibodies that decrease HC-1, HC-3, HC-11, and/or CBH-23 binding to E2 protein by about 30%, about 40%, about 50%, about 60%, about 70%, about 80%, about 90%, about 95%, or more than about 95%.

[0077] In some embodiments, the invention provides agents (*e.g.*, small molecules, peptides, nucleic acids, lipids, nanoparticles, *etc.*) that compete with HC-1, HC-3, HC-11, and/or CBH-23 for binding to E2 protein. In some embodiments, the invention provides (*e.g.*, small molecules, peptides, nucleic acids, lipids, nanoparticles, *etc.*) that decrease HC-1, HC-3, HC-11, and/or CBH-23 binding to E2 protein by about 30%, about 40%, about 50%, about 60%, about 70%, about 80%, about 90%, about 95%, or more than about 95%.

[0078] The HCVpp (HCV pseudotyped particle) model comprises infectious retroviral particles pseudotyped with unmodified HCV E1 and E2 proteins (see, *e.g.*, Bartosch *et al.*, 2003, *J. Exp. Med.*, 197:633-642; Drummer *et al.*, 2003; *FEBS Lett.*, 546:385-390; Op De Beeck *et al.*, 2004, *J. Virol.*, 78:2994-3002; and Hsu *et al.*, 2003, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 100:7271-7276; all of which are incorporated herein by reference). HCVpp preferentially infect human hepatic

cells, are neutralized by anti-E2 antibodies, are neutralized by HCV-infected patient serum, and mimic the early stages of HCV infection, including viral entry (Bartosch *et al.*, 2003, *supra*; and Lavie *et al.*, 2007, *Curr. Issues Mol. Biol.*, 9:71-86; both of which are incorporated herein by reference). HCVpp-based assays are useful to observe virus entry and correlate with physiological conditions *in vivo*, and are suitable for development of new antiviral therapies (Bartosch *et al.*, 2003, *supra*).

[0079] The HCVcc (cell cultured HCV virion) model provides a cell-culture system that allows production of infectious, fully replicative HCV virions (Lindenbach *et al.*, 2005, *Science*, 309:623-626; Wakita *et al.*, 2005, *Nat. Med.*, 11:791-796; and Zhong *et al.*, 2005, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 102:9294-9299; all of which are incorporated herein by reference). The HCVcc system is based on the transfection of the human hepatoma cell line Huh-7 with genomic HCV RNA of the genotype 2a JFH1 strain cloned from an individual with fulminant hepatitis. In order to allow comparative studies between different HCV strains, chimeric genomes encoding structural proteins from different genotypes and non-structural proteins from the JFH1 isolate have also been made (Pietschmann *et al.*, 2006). HCVcc models are able to replicate *in vitro* in cell culture and *in vivo* in chimpanzees (Wakita *et al.*, 2005, *supra*). The HCVcc system allows for the study of the complete viral cycle life and confirms data generated with the HCVpp system.

[0080] It is well-established that the results of virtually all experiments performed using HCVcc virions are consistent with the results of similar experiments performed using HCVpp virions. See Lindenbach *et al.*, 2005, *Science*, 309:623-626; Lavie *et al.*, 2007, *Curr. Issues Mol. Biol.*, 9:71-86; Chapel *et al.*, 2007, *J. Gen. Virol.*, 88:1133-1143; Régeard *et al.*, 2007, *FEBS J.*, 274:4705-4718; Pietschmann *et al.*, 2006, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 103:7408-7413; Wakita *et al.*, 2005, *Nature Medicine*, 11:791-796; Yi *et al.*, 2006, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 103:2310-2315; Zhong *et al.*, 2005, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 102:9294-9299; all of which are incorporated herein by reference.

[0081] Another established model for studying HCV is the "HCV-Trimera" mouse model (Ilan *et al.*, 2002, *J. Infect. Dis.*, 185:153-61; incorporated herein by reference). The HCV-Trimera mouse model was developed by using lethally irradiated mice, reconstituted with Severe Combined Immunodeficiency (SCID) mouse bone marrow cells, in which human liver fragments infected *ex vivo* with HCV had been transplanted. HCV Trimera mice may be useful for

assessing *in vivo* therapeutic efficacy of potential HCV therapeutic and/or diagnostic agents (Ilan *et al.*, 2002, *J. Infect. Dis.*, 185:153-61; Eren *et al.*, 2006, *J. Virol.*, 80:2654-2664; both of which are incorporated herein by reference).

[0082] It is well-established that the results of experiments performed using either HCVcc or HCVpp virions in culture systems are consistent with the results of animal experiments performed using human liver-mouse chimeric models (Eren *et al.*, 2006, *J. Virol.*, 80:2654-2664; and Law *et al.*, 2008, *Nat. Med.*, 14:25-27; both of which are incorporated herein by reference). Furthermore, it has been established that inhibition of HCV replication in both *in vitro* assays and, by extension, *in vivo* small animal human mouse chimera models, *e.g.*, the Trimer mouse model, correlate with inhibition of HCV in non-human primates *in vivo*. For example, in a study that focused in part on the ability of selected polyclonal human IgG preparations in preventing infection in chimpanzees, preparations with high neutralization titers as defined by HCVpp assays were protective while preparations with low neutralization titers were not. See Yu *et al.*, 2004, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 101:7705-7710; incorporated herein by reference.

[0083] Given the predictive value of these model systems, one of ordinary skill in the art will readily recognize that HC-1, HC-3, HC-11, and/or CBH-23 (or antibodies that recognize the same epitopes as HC-1, HC-3, HC-11, and/or CBH-23) may be successfully used for neutralization of HCV *in vivo*. Analogous to the success achieved with hepatitis B immunoglobulin in liver transplantation (Dickson, 1998, *Liver Transpl. Surg.*, 4(5 Suppl 1):S73-S78; and Markowitz *et al.*, 1998, *Hepatology* 28:585-589; both of which are incorporated herein by reference), one possible application is to suppress HCV infection in liver transplant recipients with broadly reactive neutralizing human monoclonal antibodies.

[0084] While human monoclonal antibodies are provided, other antibodies from other sources may recognize the same epitopes recognized by the human antibodies described herein, and may also be employed. Generally antibodies from murine sources (*e.g.*, mice, rats, lagomorpha, *etc.*) and domestic animals (*e.g.*, rabbit, guinea pig, goat, sheep, pig, chicken, horse, hamster, *etc.*) find use. One may produce antibodies having the conserved regions of mammalian sources using genetic engineering and replacing the constant regions of the HCV antibodies provided herein or may use the proteins to be described below as immunogens for immunizing the animals and then immortalizing the resulting B cells and screening as described below for immortalized cells which produce monoclonal antibodies having analogous broad range binding specificity.

By screening in competitive assays with the subject HCV antibodies, one can determine whether the non-human antibodies bind to the same epitope.

[0085] Instead of using hybridomas as a source of the antibodies, genes encoding an HCV antibody or portion thereof may be isolated and introduced into an appropriate mammalian host cell, *e.g.*, CHO, CHO-K1, 293T, Huh7, Huh7.5, HeLa, CV1, or the like. Suitable expression plasmids include pcDNA3.1 Zco, pIND(SP1), pREP8 (all available from Invitrogen, Carlsbad, CA) (see Example 1), and the like. Antibody genes may be expressed via viral or retroviral vectors, which may be exemplified by MLV based vectors, vaccinia virus based vectors, *etc.* Similarly, antibody genes may be expressed using the pCOMB series of vectors on the surface of M13 phage, as two independent chains, which may be renatured to form the intact antibody. Alternatively, antibodies may be expressed as a single chain, including at least the variable regions. Genes may be used for gene therapy by introducing the genes into appropriate cells, such as lymphocytes, muscle cells, fibroblasts, and the like, where antibodies may be expressed and secreted, either constitutively or inductively, to provide a continuous or intermittent source of antibody over a predetermined period of time, based on the lifetime of the host cell. Genes in conjunction with a marker gene (*e.g.*, antibiotic resistance; fluorescent label; nutrient selection; *etc.*) may be introduced in cell cultures of cells taken from a subject, the modified cells selected by means of the marker and the marked cells returned to the host. DNA may be introduced into cells using various plasmid DNA, naked DNA, DNA virus constructs (*e.g.*, adenovirus, adeno-associated virus, or vaccinia virus), and/or RNA viruses (*e.g.*, *Vesicular stomatitis* virus, sindbis virus, and semiliki forest virus), to name but a few. In some embodiments, a DNA construct has a promoter for which transcription factors are present in the subject cells or can be induced or introduced and the genes under the transcriptional control of such promoter. Other regulatory sequences may also be present, such as leaders for secretion, enhancers, RNA stabilizing sequences, and the like.

[0086] In some embodiments, antibodies are of the IgG class. In some embodiments, antibodies are of the IgG1 or IgG2 class (Figure 3). In some embodiments, antibodies are of the IgG₁ class. In certain embodiments, antibodies are of the IgG_{1κ} class. In some embodiments, antibodies are of the IgG_{1γ}, IgG_{1δ}, or IgG_{1λ} class. In some embodiments, antibodies are of the IgG₂, IgG₃, or IgG₄ class. In some embodiments, antibodies are of the IgA, IgD, IgE, or IgM class. In some embodiments, antibodies are of the IgA₁ or IgA₂ class.

[0087] Antibodies may be used in their native form or may be truncated to provide Fab or F(ab')₂ fragments. Genes encoding heavy and light chains may be isolated and modified in a number of different manners. Conveniently, using RT-PCR, cDNA may be obtained for the genes in a convenient construction for further manipulation. Nucleotide sequences of variable regions of heavy and light chains may be isolated and joined, either directly or indirectly or through a chain of 3n nucleotides, where n is at least 1 and not more than about 60, usually not more than about 40, to provide a linker of amino acids between the two variable regions. The length of the chain can be determined empirically to provide the optimum affinity and other properties, *e.g.*, linkage through mercapto, carboxy, or amino groups, for chelation, bonding to a surface or other molecule, or the like.

[0088] Labels or tags may be attached to the gene encoding the antibody to provide for specific affinity isolation methods for the expressed antibody, attachment to a surface, labels or tags for identification, *etc.* Labels or tags may otherwise improve the utility of the isolated antibody gene. In some embodiments, labels or tags are associated with antibodies via linkers, such as cleavable arms, protease sites, *etc.* In some embodiments, labels or tags are directly associated (*e.g.*, covalently or non-covalently) to an antibody, a gene encoding an antibody, or fragments thereof.

[0089] Labels may include enzymes, chelating groups, ligands for binding to ligand binding proteins, *e.g.*, biotin/streptavidin, digoxigenin/antidigoxigenin, *etc.*, green fluorescent protein, and the like. The biotinylation sequence of *E. coli* biotin carboxylase carrier protein (BCCP) can be used for *in vivo* biotinylation of proteins expressed in *E. coli* or introduced in a lysate of *E. coli*. A sequence of six histidines or a sequence of alternating histidines and aspartic acids that are suitable for allowing binding of the antibody to a column containing immobilized divalent cations can be used. Sequences encoding high affinity epitopes may be employed, such as the FLAG epitope DYKDDDDK (SEQ ID NO: 1), the T7 tag sequence MASMTGGQMG (SEQ ID NO: 2), the S-tag sequence KETAAAKFERQHMDs (SEQ ID NO: 3), or any other sequence that confers high affinity binding to its correlative binding member or a protein reagent. Fusion proteins, besides the ones indicated above, include glutathione-S-transferase, luciferase, ligands to cell surface receptors found on hepatocytes, T-cells or other desirable cellular target, and the like. Such fusions are usually joined via a linker sequence of 3-50 amino acids that promotes the bi-functionality of the protein.

[0090] In some embodiments, labels include fluorescent, radioactive, luminescent, and/or enzymatically detectable moieties. Alternatively, antibodies may be linked to chelated toxic heavy metals or radioactive isotopes (*e.g.*, technetium, radioactive iodine, *etc.*). Antibodies may be chemically linked to fluorophores or chemiluminescent molecules. Chemical coupling may involve biotinylation using the activated carboxylic acid group or biotin-C11-hydroxysuccinimide ester, which will react with cysteines; coupling through the use of CNBr activation of various beads (sepharose, agarose, magnetic, polystyrene, *etc.*) or surfaces to link the antibodies, and the like; any number of other methods generally involving bridging the antibody to a useful chemical moiety, usually accomplished by modifying lysine or other basic residues or through use of reagents specific for free sulfhydryl groups.

[0091] In some embodiments, a label may provide cysteines for forming thioethers with maleimide groups, polyhistidine/cysteines or polyhistidines/aspartic acids for chelating metals, polylysines for reacting with aldehydes in reductive animation reactions, *etc.*

[0092] In some embodiments, a label may be a toxin, such as diphtheria toxin, ricin, abrin, ribosome inactivating proteins, apoptosis signaling proteins, pore forming proteins (*e.g.*, perforin), *etc.*

[0093] Genes for antibody heavy and light chain variable regions (particularly the hypervariable regions of the variable regions) may be mutated in accordance with known ways to enhance antibody binding affinity or to broaden reactivity. One may use *in vitro* selection to identify the optimum binding antibodies using phage display methodologies, random or directed mutagenesis of sequences, or other similar methodologies. Alternatively, one may use an alanine or glycine walk of the hypervariable regions to identify essential amino acids and then vary the amino acids at those or other sites to identify improved binding of the epitope. Other techniques known in the art may be employed to provide the mutagenized antibodies. See, *e.g.*, Gram *et al.*, 1992, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 89:3576-80; Griffiths *et al.*, 1993, *EMBO J.*, 12:725-34; de Kruif *et al.*, 1995, *J. Mol. Biol.*, 248:97-105; Low *et al.*, 1996, *J. Mol. Biol.*, 260:359-368; Hanes *et al.*, 2000, *Nat. Biotechnol.*, 18:1287-1292; Boder *et al.*, 2000, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 97:10701-10705; Graff *et al.*, 2004, *Protein Eng. Des. Sel.*, 17:293-304; Cumbers *et al.*, 2002, *Nat. Biotechnol.*, 20:1129-1134; Chowdhury and Pastan, 1999, *Nat. Biotechnol.*, 17:568-572; Neuberger and Milstein, 1995, *Curr. Opin. Immunol.*, 7:248-254; Jolly *et al.*, 1996, *Semin. Immunol.*, 8:159-168; Neuberger *et al.*, 1998, *Immunol. Rev.*, 162:107-116; Neuberger, 2002,

Biochem. Soc. Trans., 30:341-350; Beers *et al.*, 2000, *Clin. Cancer Res.*, 6:2835-2843; and Salvatore *et al.*, 2002, *Clin. Cancer Res.*, 8:995-1002; all of which are incorporated herein by reference.

[0094] References relating to production of human antibodies include Fount *et al.*, 1990, *J. Immunol. Methods*, 70:83-90; and Zimmermann *et al.*, 1990, *J. Immunol. Methods*, 134:43-50; both of which are incorporated herein by reference. References relating to production of modified antibodies using combinatorial libraries, Burton and Barbas, Dixon, FJ (Ed.) *Advances in Immunology*, Vol. 57, Vi+391 p. *Academic Press, Inc.*, San Diego, CA, 191-280, 1994; Plaisant *et al.*, 1997, *Res. Virol.*, 148-169; and Barbas and Burton, *Monoclonal Antibodies from Combinatorial Libraries. Cold Spring Harbor Laboratory Course Manual*, Cold Spring Harbor, NY, 1994; all of which are incorporated herein by reference. Modified antibodies can be produced by mutagenesis followed by *in vitro* selection for a desirable property, such as increased affinity to a target antigen or broader or narrower specificity. Antibodies can also be modified by a toxin or other bioactive molecule. An assay for antibodies binding to HCV E2 is described by Rosa *et al.* (1996, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 93:1759-1763; incorporated herein by reference).

Conformational Epitopes

Characterization of Epitopes

[0095] Antibodies may be used to identify the structural epitopes on E2 protein that they bind. Two basic approaches may be employed using the monoclonal antibodies for identifying conformational epitopes. In the first, natural variants or mutation analysis of HCV isolates may be used to identify regions, and ultimately individual amino acids that are involved in the epitopes recognized by the monoclonal antibodies (Schwartz *et al.*, 1999, *J. Mol. Biol.*, 287:983-999; incorporated herein by reference). Antibodies are screened against a number of different HCV E2 isolates, identifying isolates that are selectively non-reactive with individual antibodies. "Chimeric" E2 envelope proteins are then constructed in which portions of the chimera are derived from E2 protein from one HCV genotype and other portions are derived from E2 protein of another HCV genotype. Chimeric E2 proteins are constructed by PCR amplifying overlapping fragments, and/or by using restriction sites common to both E2 proteins. An alternative method is DNA shuffling as pioneered by the biotechnology company MaxyGen

(reviewed in Cohen, 2001, *Science*, 293:237; Locher *et al.*, 2005, *DNA Cell Biol.*, 24: 256-263; Locher *et al.*, 2004, *Expert Opin. Biol. Ther.*, 4:589-597; Locher *et al.*, 2004, *Curr. Opin. Mol. Ther.*, 6:34-39; Kurtzman *et al.*, 2001, *Curr. Opin. Biotech.*, 12:361-370; and Minshull and Stemmer, 1999, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 3: 284-290; all of which are incorporated herein by reference). By surveying the observed binding reactivities of different chimeric E2 proteins with different monoclonal antibodies, amino acid regions in the E2 proteins involved in forming conformational epitopes are identified. Once the relevant regions are identified, individual amino acids that differ between the different genotypes are mutated to compose a reactive E2 sequence. Mutants that restore full reactivity identify amino acids that are involved in forming the epitope.

[0096] A second basic approach to defining a conformational epitope is to synthesize a series of overlapping peptides 10 – 15 residues in length that encode the desired sequence of HCV E2 (see, e.g., Petit *et al.*, 2003, *J. Biol. Chem.*, 278:44385-44392; Moskalenko *et al.*, 2000, *J. Virol.*, 74:1761-1766; Pettersson, 1992, *Mol. Biol. Rep.*, 16:149-53; Gerlofs-Nijland *et al.*, 2003, *Nephron Exp. Nephrol.*, 94:c25-34; all of which are incorporated herein by reference). Peptides are then screened against the antibodies using high concentrations of antibody (often 100 µg/ml or higher). Individual regions that comprise the full conformational epitope often retain residual binding activity with the antibody that can be detected. Once these regions are identified, they can be confirmed using mutational studies involving the 10 – 15 residues of the peptide, either in the context of the peptide or by substituting into a conformationally intact HCV E2 protein. A variation of this methodology is described in Reineke *et al.* (1999, *Nat. Biotech.*, 17:271-275; incorporated herein by reference).

[0097] In some embodiments, the present invention provides definition of conformational epitopes in HCV E2 protein, and further provides compositions and compounds containing such epitopes. For example, the present invention provides mimicking agents (e.g., proteins, peptides, small molecules, carbohydrates, lipids, nanoparticles, nucleic acids, mimotope, organic compound, organometallic compound, inorganic compound, *etc.*) comprising conformational epitopes of HCV E2 protein. Peptide agents may contain one or more epitopes recognized by the antibodies of the present invention. In certain embodiments, proteins are strings of concatenated peptides at least one of which contains a conformational epitope of HCV E2. The peptides of the string may contain different conformational epitopes of HCV or the peptides may contain the

same epitope. The peptides of the string should preferably fold properly in order to display the conformational epitope substantially as it appears in nature. Such proteins and peptides may be used in formulating vaccines or may be used in diagnostic tests.

[0098] The present invention provides a method for stratifying patients based on their immunological response to HCV and of identifying those patients likely to respond well to HCV immunotherapy. For example, a patient's serum may be used to test for the presence of antibodies directed against a particular epitope of HCV E2. If the patient does not have adequate levels of antibodies directed to such an epitope, human monoclonal antibodies directed against the epitope may be administered to the patient.

[0099] In formulating vaccines to HCV, any agent that mimics at least one conformational epitope of HCV E2 protein may be used. In some embodiments, epitopes represented in a vaccine include ones that are conserved among different genotypes of the virus or among different strains of the virus. In some embodiments, peptides or proteins that contain the conformationally-defined epitopes of E2 of HCV are used in the formulation of a vaccine to prevent an infection by HCV or to treat an HCV infection. In some embodiments, peptide or protein mimics may be less than 500, less than 200, less than 100, less than 50, less than 40, less than 30, or less than 20 amino acids in length. In some embodiments, peptides to be used in formulating a vaccine are peptide fragments of E2 protein of HCV. In some embodiments, a peptide folds in a manner similar to its fold in the native E2 protein thus preserving the three-dimensional structure of the conformational epitope.

[00100] A vaccine may also contain proteins that represent concatenated peptides that have the conformational epitope to which antibodies are desired. Several different peptides making up the multimer may be used so that each peptide contains a different epitope, or the same peptide may be used more than once in the multimer.

[00101] Peptides may be synthesized using any method known in the art including Merrifield solid phase chemistry. The peptides may also be obtained by cleavage of E1 or E2 protein and purification. The peptides may be made recombinantly and produced in *E. coli*, yeast (*e.g.*, *S. cerevisiae*), insect cells (*e.g.*, Sf9 cells), or mammalian cells (*e.g.*, CHO cells) using any available techniques in the art (Sambrook *et al.*; Miller & Calos, eds., *Gene Transfer vectors for Mammalian Cells*, 1987; Ausubel *et al.*, eds., *Current Protocols in Molecular Biology*, 1987; each of which is incorporated herein by reference). Peptides may be modified to increase their

immunogenicity, solubility in aqueous solution, or to increase their propensity to fold correctly. For example, peptides may be glycosylated, farnesylated, hydroxylated, reduced, oxidized, *etc.*

[00102] In some embodiments, a peptide comprises amino acids 657-698 of the E2 protein of HCV. In some embodiments, a peptide comprises one or more of amino acids D658, F679, L692, I696, or D698 of the E2 protein of HCV. As would be appreciated by one of ordinary skill in this art, analogous amino acid sequences of E2 proteins from any genotype of HCV may be used. Analogous sequences may be determined by aligning multiple sequences of the E2 protein from different strains or genotypes of HCV. Homologous sequences that preserve the desired epitope may also be used in the formulation of vaccines. In some embodiments, sequences are at least 50%, at least 60%, at least 70%, at least 75%, at least 80%, at least 85%, at least 90%, at least 95%, at least 98%, or more homologous to the native sequence from HCV E2 protein.

[00103] In some embodiments, full-length HCV E2 proteins, as described herein, may have a sequence that is derived from a wild type HCV polyprotein. In some embodiments, full-length HCV E2 proteins, as described herein, may have a sequence that is derived from a non-wild type HCV polyprotein. Amino acid sequences of a variety of different HCV polyproteins (*e.g.*, from different genotypes, subtypes, isolates, *etc.*) are known in the art and are available in public databases such as GenBank. Exemplary HCV polyprotein sequences of multiple HCV genotypes, subtypes, and/or isolates are provided in Table 1 below.

Table 1: Exemplary HCV Polyprotein Sequences

GenBank Accession	Genotype & Subtype	HCV Polyprotein Sequence
AAB67038	1a (H77)	MSTNPKPQRK TKNNTNRRPQ DVKFPGGGQI VGGVYLLPRR GPRLGVRATR KTSERSQPRG RRQPIPKARR PEGRTWAQPG YPWPLYGNEG CGWAGWLLSP RGSRPSWGPT DRRRRSRNLG KVIDTLTCGF ADLMGYIPLV GAPLGGAARA LAHGVRVLED GVNYATGNLP GCSFSIFLLA LLSCLTVPAS AYQVRNSSGL YHVTNDCPNS SIVYEAADAI LHTPGCVPCV REGNASRCWV AVTPTVATRD GKLPTTQLRR HIDLLVGSAT LCSALYVGDL CGSVFLVGQL FTFSPRRHWT TQDCNCESIYP GHITGHRMAW DMMMNWSPTA ALVVAQLLRI PQAIMDMIAG AHWGVLGIA YFSMVGNWAK VLVVLLLFAG VDAETHVTGG NAGRRTAGLV GLLTPGAKQN IQLIN'NGSW HINSTALNCN ESLNTGWLAG LFYQHKFNSS GCPERLTSCR RLTDFAQGWG PISYANGSGL DERPYCWHYP PRPCGIVPAK SVCGPVYCFT PSPVVGT'TD RSGAPTYSWG ANDTDVFLN NTRPPLGNWF GCTWMNSTGF TKVCGAPPCV IGGVGNNTLL CPTDCFRKHP EATYSRCGSG PWITPRCMVD YPYRLWHYPC TINYTIFKVR MYVGGVEHRL EAACNWRTRGE RCDLED RDRS ELSPLLLSTT QWQVLPCSFT TLPALSTGLI HLHQNIVDVQ YLYGVGSSIA SWAIKWEYVV LLFLLLADAR VCSCIWMMLL ISQAEAALEN LVILNAASLA GTHGLVSFLV FFCFAWYLKG RWVPGAAYAF YGMWPLLLLL LALPQRAYAL DTEVAASCGG VVLVGLMALT LSPYYKRYIS WCMWWLQYFL TRVEAQLHVW VPPLNVRGGR DAVILLMCVV HPTLVFDITK LLLAIFGPLW ILQASLLKVP YFVRVQGLLR ICALARKIAG GHYVQMAIK LGALTGTIVY NHLTPLRDWA HNGLRDLAVA VEPVVF SRME TKLITWGADT AACGDIINGL

WO 2010/039154

PCT/US2008/078884

		PVSARRGQEI LLGPADGMVS KGWRLQAPIT AYTTQQTRGLL GCIITSILTGR DKNQVEGEVQ IVSTATQTFL ATCINGVCWT VYHGAGTRTI ASPKGPVIQM YTNVDQDLVG WPAPQGSRSI APCTCGSSDL YLVTRHADVI PVRRRGDSRG SLLSPRPISY LKGSSGGPLL CPAGHAVGLF RAAVCTRGA KAVDFIPVEN LGTMRSPVF TDNSSPPAVP QSFQVAHLHA PTGSGKSTKV PAAYAAQGYK VLVLNPSVAA TLGFGAYMSK AHGVDPNIRT GVRTITTGSP ITYSTYGFKL ADGGCSGGAY DIIICDECHS TDATSIILGIG TVLDQAETAG ARLVVLATAT PPGSVTVSHP NIEEVALSTT GEIPFYGKAI PLEVIKGRH LIFCHSKKKC DELAACKLVAL GINAVAYYRG LDVSVIPTSG DVVVSTDAL MTGFTGDFDS VIDCNTCVTQ TVDFSLDPTF TIETTTLPQD AVSRQRRGR TGRGKPGIYR FVAPGERPSG MFDSSVLCEC YDAGCAWYEL TPAETTVRLR AYMNTPLGPV CQDHLEFWEG VFTGLTHIDA HFLSQTKQSG ENFPYLVAY ATVCARAQAP PPSWDQMWKC LIRLKP TLHG PTPLLYRLGA VQNEVTLTHP ITKYJMTCMS ADLEVVTSTW VLVGGVLAAL AAYCLSTGCV VIVGRIVLSG KPAPIPDREV LYQEFDEMEE CSQHLPYIEQ GMLLAEQFKQ KALGLLQTAS RHAEVITPAV QTNWQKLEVF WAKHMWNFIS GIQYLAGLST LPGNPAIASL MAFTAAVTSP LTTGQTLLEN ILGGWVAAQL AAPGAATAFV GAGLAGAAIG SVGLGKVLVD ILAGYGAGVA GALVAFKIMS GEVPSTEDLV NLLPAILSPG ALVVGVCVAA ILRRHVGPGE GAVQWMNRLI AFASRGNHVS PTHYVPESDA AARVAILSS LTVTQLLRRL HQWISSECTT PCSGSWLRDI WDWICEVLS DFKTWLKAKLM PQLPGIPFVS CQRGYRGVWR GDGIMHTRCH CGAEITGHVK NGTMRIVGPR TCRNMWSGTF PINAYTTGPC TPLPAPNYKF ALWRVSAEY VEIRRVGDFH YVSGMTDNL KCPCQIPSPF FTELDGVRL HRFAPPCKPL LREEVSFRVG LHEYVPGSQL PCEPEPDVAV LTSMLTDPH ITAEAGRRRL ARGSPPSMAS SSASQLSAPS LKATCTANHD SPDAELIEAN LLWRQEMGGN ITRVESENKV VILDSFDPLV AEEDEREVSF PAEILRKSRR FARALPVWAR PDYNPPLVET WKKPDYEPPV VHGCPLPPR SPPVPPPRKK RTVVLTESTL STALAEATK SFGSSSTSGI TGDNTTTSSE PPSGCPDPS DVESYSSMPP LEGEPGDPDL SDGSWSTVSS GADTEDVCC SMSYSWTGAL VTPCAAEEQK LPINALSNSL LRHHNLVYST TSRSACQRQK KVTFDRLQVL DSHYQDVLKE VKAAASKVKA NLLSVEEACS LTPPHSAKSK FGYGAKDVRC HARKAAHIN SVWKDLLEDS VTPIDTTIMA KNEVFCVQPE KGGRKPARLI VFPDLGVRC EKMAIYDVVS KLPLAVMGSS YGFQYSPGQR VEFVLQAWKS KKTMPMGFSYD TRCFDSTVTE SDIRTEEAII QCCDLDPQAR VAIKSLTERL YVGGPLTNSR GENCGYRRCR ASGVLTTSCG NTLTCYIKAR AACRAAGLQD CTMLVCGDDL VVICESAGVQ EDAANLRAFT EAMTRYSAAP GDPPQPEYDL ELITSCSSNV SVAHDGAGKR VYYLTRDPTT PLARAAWETA RHTPVNSWL NIIMFAPTLW ARMILMTHFF SVLIARDQLE QALNCEIYGA CYSIEPLDLP PIIQRLHGLS AFSLSHSYSPG EINRVAACLR KLGVPPLRAW RHRARSVRAR LLSRGGRAAI CGKYLFWNAV RTKLKLTPI AAGRDLDSGW FTAGYSGGDI YHSVSHARPR WFWFCILLLA AGVGIYLLPN R (SEQ ID NO: 4)
AAK08509	1b	MSTNPKPQRK TKRNTNRRPQ DVKFPGGGQI VGGVYLLPRR GPRLGVRATR KTSERSQPRG RRQPIPKARR PEGRTWAQPG YPWPLYGNEG MGWAGWLLSP RGSRPSWGPT DPRRRSRNLG KVIDTLTCGF ADLMGYIPLV GAPLGGAARA LAHGVRVLED GVNATGNLP GCSFSIFLLA LLSCLTIPAS AYEVRNVSGI YHVTNDCSNS SIVYEAADMI MHTPGCVPCV RESNFSRCWV ALTPTLAARN SSIPTTTIRR HVDLLVGAAA LCSAMYVGDL CGSVFLVSQ LFTFSPRRYET VQDCNCSIYP GHVSGHRMAW DMMNWSPTT ALVVSQLLRI PQAVVDMVAG AHWGVLAGLA YYSVMGNWAK VLIVMLLFFAG VDGHTHTVGG RVASSTQSLV SWLSQGPSQK IQLVNTNGSW HINRTALNCN DSLQTGFIAA LFYAHRFNAS GCPERMASCR PIDKFAQGWG PITHVVPNIS DQRPYCWHYA PQPCGIVPAS QVCGPVYCFT PSPVVGT TD RSGVPTYSWG ENETDVLLLN NTRPPQGNWF GCTWMNSTGF TKTCGGPPCN IGGVGNNTLI CPTDCFRKHP EATYTKCGSG PWLTPRCLVD YPYRLWHYPC TINFITFKVR MYVGGVEHRL NAACNWRGE RCDLED RDRS ELSPLLLST EWQVLPCSFT TLPALSTGLI HLHQNIVDVQ YLYGVGSVV SVVIKWEYVL LLFLLADAR VCACLWMLL IAQAEATLEN LVVLNAASVA GAHGLLSFLV FFCAAWYIKG RLVPGAAYAL YGVWPLLLLL

WO 2010/039154

PCT/US2008/078884

		LALPPRAYAM DREMAASCGG AVFVGLVLLT LSPYYKVFLA RLIWWLQYFI TRAEHLQVW VPPLNVRGGR DAIILLTCAV HPELIFDITK LLLAILGPLM VLQAGITRVP YFVRAOGLIH ACMLVRKVAG GHYVQMAFMK LGALTGTIYI NHLTPLRDWA HAGLRDLAVA VEPVVFSDME TKIITWGADT AACGDIILGL PVSARRGKEI LLGPADSLEG RGWRLLAPIT AYSQQTRGLL GCIITSLTGR DKNQVEGEVQ VVSTATQSFL ATCVNGVCWT VYHGAGSKTL AGPKGPITQM YTNVDQDLVG WQAPPGARSL TPCTCGSSDL YLVTRHADVI PVRRRGDSRG SILSPRPVSY LKGSSGGPLL CPSGHAVGIF RAAVCTRGA KAVDFVPVES METTMRSVPF TDNSSPPAVP QSFQVAHLHA PTGSGKSTKV PAAYAAQGYK VLVLNPSVAA TLGFGAYMSK AHGIDPNIRT GVRTITTGAP VTYSTYKFL ADGGCSCGAY DIIICDECHS TDSTTILGIG TVLDQAEATAG ARLVVLATAT PPGSVTVPHF NIEEVALSNT GEIPFYGKAI PIEAIRGGRH LIFCHSKKCK DELAAKLSGL GINAVAYYRG LDVSVIPTIG DVVVVATDAL MTGYTGDFDS VIDCNTCVTQ TVDFS LDPFT TIETTTVPQD AVSRSQRRGR TGRGRRGIYR FVTPGERPSG MFDSSVLCEC YDAGCAWYEL TPAETSVRLR AYJNTPGLPV CQDHLEFWES VFTGLTHIDA HFLSQTKQAG DNFPYLVAYQ ATVCARAQAP PPSWDQMWKC LIRLKPTLHG PTPLLYRLGA VQNEVTLTHP ITKYIMACMS ADLEVVTSTW VLVGGVLAAL AAYCLTIGSV VIVGRIILSG RPAIVPDREL LYQEFDEMEE CATHLPYIEQ GMQLAEQFKQ KALGLLQAT KQAEAAAPVV ESKWRALETF WAKHMWNFIS GIQYLAGLST LPGNPAIASL MAFTASITSP LTTQSTLLFN ILGGWVAAQL APPSAASAFV GAGIAGAAVG SIGLGKVLVD ILAGYGAGVA GALVAFKMS GEMPSTEDLV NLLPAILSPG ALVVGVCVAA ILRRHVGPGE GAVQWMNRLI AFASRGNHVS PTHYVPESDA AARVTQILSS LTITQLLKRL HQWINECST PCSGSWLRDV WDWICTVLTD FKTWLQSKLL PQLPGVPFFS CQRGYKGVWR GDGIMQTTCP CGAQITGHVK NGSMRIVGPK TCSNTWHGTF PINAYTTGPC TPSPAPNYSR ALWRVAAEEY VEVTRVGDFH YVTGMTDNV KCPCQVPAPF FFSEVDGVRL HRYAPACRPL LREEVTFQVG LNQYLVGSQ LKATCTTHHV SPDADLIEAN LLWRQEMGGN ITRVENSEKV VVLDSDPLR AEEDEREVS PAEILRKSKK FPAAMPWAGN PDYNPPLLES WKDPDYVPPV VHGCPLPPIK APPIPPPRRK RTVVLTSSV SSALAEATK TFGSSESAV DSGTATALPD QASDDGDKGS DVESYSSMPP LEGEPGDPDL SDGSWSTVSE EASEDVCCS MSYTWGALI TPCAAEESKL PINALSNSLL RHHNMVYATT SRSAGLRQKK VTFDRLQVLD DHYRDVLKEM KAKASTVKAK LLSVEEACKL TPPHSAKSKF GYGAKDVRNL SSKAVNHIHS VWKDLEDTV TPIDTTIMAK NEVFCVQPEK GGRKPARLIV FPDLGVRVCE KMALYDVVST LPQVVMGSSY GFQYSPGQRV EFLVNTWKS KNPMPGFSYDT RCFDSTVTEN DIRVEESIYQ CCDLAPEARQ AIKSLTERLY IGGPLTNSKG QNCGYRR CRA SGVLTTS CGN TLTCYLKASA ACRAAKLQDC TMLVNGDDL VICESAGTQE DAASLRVTFE AMTRYSAAPP DPPQPEYDLE LITSCSSNVS VAHDASGKRV YYLTRDPTTP LARAAWETAR HTPVNSWLGN IIMYAPTLWA RMILMTHFFS ILLAQEQLEK ALDCQIYGAC YSIEPLDLPQ IIERLHGLSA FSLHSYSPGE INRVASCLRK LGVPLRVWR HRARSVRARL LSQGGRAATC GKYLFWAVK TKLKLTPIPA ASQLDLGWF VAGYSGGDIY HSLSRARPRW FMLCLLLLSV GVGIYLLPNR (SEQ ID NO: 5)
BAB32872	2a (JFH-1)	MSTNPKPQRK TKRNTNRRPE DVKFPGGGQI VGGVYLLPRR GPRLGVRTTR KTSERSQPRG RRQPIPKDRR STGKAWGKPG RPWPLYGNEG LGWAGWLLSP RGSRPSWGPT DPRHRSRNVG KVIDTLTCGF ADLMGYIPV GAPLSGAARA VAHGVRVLED GVNYATGNLP GFPPSIFLLA LLSCITVPVS AAQVKNTSSS YMTNDCSND SITWQLEAAV LHVP GCVPCE RVGNTSRCWV PVS PNM AVRQ PGALTQGLRT HIDMVMSAT FCSALYVGD L CGGVMLAAQV FIVSPQYHWF VQECNCSIYP GTITGHRMAW DMMMNWSPTA TMILAYVMRV PEVIIDIVSG AHWGVMFGLA YFSMQGAWAK VIVILLAAAG VDAGTTTVGG AVARSTNVIA GVFSHGPOQN IQLINTNGSW HINRTALNCN DSLNTGFLAA LFYTNRFNSS GCPGRLSACR NIEAFRIGWG TLQYEDNVTN PEDMRPYCWH YPPKPCGVVP ARSVCPPVYC FTPSPVVGT TDRRGVPTYT WGENETDVEL LNSTRPPQGS WFGCTWMNST GFTKTCGAPP CRTRADFNAS TDLLCP'DCF RKHPDATYIK

		CGSGPWLT PK CLVHYPYRLW HYPCTVNFTI FKIRMYVGGV EHRLTAACNF TRGDRCDLED RDRSQLSPLL HSTTEWAILP CTYSDLPALS TGLLHLHQNI VDVQYMYGLS PAITKYVVRW EWVLLFLLL ADARVCACLW MLILIGQAEA ALEKLVVLHA ASAANCHGLL YFAIFFVAAW HIRGRVPLT TYCLTGLWPF CLLLMALPRQ AYAYDAPVHG QIGVGLLILI TLFTLT PGYK TLLGQCLWWL CYLLTLGEAM IQEWVPPMQV RGGRDGIAWA VTIFCPGVVF DITKWLALL GPAYLLRAAL THVPYFVRAH ALIRVCALVK QLAGGRYVQV ALLALGRWTG TYIYDHLTPM SDWAASGLRD LAVAVEPIIF SPMEKKVIVW GAETAACGDI LHGLPVSARL GQEILLGPAD GYTSKGWKL APITAYAQQT RGLLGAIVVS MTGRDRTEQA GEVQILSTVS QSFLGTTISG VLWTVYHGAG NKTLAGLRGP VTQMYSSAEG DLVGWPSPPG TKSLEPCCKG AVDLYLVRN ADVIPARRRG DKRGALLSPR PISTLKSSG GPVLCPRGHV YGLFRAAVCS RGVAKSIDFI PVETLDVVR SPTFSDNSTP PAVPQTYQVG YLHPTAGSGK STKVPVAYAA QGYKVLVLP SVAATLGFGA YLSKAHGINP NIRTGVRTVM TGEAITYSTY GKFLADGGCA SGAYDIIICD ECHAVDATSI LGIGTVLDQA ETAGVRLTVL ATATPPGSVT TPHPDIEEVG LGREGEIPFY GRAIPLSCIK GGRHLIFCHS KKKCDLAAA LRGMGLNAVA YYRGLDVSII PAQGDVVVA TDALMTGYTG DFDSVIDCNV AVTQAVDFSL DPTFTITTQT VPQDAVSRSQ RRGRTGRGRQ GTYRYVSTGE RASGMFDSV LCECYDAGAA WYDLTPAETT VRLRAYFNTF GLPVCQDHLE FWEAVFTGLT HIDAHFLSQT KQAGENFAYL VAYQATVCAR AKAPPPSWDA MWKCLARLKP TLAGPTPLLY RLGPITNEVT LTHPGTKYIA TCMQADLEV TSTWVLAGGV LAAVAAYCLA TGCVSIIGRL HVNQRVVVAP DKEVLYEAFD EMEECASRAA LIEEGQRIAE MLKSKIQGLL QQASKQAQDI QPAMQASWPK VEQFWARHWW NFISGIQYLA GLSTLPGNPA VASMMAFSAA LTSPLSTSTT ILLNIMGGWL ASQIAPPAGA TGFVVSGLVG AAVGSIGLGK VLVDILAGYG AGISGALVAF KIMSGEKPSM EDVINLLPGI LSPGALVVG ICAAILRRHV GPGEQAVQWM NRLIAFASRG NHVAPTHYVT ESDASQVRVQ LLGSLTITSL LRRLHNWITE DCPIPCSGSW LRDVWDWVCT ILTDFKNWLT SKLFPKLPGL PFISCQKGYK GVWAGTGIMT TRCPCGANIS GNVRLGSMRI TGPKTCMNTW QGTFPINCYT EGQCAPKPPT NYKTAIWRVA ASEYAEVTQH GSYSYVTGLT TDNLKIPCQL PSPEFFSWVD GVQIHRFAPT PKPFFRDEVS FCVGLNSYAV GSQLPCEPEP DADVLRSMLT DPPHITAETA ARRLARSGPP SEASSVSQSL SAPSLRATCT THSNYDVDM VDNALLMEGG VAQTEPESRV PVLDLFLEPMA EEESDLEPSI PSECMLPRSG FPRALPAWAR PDYNPLVES WRRPDYQPPT VAGCALPPP KAPTPPRRR RTVGLSESTI SEALQQLAIK TFGQPPSSGD AGSSTGAGAA ESGGPTSPGE PAPSETGSAS SMPPLEGEPG DPDLESQVE LQPPPQGGGV APGSGSGSW TCSEEDDTTV CCSMSYSWTG ALITPCSPEE EKLPINPLSN SILRYHNKVY CTTSKSASQR AKKVTFDRTO VLDHYDSVL KDIKLAASKV SARLLTLEEA CQLTPPHSAR SKYGFCAKEV RSLSGRAVNH IKSVMKDLLE DPQTPIPTTI MAKNEVFCVD PAKGGKKPAR LIVYPDLGVR VCEKMALYDI TQKLPQAVMG ASYGFQYSPA QRVEYLLKAW AEKKDPMGFS YDTRCFDSTV TERDIRTEES IYQACSLPEE ARTAIHSLTE RLYVGGPMFN SKGQTCGYRR CRASGVLTTS MGNITTCYVK ALAACKAAGI VAPTMLVCGD DLVVISSESQ TEEDERNLRA FTEAMTRYSA PPGDPPRPEY DLELITSCSS NVSVALGPRG RRRYYLTRDP TTPLARAWE TVRHSPINSW LGNIIQYAPT IWVRMVLMT HFSILMVQDT LDQNLNFEMY GSVYSVNPLD LPAIERLHG LDAFSMHTYS HHELTRVSA LRKLGAAPLR VWKSRARAVR ASLISRGGA AVCGRYLFNW AVKTKLKLTP LPEARLLDLS SWFTVGAGGG DIFHSVSRAR PRSLFLGLL LFVGVLFL PAR (SEQ ID NO: 6)
BAB08107	2b (JPUT971017)	MS'NPKPQRK TKRNTNRRPQ DVKFPGGGQI VGGVYLLPRR GPRLGVRATR KTSERSQPRG RRQPIPKDRR STGKSWGKPG YPWPLYGNEG CGWAGWLLSP RGSRPWGPB DPRHRSRNLG RVIDTITCGF ADLMGYIPVV GAPVGGVARA LAHGVRLVED GINYATRNLG GCSFSIFLLA LLSCVTVPVV SVEIRNISTS YYATNDCSNN SITWQLTNAV LHLPGCVPC NDNGTLRCWI QVTBNVAVKH RGALTHNLRA HVDVIVMAAT VCSALYVGDV CGAVMIVSQA LIVSPERHNF TQECNCSIYQ GHITGQRMW DMMLNWSPTL TMILAYAARV PELVLEIVFG GHWGVVFLA YFSMQGAWAK VIAILLVAG VDATTYSTGA TVGRTVGSFA

		GLFKLGAQQN VQLINTNGSW HINRTALNCN DSLHTGFMAA LFYANKFNSS GCPERLSSCR GLDDFRIGWG TLEYETNVTN VEDMRPYCWH YPPKPCGIVP AQSVCGPVYC FTPSPVVVGT TDRQGVPTYN WGDNETDVFL LNSTRPPRGA WFGCTWMNGT GFTKTCGAPP CRIRKDFNST LDLLCPTDCF RKHPDATYVK CGAGPWLTPR CLIDYPYRLW HYPCTVNFTI FKVRMYVGGV EHRFSAACNF TRGDRCRLED RDRGQQSPIL HSTTEWAVLP CSFSDLPALS TGLLHLHQNI VDVQYLYGLS PAVTKYIVKW EWVVLFLLL ADARICACLW MLIILGQAEA ALEKLIILHS ASAASANGPL WFFIFFTAAW YLKG RVVPA TYSVLGLWSF LLLVLALPQQ AYALDAAEQ ELGLVILMII SIFTLTPAYK ILLSRSVWWL SYMLVLAEQ VQQWVPPLEA RGGRDGIWV AVILHPLHVF EVTKWLLAIL GSAYLLKASL LRVPYFVRAH ALLRVCTLVR HLAGARYIQM LLITMGRWTG TYIYDHLSP STWAAQGLRD LAVAVEPVVF SPMEKKVIVW GAETVACGDI LHGLPV SARL GREVLG PAD GYTSKGWKL APITAYTQQT RGLLGAI VVS LTGRDKNEQA GQVQVLSSVT QSFLGTSISG VLWTVYHGAG NKTILASPRGP VTQMYTSAEG DLVGWPSPPG TKS LDPCTCG AVDLYLVRN ADVIPVRRKD DRRGALLSPR PLSTLKGSSG GPVLCPRGHA VGLFRAAVCA RGVAKSIDFI PVESLDIARR TPSFSDNSTP PAVPQTYQVG YLHAPTSGSK STKVPAAYTS QGYKVLVLP SVAATLGFGA YMSKAHGINP NIRTGVRTVT TGD SITYSTY GKFLADGGCS AGAYDIIICD ECHSVDATTI LGIGTVLDQA ETAGVRLVVL ATATPPGTVT PHANIEEVA LGHEGEIPFY GKAIPLASIK GGRHLIFCHS KKKCELA LAA LRGMGVNAVA YYRGLDVSVI PTQDADVRSQ TDAIMTGYTG DFDSVIDCNV AVTQIVDFS L DPTFTITQT VPQDAVVRSQ RRGRTGRGRL GTYRYVSSGE RPSGMFDSV LCECYDAGAA WYELTPAETT VRLRAYFNTP GLPVCQDHLE FWEAVFTGLT HIDA HFLSQT KQGGDNFAYL TAYQATVCAR AKAPPPSWDV MWKCLTRLKP TLTGPTPLLY RLGAVTNEIT LTHPVTKYIA TCMQADLEV TSTWVLAGGV LAAVAAYCLA TGCISIIGRI HLNDQVVVAP DKEILYEAFD EMEECASKAA LIEEGQMAE MLKSKILGLL QQATKQAQDI QPAMQSSWPK IEQFWARHMW NFISGIQYLA GLSTLPGNPA VASMMAFSAA LTSPLPTSTT ILLNIMGWL ASQIAPPAGA TGFVVSGLVG AAVGSIGLGK ILVDVLAGYG AGISGALVAF KIMSGEKPSV EDVNNLLPAI LSPGALVVG ICAAILRRHV GQEGAVQWM NRLIAFASRG NHVAPTHYVA ESDASLRVTQ VLSSLTITSL LRR LHAWITE DCPVPCSGSW LRDIWEWCS ILTDFKNWLS AKLLPKMPGL PFISCQKGYR GVWAGTG VMT TRCSCGANIS GHVRLGTMKI TGPKTCLNMW QGTFPINCYT EGPCVPKPPP NYKTAIWVA ASEYVEVTQH GSFSYVTGLT SDNLKVP CQV PAPEFFSWVD GVQIHRFAPT PGPFRRDEV FTVGLNSLVV GSQ LPCDPEP DTEVLASMLT DPSHITAETA ARRLARGSP SQASSASQL SAPSLKATCT THKTAYDCDM VDANLFMGD VTRIESDSKV IVLDSLDSMT EVEDDREPSV PSEYLTRRRK FFPALPPWAR PDYNPPVIET WKRPDYEPPT VLG CALPPTP QAPVPPRRR RARVLTQDNV EGVLRMADK VLSPLQDTND SGHSTGADTG GDSVQQPSGE TAASDAGSLS SMPPLEGEPG DPDLEFEPAR SAPPSEGECE VIDSDSKSWS TVSDQEDSVI CCSMSYSWTG ALITPCGPEE EKLPISPLSN SLMRFHNKVY STTSRSASLR AKKVTFDRVQ VLDHYDSVL QDVKRAASKV SARLLSVEEA CALTPPHSAK SRYGFGAKEV RSLSRGAVNH IRSVWEDLLE DQHTPIDTTA MAKNEVFCID PAKGGKKPAR LIVYPDLGVR VCEKMALYDI AQKLPKAIMG PSYGFQYSPA ERVDFLLKAW GSKKDPMGFS YDTRCFDSTV TERDIRTEES IYQACSLPQE ARTVIHSITE RLYVGGPMTN SKGQSCGYRR CRASGVFTTS MGMTMTCYIK ALAACKAAGI VDPTMLVCGD DLVVISESQG NEEDERNLRA FTEAMTRYSA PPGDLRPEY DLELITSCSS NVSVALDSRG RRRYFLTRDP TTPITRAAWE TVRHSPVNSW LGNIIQYAPT IWVRMIMTH FFSILLAQDT LNQNLFEMY GAVYSVNPLD LPAI IERLHG LDAFSLHTYS PHEL SRVAAT LRKLGAPPLR AWKSRARAVR ASLI IQGGR ATCGRYLFNW AVKTKLKLTP LPEASRLDLS GWFTVGAGGG DIFHSVSHAR PRLLLCLLL LSVGVGIFLL PAR (SEQ ID NO: 7)
CAA72338	4 (ED43)	MSTNPKPQRK TKRNTNRRPM DVKFPGGGQI VGGVYLJLPRR GPRLGVRATR KTSERSQPRG RRQPIPKARR PEGRSWAQPG YPWPLYGNEG CGWAGWLLSP RGSRPSWGPN DPRGRSRNLG KVIDTLTCGF ADLMGYIPLV GAPVGSVARA LAHGVRALED GINYATGNLP GCSFSIFLLA LLSCLTVPAS AVNYRNVSGI

		YHVTNDPCNS	SIVYEADHHI	MHLPGCVPCV	REGNQSRCWV	ALTPTVAAPY
		IGAPLESIRS	HVDLMVGAAT	VCSGLYIGDL	CGGLFLVGQM	FSFRPRRHWT
		TQDCNCSIYT	GHITGHRMAW	DMMMNWSPTT	TLVLAQVMRI	PTTLVDLLSG
		GHWGVLVGVA	YFSMQANWAK	VILVILFLFAG	VDAETHVSGA	AVGRSTAGLA
		NLFSSGSKQN	LQLINSNGSW	HINRTALNCN	DSLNTGFLAS	LFYTHKFNS
		GCSERLACCK	SLDSYGQGWG	PLGVANISGS	SDDRPYCWHY	APRPCGIVPA
		SSVCGPVYCF	TPSPVVVGTT	DHVGVPPTYTW	GENETDVFL	NSTRPPHGAW
		FGCVWMNSTG	FTKTCGAPPC	EVNTNNGTWH	CPTDCFRKHP	ETTYAKCGSG
		PWITPRCLID	YPYRLWHFPC	TANFSVFNIR	TFVGGIEHRM	QAACNWTRGE
		VCGLEHRDRV	ELSPLLLT	AWQILPCSFT	TLPALSTGLI	HLHQNIQVQ
		YLYGVGSAVV	SWALKWEYV	LAFLLADAR	VSAYLWMMFM	VSQVEAALSN
		LININAASAA	GAQGFYAIL	FICIVWHVKG	RFPAAAYAA	CGLWPCFLLL
		LMLPERAYAY	DQEVAGSLGG	AIVVMLTILT	LSPHYKLWLA	RGLWVIQYFI
		ARTEAVLHVY	IPSFNVRGPR	DSVIVLAVLV	CPDLVFDITK	YLLAILGPLH
		ILQASLLRIP	YFVRAQALVK	ICSLLRGVVY	GKYFQMVVLK	SRGLTGTYYI
		DHLTPMSDWP	PYGLRDLAVA	LEPVVFTPME	KKVIVWGADT	AACGDIIRGL
		PVSARLGNEI	LLGPADTETS	KGWRLAPIT	AYAQQTRGLF	STIVTSLTGR
		DTNENCGEVQ	VLSTATQSFL	GTAVNGVMWT	VYHGAGAKTI	SGPKGPVNQM
		YTNVDQDLVG	WPAPPGVRS	APCTCGSADL	YLVTRHADVI	PVRRRGDTRG
		ALLSPRPISI	LKGSSGGPLI	CPMGHRAGIF	RAAVCTRGVA	KAVDFVPVES
		LETTMRSPVF	TDNSTPPAVP	QTYQVAHLHA	PTGSGKSTKV	PAAHAAQGYK
		VILVLPNSVAA	TLGFGVYMSK	AYGIDPNIRS	GVRTITTGAP	ITYSTYKFL
		ADGGCSGGAY	DIIICDECYS	TDSTTILGIG	TVLDQAETAG	VRLTVLATAT
		PPGSVTTPHS	NIEEVALPTT	GEIPFYGKAI	PLELIKGGRH	LIFCHSKKKC
		DELARQLTSL	GLNAVAYYRG	LDVSVIPTSG	DVVVCATDAL	MTGFTGDFDS
		VIDCNTSVIQ	TVDFSIDPTF	SJEITTVPQD	AVSRSQRRGR	TGRGRLGTYR
		YVTPGERPSG	MEDTAECEC	YDAGCAWYEL	TPAETTTRLK	AYFDTPLGPV
		CQDHLEFWES	VFTGLTHIDG	HFLSQTKQSG	ENFPYLVAYQ	ATVSASVWLA
		PPSWDTMWKC	LIRLKP TLHG	PTPLLYRLGS	VQNEVVLTHP	ITKYIMACMS
		ADLEVVTSTW	VLVGGVLAAL	AAYCLSVGSV	VIVGRVVLGS	QPAVIPDREV
		LYQQFDEMEE	CSKHLPLVEH	GLQLAEQFKQ	KALGLLNFA	KQAQEA TPVI
		QSNFAKLEQF	WANDMWNFIS	GIQYLAGLST	LPGNPAIASL	MSFTA AVTSP
		LTQQTLLFN	ILGGWVASQI	RDSASTAFV	VSGLAGA AVG	SVGLGKILVD
		ILPGYGAGVR	GAVVTFKIMS	GEMPSTEDLV	NLLPAILSPG	ALVVEVCPA
		ILRRHVGPG	GAVQWMNRLI	AFASRGNHVS	PTHYVPESDA	ARRVTILSS
		LTVTSLRLRL	HKWINE DCST	PCAESWLWEV	WDWVLHVLSD	FKTCLKAKFV
		PLMPGIPLLS	WPRGYKGEWR	GDGVMHTTCP	CGADLAGHIK	NGSMRITGPK
		TCSNTWHGTF	PINAYTTGPG	VPIAPAPNYKF	ALWVRSAEDY	VEVRRVGDHF
		YVTGVTQDNI	KFPCQVPAP	LFTEVDGIRI	HRHAPKCKPL	LRDEVSFSVG
		LNSFVVGSQL	PCEPEPDVAV	ITSMLTDP SH	ITAESARRRL	ARGSRPSLAS
		SSASQLSPRL	LQATCTAPHD	SPGTDLLEAN	LLWGSTATRV	ETDEKVIILD
		SFESCVAEQN	DDREVSVAAE	ILRPTKKFPP	ALPIWARPDY	NPPLTETWKQ
		QDYQAPT VHG	CALPPAKQPP	VPSPRRKRTV	QLTESVVSTA	LAELA AKTFG
		QSEPSSDRDT	DLTTPTE TTD	SGPIVVDDAS	DDGSYSMP	LEGE PGDPDL
		TSDSWSTVSG	SEDEVCCSMS	YSWTGALVTP	CAAEESKLPI	SPLSNSLLRH
		HNMVYAT TTR	SAVTRQKKVT	FDR LQVVDST	YNEVLKEIKA	RASRVKPRLL
		TTEEACDLTP	PHSARSKFGY	GKKDVRSHSR	KAINHISSVW	KDLLDDNNTP
		IPTTIMAKNE	VFAVNPAGG	RKPARLJYYP	DLGSRVCEKR	ALHDVIKKT
		LAVMGAA YGF	QYSPAQRVEF	LLTAWKSKND	PMGFSYDTRC	FDSTVTEKDI
		RVEEEVYQCC	DLEPEARKVI	TALTDRLYVG	GPMHNSKGD	CGYRRCRATG
		VYTTSFGNTL	TCYLKATAAI	RAAALRDCTM	LVCGDDLVI	AESDGVEEDN
		RALRAFTEAM	TRYSAPPGDA	PQPAYDLELI	TSCSSNVSV	HDVTGKKVY
		LTRDPETPLA	RAVWETVRHT	PVNSWLGNII	VYAPTIWVRM	ILMTHFFSIL
		QSQAELKAL	DFDMYGV TYS	ITPLDLP AII	QRLHGLSAFT	LHGYS PHELN
		RVAGALRKLG	VPPLRAWRRH	ARAVRAKLIA	QGGRAKICGI	YLFNWAVKTK
		LKLTPLPAAA	KLDLSGWFTV	GAGGGDIYHS	MSHARPRYLL	LCLLLITVGV
		GIFLLPAR	(SEQ ID NO: 8)			

ABE98159	6a	MSTLPKPQRK	TKRNTNRRPM	DVKFPGGGQI	VGGVYLLPRR	GPRLGVRATR
		KTSESRQPRG	RRQPIPKARQ	PQGRHWAQPG	YPWPLYGNEG	CGWAGWLLSP
		RGSRPHWGNP	DPRRRSRNLG	KVIDTLTCGF	ADLMGYIPVV	GAPLGGVAAA
		LAHGVRAIED	GINYATGNLP	GCSFSIFLLA	LLSCLTTPAS	ALTYGNSSGL
		YHLTND CPNS	SIVLEADAMI	LHLP GC L PCV	RVDNQSTCWH	AVSPTLAI PN
		ASTSATGFRR	HVDLLAGAAV	VCSSLYIGDL	CGSLFLAGQL	FTFQPRRHWT
		VQDCNC SIYT	GHVTGHRMAW	DMMMNWSPTT	TLVLSSILRV	PEICASVIFG
		GHWGILIAVA	YFGMAGNWLK	VLAVLFLFAG	VEATTTIGRE	MGSTTAGLVR
		FLAPGPKQNL	QLINTNGSWH	INRTALNCND	SLQTGF IASL	FYAHTFNSSG
		CPERMAACRP	LADFRQGWGQ	ITYKDNISGP	SDDRPYCWHY	APRPCSVVPA
		STVCGPVYCF	TPSPVVVGTT	DRRGNPTYTW	GENETDVFML	GSLRPPTGGW
		FGCTWMNSTG	FTKTCGAPPC	QIVPGDYNSS	ANELLCPTDC	FRKHPEATYQ
		RCGSGPWLT P	RCLVHYPYRL	WHYPCTINFT	VHKVRMFVGG	IEHRFDAACN
		WTRGERCELH	DRDRIEMSPL	LFSTTQLSIL	PCSFSTMPAL	STGLIHHLHQN
		IVDVQYLYGV	SSSVTSWVVK	WEYIVLMFLV	LADARICTCL	WMLLLISNVE
		AAVERLVVLN	AASAAGTAGW	WWAVLFLCCV	WYVKGR L VPA	CTYTALGMWP
		LLL TILALPR	RAYAMDNEQA	ASLGAVGLLV	ITIFTITPMY	KKLLTCFIWW
		NQYFLARAEA	MIHEWVPDLR	VRGGRDSIIL	LTCILHPQLG	FEVTKILLAI
		LAPLYILQYS	LLKVPIYFVRA	HILLRACLIV	RRLAGGKYVQ	ACLLRLGAWT
		GTYYVDHLAP	LSDWASDGLR	DLAVAVEPVI	FSPMEKKIIT	WGADTAACGD
		ILSGLPV SAR	LGNLVLLGPA	DDMQRGGWKL	LAPITAYAQQ	TRGLVGTIVT
		SLTGRDKNEV	EGEVQVVSTA	TQSFLATSIN	GVMWTVYHGA	GSKTLAGPKG
		PVCQMYTNVD	QDLVGWPSPP	GARSLTPCTC	GSDNLYLVTR	EADVIPARRR
		GDSRAALLSP	RPISTLKGSS	GGPIMCPSGH	VVGLFRAAVC	TRGVAKSLDF
		IPVENMETTM	RSPSFTDNST	PPAVPQTYQV	GYLHAPT GSG	KSTRVPAAYA
		SQGYKVLVLN	PSVAATLSFG	SYMRQAYGVE	PNVRTGVRTI	TTGGAITYST
		YGKFLADGGC	SGGAYDIIIC	DECHSTDPTT	VLGIGTVLDQ	AETAGVRLTV
		LATATPPGSV	TVPHPNITET	ALPTTGEIPF	YGKAIPLEYI	KGGRHLIFCH
		SKKKCDELAG	KLKSLGLNAV	AFYRGVDVSV	IPTSGDVVVC	ATDALMTGYT
		GDFDSVIDCN	VAVTQVVD FS	LDPTFSIETT	TVPQDAVSRS	QRRGR TGRGK
		PGVYRFVSQG	ERPSGMFDTV	VLCEAYDTGC	AWYELTPSET	TVRLRAYLNT
		PGLPVCQDHL	EFWEGVFTGL	THIDAHFLSQ	TKQGGENFAY	LVAYQATVCA
		RAKAPPPSWD	TMWKCLIRLK	PTLTGPTPLL	YRLGAVQNEI	ITTHPITKYI
		MTCMSADLEV	ITSTWVIVGG	VLAALAAYCL	SVGCVVICGR	ITLTGKPVVV
		PDREVLYQQF	DEMEEC SRHI	PYLAEGQQIA	EQFRQKVLGL	LQASAKQAE E
		LKPAVHSAWP	RVEEFWRKHM	WNFVSGIQYL	AGLSIWPGNP	AVASLMSFTA
		SLTSPLRTSQ	TL L LNILGGW	IATQVAPPPA	STAFVVSGLA	GATVSGSIGLG
		RVLVDVLAGY	GAGVSGALVA	FKIMSGECP S	TEDMVNLLPA	LLSPGALVVG
		VVCAAILRRH	VGPAEGANQW	MNRLIAFASR	GNHVSPTHYV	PETDASKNVT
		QILTSLTITS	LLRRLHQWVT	EDTATPCATS	WLRD VDWVC	TVLSDFKVWL
		KAKLLPRLPG	IPFLSCQTGY	RGVWAGDGVC	HTTCTCGAVI	AGHVKN GSKM
		ITGPKTCSNT	WHGTFPINAT	TTGPSTPRPA	PNYQRALWRV	SAEDYVEVRR
		LGDCHYV VGA	TAEGLK CPCQ	VPAP EFFT EV	DGVRIHRYAP	PCKPLLRDEV
		TFSVGLSTYA	IGSQLPCEPE	PDVTVVTSML	TDPHTITAET	AARRLKRGSP
		PSLASSSASQ	LSAPSLKATC	TTSKDHPDME	LIEANLLWRQ	EMGGNITRVE
		SENKVVILDS	FEPLTADYDE	REISVSAECH	RPPRHKFPPA	LPIWARPDYN
		PPLIQAWQMP	GYEPPV VSGC	AVAPPKPAPI	PPRRKR L VH	LDESTVSHAL
		AQLADKVFVE	SSDGP GPSSD	SGLSITSPVP	PTPTTPDDAC	SEAESYSSMP
		PLEGEPGDPD	LSSGSWSTVS	DQDDV VCCSM	SYSWTGALIT	PCAAEEEEKLP
		INPLSNSLIR	HHNMVYSTTS	RSASLRQKKV	TFDRVQVFDQ	HYQEVLKEIK
		LRASTVQAKL	LSIEEACDLT	PSHSARSKYG	YGAKDVRSHA	SKAVDHIRSV
		WEDLLEDSDT	PIPTTIMAKN	EVFCVDPSKG	GRKPARLIVF	PDLGVRVCEK
		MALYDVTRKL	PQAVMGPAYG	FQYSPNQ RVE	YLLKMWRSKK	VPMGFSYDTR
		CFDSTVTERD	IRTENEIYQS	CQLDPMARKA	VSSLTERLYV	GGPMVNSKGQ
		SCGYRRCRAS	GVLPTSMGNT	LTCYLKAQAA	CRAANIKDYD	MLVCGDDL VV
		ICESAGVQED	TASLRAFTDA	MTRYSA PPGD	APQPTYDLEL	ITSCSSNVSV
		AHDGNGK RYY	YLTRDCTTPL	ARAAWETARH	TPVNSWL GNI	IMFAPTIWVR

		MVLMTHFFSI LQSQEQLKA LDFDIYGVTY SVSPLDLPAL IQRHGMMAAF SLHGYSPVEL NRVGACLRKL GAPPLRAWRH RARAVRAKLI AQGGKAAICG KYLFWAVKT KLKLTPLASA SKLDLSDWFV AGYDGGDIYH SVSLARPRLL LLGLLLLTVG VGIFLLPAR (SEQ ID NO: 9)
--	--	---

[00104] While sequences of exemplary HCV polyproteins are provided herein, it will be appreciated that any sequence having characteristics of an epitope of E2 protein may be employed. In some embodiments, an HCV polyprotein for use in accordance with the present invention has an amino acid sequence which is about 60% identical, about 70% identical, about 80% identical, about 85% identical, about 90% identical, about 91% identical, about 92% identical, about 93% identical, about 94% identical, about 95% identical, about 96% identical, about 97% identical, about 98% identical, about 99% identical, or 100% identical to a sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOs: 4-9. In some embodiments, such an HCV polyprotein comprises a sequence that retains the ability to bind one or more HCV E2 antibodies.

[00105] In some embodiments, a portion of an HCV polyprotein has an amino acid sequence which comprises about 50 contiguous amino acids of a sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOs: 4-9. In some embodiments, a portion of an HCV polyprotein has an amino acid sequence which is about 60% identical, about 70% identical, about 80% identical, about 85% identical, about 90% identical, about 91% identical, about 92% identical, about 93% identical, about 94% identical, about 95% identical, about 96% identical, about 97% identical, about 98% identical, about 99% identical, or 100% identical to a contiguous stretch of about 50 amino acids of a sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOs: 4-9.

[00106] In some embodiments, a portion of an HCV polyprotein has an amino acid sequence which comprises about 42 contiguous amino acids of a sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOs: 4-9. In some embodiments, a portion of an HCV polyprotein has an amino acid sequence which is about 60% identical, about 70% identical, about 80% identical, about 85% identical, about 90% identical, about 91% identical, about 92% identical, about 93% identical, about 94% identical, about 95% identical, about 96% identical, about 97% identical, about 98% identical, about 99% identical, or 100% identical to a contiguous stretch of about 42 amino acids of a sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOs: 4-9.

[00107] In some embodiments, a portion of an HCV polyprotein has an amino acid sequence which comprises about 45, about 40, about 35, about 30, about 25, about 20, about 15, about 10, or about 5 contiguous amino acids of a sequence selected from the group consisting of SEQ ID

NOs: 4-9. In some embodiments, a portion of an HCV polyprotein has an amino acid sequence which is about 60% identical, about 70% identical, about 80% identical, about 85% identical, about 90% identical, about 91% identical, about 92% identical, about 93% identical, about 94% identical, about 95% identical, about 96% identical, about 97% identical, about 98% identical, about 99% identical, or 100% identical to a contiguous stretch of about 45, about 40, about 35, about 30, about 25, about 20, about 15, about 10, or about 5 contiguous amino acids of a sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOs: 4-9.

[00108] One of skill in the art will recognize that the HCV polyproteins listed in Table 1 are merely representative examples of HCV polyproteins. Various genotypes, subtypes, and/or isolates of HCV exist and continue to be identified. It will be understood by one skilled in the art that the methods and compositions provided herein may be adapted to utilize sequences of additional genotypes, subtypes, and/or isolates. Such variation is contemplated and encompassed within the methods and compositions provided herein.

Mimotopes

[00109] A mimotope, in its broadest sense, refers to a macromolecule which mimics the structure of an epitope. In some embodiments, a mimotope elicits an antibody response identical or similar to that elicited by its corresponding epitope. In some embodiments, an antibody that recognizes an epitope also recognizes a mimotope which mimics that epitope. In some embodiments, a mimotope is a peptide. In some embodiments, a mimotope is a small molecule, carbohydrate, lipid, or nucleic acid.

[00110] Antibodies in accordance with the invention may be used for screening for mimotopes. Mimotopes may be prepared using phage display, and the peptides screened with the subject antibodies (Livnah *et al.*, 1996, *Science*, 273:464; and Preczzi *et al.*, 1996, *J. Immunol.*, 156:4504; both of which are incorporated herein by reference). In some embodiments, mimotopes are peptide or non-peptide mimotopes of conformationally-conserved HCV epitopes. Antibodies that recognize conformationally conserved HCV epitopes may be used as templates for the rational design of peptide or non-peptide structural mimics of the conformational epitope or mimotopes.

[00111] In some embodiments, by mimicking the structure of the conformationally defined viral epitope, a mimotope interferes with the ability of HCV virus particles to bind to its natural binding partners (*e.g.*, HCV target receptor), *e.g.*, by binding to the natural binding partner itself.

For example, analysis of a solved crystal structure defining the interface between a monoclonal antibody and tumor necrosis factor (TNF) enabled the rational design of a non-peptide mimetic capable of antagonizing the biological function of TNF by binding to the TNF receptor (Takasaki *et al.*, 1997, *Nat. Biotech.*, 15:1266-1270; incorporated herein by reference). Computational techniques that may be employed to rationally deduce protein folding from a primary amino acid sequence for use in designing a peptide structural mimetic are reviewed in Teichmann *et al.* (1999, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 9:390-399; incorporated herein by reference). The practical application of computer programs for use in structurally modeling conformationally conserved epitopes is described by Schwartz *et al.* (1999, *J. Mol. Biol.* 287:983; incorporated herein by reference). An alternative method for rationally creating a peptide structural mimic of an antibody epitope involves systematic permutations of synthetic peptides designed to be a linear representation of a discontinuous antibody-binding site (Reineke *et al.*, 1999, *Nat. Biotech.*, 17:271; incorporated herein by reference).

[00112] Peptides or other small molecules may have specific affinity for a monoclonal antibody and may be competitive with an epitope of a conformationally intact E2 protein. Alternatively or additionally, peptides or other small molecules may have specific affinity for a monoclonal antibody and may be competitive with an epitope of E2 complexed with E1. Such peptides may be used as vaccines, in diagnostic assays, for immunization for the production of antibodies to a specific HCV epitope, in competitive assays for defining genotype and/or subtype, and the like. See, for example, Puntoriero *et al.* (1998, *EMBO J.*, 17:3521-3533; incorporated herein by reference), Meola *et al.* (1995, *J. Immunol.*, 154:3162-3172; incorporated herein by reference), and Tafi *et al.*, (1997, *Biol. Chem.*, 378:495-502; incorporated herein by reference).

[00113] Another approach to effectively create structural mimetics of conformationally conserved HCV epitopes is to produce anti-idiotypic antibodies to conformationally dependent HCV antibodies. Anti-idiotypics may effectively block the binding of native virus with its target receptor (Chanh *et al.*, 1987, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 84:3891-3895; Kopecky *et al.*, 1999, *Interviol.*, 42:9-16; and Xue *et al.*, 1993, *J. Gen. Virol.*, 74:73-79; all of which are incorporated herein by reference). Anti-idiotypic antibodies recognizing the conformational binding sites of any one of HCV antibodies HC-1, HC-3, HC-11, and CBH-23 could prevent viral infectivity by

interfering with E2 binding to a target cellular protein, or even by interfering with virion attachment to the target cell.

[00114] In some embodiments, epitope mimics (*e.g.*, mimotopes) can serve as tools for drug discovery. To give but one example, an epitope mimic (*e.g.*, peptide, small molecule, *etc.*) that mimics the binding of E2 protein to an HCV antibody could be used to screen for other agents (*e.g.*, peptides, proteins, antibodies, small molecules, *etc.*) that bind to the epitope. In some embodiments, such identified agents may exhibit similar binding specificity and/or affinity for the E2 epitope than an HCV E2 antibody does. In some embodiments, such identified agents may exhibit increased binding specificity and/or affinity for the E2 epitope than an HCV E2 antibody does.

Applications

[00115] In some embodiments, HCV antibodies in accordance with the invention may be used for prophylactic, therapeutic, and/or diagnostic purposes. In some embodiments, HCV antibodies in accordance with the invention may be used to treat (*e.g.*, alleviate, ameliorate, relieve, delay onset of, inhibit progression of, reduce severity of, and/or reduce incidence of one or more symptoms or features of) HCV infection, HCV-mediated liver disease, and/or any other HCV-associated condition. In some embodiments, HCV antibodies may be used for a variety of therapeutic purposes, *e.g.*, immunotherapy. In some embodiments, HCV antibodies may be used for a variety of prophylactic purposes and/or passive immunization, *e.g.*, for development of vaccines for HCV. In some embodiments, HCV antibodies may be used for a variety of diagnostic purposes, *e.g.*, for capturing and/or identifying HCV virions and/or E2 protein. These and other uses for HCV antibodies are described in further detail in the sections below. In some embodiments, therapeutic, diagnostic, and/or prophylactic applications utilize HCV antibodies and/or pharmaceutical compositions thereof, as described herein. It will be appreciated that antibodies can be directed to conformational epitopes, as described herein.

[00116] In some embodiments, HCV E2 antibodies can be directed to E2 epitopes of a single HCV genotype, two HCV genotypes, three HCV genotypes, four HCV genotypes, five HCV genotypes, six HCV genotypes, seven HCV genotypes, eight HCV genotypes, nine HCV genotypes, ten HCV genotypes, eleven HCV genotypes, or more than eleven HCV genotypes, should new HCV genotypes be discovered in the future.

[00117] In some embodiments, HCV E2 antibodies can be directed to E2 epitopes of a single HCV subtype, two HCV subtypes, three HCV subtypes, four HCV subtypes, five HCV subtypes, six HCV subtypes, seven HCV subtypes, eight HCV subtypes, nine HCV subtypes, ten HCV subtypes, 11 HCV subtypes, 12 HCV subtypes, 13 HCV subtypes, 14 HCV subtypes, 15 HCV subtypes, 16 HCV subtypes, 17 HCV subtypes, 18 HCV subtypes, 19 HCV subtypes, 20 HCV subtypes, 21 HCV subtypes, or more than 21 HCV subtypes, should new HCV subtypes be discovered in the future.

[00118] In some embodiments, HCV E2 antibodies can be directed to E2 epitopes of a single HCV strain, two HCV strains, three HCV strains, four HCV strains, five HCV strains, six HCV strains, seven HCV strains, eight HCV strains, nine HCV strains, ten HCV strains, 20 HCV strains, 30 HCV strains, 40 HCV strains, 50 HCV strains, 75 HCV strains, 100 HCV strains, or more than 100 HCV strains, should new HCV strains be discovered in the future.

Therapeutic Applications

[00119] The present invention provides systems and methods for treating patients suffering from, susceptible to, and/or displaying symptoms of HCV infection. In some embodiments, the invention provides systems and methods useful for stratifying patients suffering from, susceptible to, and/or displaying symptoms of HCV infection.

[00120] In some embodiments, therapeutic applications comprise administering a therapeutically effective amount of at least one HCV antibody in accordance with the invention to a subject in need thereof. In some embodiments, administration of HCV antibodies to a subject may alleviate, ameliorate, relieve, delay onset of, inhibit progression of, reduce severity of, and/or reduce incidence of one or more signs, symptoms, and/or features of HCV infection.

[00121] In some embodiments, administration of HCV antibodies reduces the level of HCV virions circulating in a subject (*e.g.*, HCV virions that are capable of infecting new cells). In some embodiments, administration of HCV antibodies reduces the level of HCV virions circulating in a subject by about 10%, about 20%, about 30%, about 40%, about 50%, about 60%, about 70%, about 80%, about 90%, about 95%, about 99%, or about 100% relative to non-treated controls.

[00122] In some embodiments, HCV antibodies may be used *in vitro* to reduce viral load in a subject. For reducing viral load of a body component, particularly a body component of a patient infected with HCV, a patient's blood is passed through a device comprising antibodies bound to

a surface or solid support for capturing HCV virions (see, for example, U.S. Patent Numbers 5,698,390 and 4,692,411; both of which are incorporated herein by reference). Various other devices found in the literature can be used with the subject antibodies to achieve a similar result. A body component can be a biological fluid (*e.g.*, blood, serum, *etc.*), a tissue, an organ, such as the liver, and the like.

[00123] In some embodiments, the “level of HCV virions circulating in a subject” refers to an absolute number of virions circulating in a subject. In some embodiments, the “level of HCV virions circulating in a subject” refers to the number of virions per unit volume (*e.g.*, milliliter, liter, *etc.*) of the subject’s blood. In some embodiments, the “level of HCV virions circulating in a subject” refers to viral load and/or HCV RNA levels.

[00124] In some embodiments, administration of HCV antibodies inhibits replication of HCV virions in a subject, for example, by blocking infection of uninfected cells. In some embodiments, administration of HCV antibodies inhibits replication of HCV virions in a subject by about 2-fold, about 3-fold, about 4-fold, about 5-fold, about 10-fold, about 50-fold, about 100-fold, about 500-fold, about 1000-fold, about 10,000-fold, or greater than about 10,000-fold relative to non-treated controls.

[00125] In some embodiments, administration of HCV antibodies kills and/or inactivates HCV virions in a subject. In some embodiments, administration of HCV antibodies kills and/or inactivates about 10%, about 20%, about 30%, about 40%, about 50%, about 60%, about 70%, about 80%, about 90%, about 95%, about 99%, or about 100% of HCV virions in a subject relative to non-treated controls.

[00126] In some embodiments, administration of HCV antibodies inhibits binding of virus to cellular target proteins. In some embodiments, administration of HCV antibodies inhibits binding of virus to at least one cellular target protein by about 2-fold, about 3-fold, about 4-fold, about 5-fold, about 10-fold, about 50-fold, about 100-fold, about 500-fold, about 1000-fold, about 10,000-fold, or greater than about 10,000-fold relative to non-treated controls. To give but one example, administration of HCV antibodies may inhibit binding of HCV virus to CD81. In some embodiments, administration of HCV antibodies inhibits binding of HCV to CD81 by about 2-fold, about 3-fold, about 4-fold, about 5-fold, about 10-fold, about 50-fold, about 100-fold, about 500-fold, about 1000-fold, about 10,000-fold, or greater than about 10,000-fold relative to non-treated controls.

[00127] In some embodiments, administration of HCV antibodies inhibits virus-mediated fusion with a target cell. In some embodiments, administration of HCV antibodies inhibits virus-mediated fusion with a target cell by about 2-fold, about 3-fold, about 4-fold, about 5-fold, about 10-fold, about 50-fold, about 100-fold, about 500-fold, about 1000-fold, about 10,000-fold, or greater than about 10,000-fold relative to non-treated controls.

[00128] In some embodiments, administration of HCV antibodies inhibits conformational changes of one or more proteins associated with virus entry. In some embodiments, administration of HCV antibodies inhibits conformational changes of one or more proteins associated with virus entry by about 2-fold, about 3-fold, about 4-fold, about 5-fold, about 10-fold, about 50-fold, about 100-fold, about 500-fold, about 1000-fold, about 10,000-fold, or greater than about 10,000-fold relative to non-treated controls.

[00129] In some embodiments, administration of HCV antibodies promotes antibody-mediated complement activation. In some embodiments, administration of HCV antibodies promotes antibody-mediated complement activation by about 2-fold, about 3-fold, about 4-fold, about 5-fold, about 10-fold, about 50-fold, about 100-fold, about 500-fold, about 1000-fold, about 10,000-fold, or greater than about 10,000-fold relative to non-treated controls.

[00130] In some embodiments, administration of HCV antibodies promotes antibody-mediated aggregation of virions, which leads to clearance by phagocytic cells. In some embodiments, administration of HCV antibodies promotes antibody-mediated aggregation of virions by about 2-fold, about 3-fold, about 4-fold, about 5-fold, about 10-fold, about 50-fold, about 100-fold, about 500-fold, about 1000-fold, about 10,000-fold, or greater than about 10,000-fold relative to non-treated controls.

[00131] The chimpanzee is an accepted animal model for screening HCV vaccines and therapeutics (see, for example, Farci *et al.*, 1996, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 93:15394-15399; Farci *et al.*, 1994, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 91:7792-7796; Farci *et al.*, 1992, *Science*, 258:135-140; Krawczynski *et al.*, 1996, *J. Infect. Dis.*, 173:822-828; and Bassett *et al.*, 1998, *J. Virol.*, 72:2589-2599; all of which are incorporated herein by reference). Antibody effectiveness can be determined by monitoring for the presence and titer of HCV RNA using quantitative PCR methods. A successful reduction of viral load, or prevention of infection in a test animal or subject is reflected as a reduction or elimination of HCV RNA in serum. Enzymatic tests such as measurement of alanine aminotransferase or other liver enzymes and/or use of sequential punch

needle liver biopsies also may also be used to test effectiveness, where improvement in the rating of either would indicate a reduction in viral-induced liver damage.

[00132] In some embodiments, administration of HCV antibodies results in interference with conformational changes in the viral envelope proteins necessary for cell infectivity. For example, administered HCV antibodies may bind to such viral envelope proteins, thereby sterically blocking an envelope protein's ability to recognize and/or interact with cellular surfaces (*e.g.*, with proteins, *e.g.*, CD81; lipids; carbohydrates; receptors; *etc.* on cell surfaces). In some embodiments, administered HCV antibodies may bind to such viral envelope proteins, thereby changing the three-dimensional conformation of the envelope protein in such a way that renders the envelope protein incapable of recognizing and/or interacting with cellular surfaces (*e.g.*, with proteins, lipids, carbohydrates, receptors, *etc.* on cell surfaces).

[00133] In some embodiments, treatment regimens are particularly tailored for the individual being treated. Briefly, a patient to be treated is provided, and a sample of serum is taken from the patient. The serum sample is then analyzed for the presence of particular antibodies, to give but a few examples, neutralizing antibodies, antibodies that bind to a particular region or epitope of a protein of HCV, *etc.* Any method known in the art, including but not limited to those described in this application, may be used to determine the presence of the antibodies to be detected (*e.g.*, ELISA, competition assay, virus neutralization-of-binding assay, *etc.*). Based on the level of antibodies in the patient's serum, treatment can be designed for the patient. For example, a patient who does not have antibodies known to interfere with the binding of virions to their natural receptor may be treated with monoclonal antibodies of this type. In some embodiments, serum from a patient (*e.g.*, a patient suffering from, susceptible to, infected with, and/or displaying symptoms of HCV infection, HCV-mediated liver disease, and/or any other HCV-associated condition) is considered positive for the presence of a competing antibody if 50% or greater inhibition of E2 binding is obtained at a dilution of the patient's serum of 1/100 or greater, 1/200 or greater, 1/300 or greater, 1/400 or greater, 1/500 or greater, 1/600 or greater, 1/700 or greater, 1/800 or greater, 1/900 or greater, or 1/1000 or greater.

[00134] In some embodiments, methods such as those described above may be advantageous because the treatment is tailored to the particular individual being treated, for example; only those antibodies that are needed and not produced naturally by the patient are administered. This avoids or reduces the risk of adverse reactions from administering therapeutics that are not

needed. Such methods eliminate the expense of treating patients who would not benefit from such treatment. For example, if a patient were already producing therapeutic levels of an antibody to a particular epitope of E2, there may be no need to administer a human monoclonal antibody directed against the epitope exogenously.

[00135] Treatment of a subject with HCV antibodies may be given alone, during the course of another treatment, and/or after the cessation of treatment of other antiviral compounds.

Alternatively or additionally, HCV antibodies may be physically conjugated (*e.g.*, covalently or non-covalently) to known toxins or proteins capable of inducing apoptosis or other cell death processes. Modified HCV antibodies can be administered to individuals suffering from, susceptible to, infected with, and/or displaying symptoms of HCV infection, HCV-mediated liver disease, and/or any other HCV-associated condition as a means of killing HCV infected cells.

Prophylactic Applications

[00136] In some embodiments, HCV antibodies in accordance with the invention may be utilized for prophylactic applications. In some embodiments, prophylactic applications involve systems and methods for preventing, inhibiting progression of, and/or delaying the onset of HCV infection, HCV-mediated liver disease, and/or any other HCV-associated condition in individuals susceptible to and/or displaying symptoms of HCV infection, HCV-mediated liver disease, and/or any other HCV-associated condition. In some embodiments, prophylactic applications involve systems and methods for preventing, inhibiting progression of, and/or delaying the onset of chronic liver disease. In some embodiments, prophylactic applications involve systems and methods for preventing, inhibiting progression of, and/or delaying the onset of liver disease. In some embodiments, prophylactic applications involve systems and methods for preventing, inhibiting progression of, and/or delaying the onset of liver failure.

[00137] In some embodiments, vaccines to HCV may be utilized for passive immunization (*i.e.*, immunization wherein antibodies are administered to a subject). In some embodiments, vaccines to HCV for passive immunization may comprise HCV antibodies, such as any of the compositions described herein. In some embodiments, passive immunization occurs when antibodies are being transferred from mother to fetus during pregnancy. In some embodiments, antibodies are administered directly to an individual (*e.g.*, by injection, orally, *etc.*).

[00138] In some embodiments, prophylactic applications may include administering vaccines. In some embodiments, vaccination is tailored to the individual patient. For example, as

described above, serum may be collected from a patient and tested for presence of HCV antibodies. In some embodiments, a vaccine may be designed to induce production of antibodies that have been found to be lacking in the patient. In some embodiments, it is desirable for vaccine compositions to comprise antigens that have a native conformation, mediate a protective response (*e.g.*, complement activation, virus neutralization, *etc.*), and/or can induce a strong antibody response. In some embodiments, a vaccine contains an epitope or mimotope thereof to which antibodies are not being produced naturally in the individual. For example, synthetic peptide mimotopes isolated with HCV antibodies (*e.g.*, HCV antibodies recognizing multiple genotypes and/or subtypes) have the potential to induce a potent immune response similar to the antibody used in the original isolation of the mimotope. Administration of such a vaccine might induce a patient's immune system to start producing a set of antibodies directed against the administered epitope. It will be appreciated that the mimotopes (or epitopes) in accordance with the invention can be used alone or in combination with recombinant proteins, inactivated HCV virus, killed HCV virus, and/or as a cocktail of several different mimotopes.

[00139] In some embodiments, vaccines to HCV may be utilized for active immunization (*i.e.*, immunization wherein microbes, proteins, peptides, epitopes, mimotopes, *etc.* are administered to a subject). In some embodiments, vaccines to HCV may comprise any agent that mimics at least one conformational epitope of HCV E2 protein may be used. For example, the agent may be a peptide, protein, glycopeptide, glycoprotein, small molecule, mimotope, organic compound, lipid, saccharide, organometallic compound, inorganic compound, *etc.* In some embodiments, epitopes represented in a vaccine include those against which antibodies known to prevent infection are directed. In some embodiments, epitopes represented in a vaccine in accordance with the invention include ones that are conserved among different genotypes and/or subtypes of the virus or among different strains of virus. In some embodiments, peptides or proteins that contain conformationally defined epitopes of E2 of HCV are used in formulations of a vaccine to prevent, delay onset of, treat, ameliorate symptoms of, and/or reduce severity of infection by HCV. In some embodiments, HCV E2 epitopes may be linear epitopes. In some embodiments, E2 epitopes may be a mixture of linear and conformational epitopes. In some embodiments, E2 epitopes may be conformational epitopes. In some embodiments, peptide epitopes are less than 100 amino acids in length. In certain embodiments, peptide epitopes are less than 50, less than 40, less than 30, less than 20, or less than 10 amino acids in length. In some embodiments,

peptides to be used in formulating a vaccine are peptide fragments of E2 protein of HCV.

Typically, a peptide is used that folds in a manner similar to its three-dimensional fold in the native E2 protein, thus preserving the three-dimensional structure of the conformational epitope.

[00140] In some embodiments, a vaccine may contain proteins that represent concatenated peptides that have one or more conformational epitopes to which antibodies are desired. Several different peptides making up a multimer may be used so that each peptide contains a different epitope, or the same peptide may be used more than once in the multimer.

[00141] Peptides in accordance with the invention may be synthesized using any method known in the art, including Merrifield solid phase chemistry (see, e.g., Atherton and Sheppard, 1989, *Solid Phase Peptide Synthesis: A Practical Approach*, IRL Press, Oxford, England; Stewart and Young, 1984, *Solid Phase Peptide Synthesis*, 2nd ed., Pierce Chemical Company, Rockford; Merrifield, 1963, *J. Am. Chem. Soc.*, 85:2149-2154; all of which are incorporated herein by reference). Alternatively or additionally, peptides may be obtained by cleavage of E2 protein and optional purification of cleavage products. In some embodiments, peptides may be made recombinantly and produced in *E. coli*, yeast (e.g., *S. cerevisiae*), insect cells (e.g., Sf9 cells), and/or mammalian cells (e.g., CHO cells) using any available techniques in the art (e.g., Sambrook *et al.*; Miller & Calos, eds., *Gene Transfer vectors for Mammalian Cells*, 1987; and Ausubel *et al.*, eds., *Current Protocols in Molecular Biology*, 1987; both of which are incorporated herein by reference). In some embodiments, peptides may be modified to increase their immunogenicity, solubility in aqueous solution, and/or to increase their propensity to fold correctly. For example, peptides may be glycosylated, farnesylated, hydroxylated, reduced, oxidized, methylated, *etc.*

[00142] In certain embodiments, a peptide is or comprises amino acids 523 through 540 of the E2 protein of HCV subtype 1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 4, 5, and/or 6. As would be appreciated by one of ordinary skill in this art, analogous, homologous, similar, and/or identical amino acid sequences of E2 proteins from other subtypes of HCV may be used. Analogous sequences may be determined by aligning multiple sequences of the E2 protein from different strains or subtypes of HCV. Homologous, similar, and/or identical sequences that preserve the desired epitope may also be used in the formulation of vaccines.

[00143] In some embodiments, the sequences are about 50% homologous to the native sequence from HCV 1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 4, 5, and/or 6 E2 protein, about 60% homologous, about

70% homologous, about 80% homologous, about 90% homologous, about 95% homologous, about 99% homologous, or more than about 99% homologous. In some embodiments, the sequences are about 50% similar to the native sequence from HCV 1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 4, 5, and/or 6 E2 protein, about 60% similar, about 70% similar, about 80% similar, about 90% similar, about 95% similar, about 99% similar, or more than about 99% similar. In some embodiments, the sequences are about 50% identical to the native sequence from HCV 1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 4, 5, and/or 6 E2 protein, about 60% identical, about 70% identical, about 80% identical, about 90% identical, about 95% identical, about 99% identical, or more than about 99% identical.

[00144] In some embodiments, the sequences are at least 50% homologous to the native sequence from HCV 1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 4, 5, and/or 6 E2 protein, at least 60% homologous, at least 70% homologous, at least 80% homologous, at least 90% homologous, at least 95% homologous, at least 99% homologous, or substantially 100% homologous. In some embodiments, the sequences are at least 50% similar to the native sequence from HCV 1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 4, 5, and/or 6 E2 protein, at least 60% similar, at least 70% similar, at least 80% similar, at least 90% similar, at least 95% similar, at least 99% similar, or substantially 100% similar. In some embodiments, the sequences are at least 50% identical to the native sequence from HCV 1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 4, 5, and/or 6 E2 protein, at least 60% identical, at least 70% identical, at least 80% identical, at least 90% identical, at least 95% identical, at least 99% identical, or substantially 100% identical.

[00145] In some embodiments, a vaccine composition comprises at least one adjuvant. Any adjuvant may be used in accordance with the present invention. A large number of adjuvants are known; a useful compendium of many such compounds is prepared by the National Institutes of Health and can be found on the internet

(www.niaid.nih.gov/daids/vaccine/pdf/compendium.pdf). See also Allison (1998, *Dev. Biol. Stand.*, 92:3-11; incorporated herein by reference), Unkeless *et al.* (1998, *Annu. Rev. Immunol.*, 6:251-281; incorporated herein by reference), and Phillips *et al.* (1992, *Vaccine*, 10:151-158; incorporated herein by reference). Hundreds of different adjuvants are known in the art and could be employed in the practice of the present invention. Exemplary adjuvants that can be utilized in accordance with the invention include, but are not limited to, cytokines, gel-type adjuvants (*e.g.*, aluminum hydroxide, aluminum phosphate, calcium phosphate, *etc.*); microbial adjuvants (*e.g.*, immunomodulatory DNA sequences that include CpG motifs; endotoxins such as

monophosphoryl lipid A; exotoxins such as cholera toxin, *E. coli* heat labile toxin, and pertussis toxin; muramyl dipeptide, *etc.*); oil-emulsion and emulsifier-based adjuvants (*e.g.*, Freund's Adjuvant, MF59 [Novartis], SAF, *etc.*); particulate adjuvants (*e.g.*, liposomes, biodegradable microspheres, saponins, *etc.*); synthetic adjuvants (*e.g.*, nonionic block copolymers, muramyl peptide analogues, polyphosphazene, synthetic polynucleotides, *etc.*); and/or combinations thereof. Other exemplary adjuvants include some polymers (*e.g.*, polyphosphazenes; described in U.S. Patent 5,500,161, which is incorporated herein by reference), Q57, QS21, squalene, tetrachlorodecaoxide, *etc.*

[00146] Pharmaceutically acceptable excipients are described in further detail below in the section entitled "*Pharmaceutical Compositions.*"

Diagnostic Applications

[00147] In some embodiments, HCV antibodies in accordance with the invention are used for diagnostic applications. For example, by virtue of the variety of binding profiles of HCV antibodies, diagnostic assays may be employed which will detect a plurality of HCV genotypes and/or subtypes, so as to provide a pan-HCV antibody, while at the same time being able to dissect individual genotypes and/or subtypes by subtractive analysis.

[00148] For diagnostic purposes, antibodies may be used in a wide variety of formats for detecting E2 protein, discerning HCV genotypes and/or subtypes, detecting virions and antibodies (*see, e.g.*, U.S. Patent Number 5,695,390; incorporated herein by reference). Antibodies may be used individually or in combination with other antibodies of the subject group or other antibodies or with lectins which bind to the glycosyl groups present on HCV envelope proteins (*i.e.*, E1 or E2) and/or other proteins with which HCV E2 complexes (*e.g.*, a HCV E1:HCV E2 complex). For diagnostic purposes, a wide variety of labels may be employed, which for the most part have been mentioned previously. These include, but are not limited to, fluorophores, chemiluminescent moieties, radioisotopes, enzymes, particles (*e.g.*, colloidal carbon particles, gold particles, latex particles, *etc.*) ligands for which there are high affinity receptors, and prolabels, which can be activated to provide a detectable signal.

[00149] In some embodiments, a surface is coated with a protein, which can bind to HCV antigens as free protein (*e.g.*, circulating proteins) or as part of an intact or partially intact virion. One may use antibodies of the subject invention which bind to multiple HCV genotypes and/or subtypes or to lectins (*e.g.*, *Galanthus nivalis* lectin; "GNA"). One may also use antibodies in

accordance with the invention which bind to HCV subtypes 1, 2, 3, 4, 5, and 6. In some embodiments, antibodies in accordance with the invention bind to at least one, two, three, four, five, or more than five different genotypes and/or subtypes.

[00150] In some embodiments, assays may involve contacting a surface with a medium, which may contain free or HCV-associated protein(s), where the medium may be the sample or a solution of known E2 of one or more genotypes and/or subtypes. After incubation and washing to remove non-specifically bound protein, the assay may proceed in various manners depending upon what is being assayed. Where a blood sample suspected of being seropositive is being assayed, the sample may be applied to the layer of E2 protein, incubated, and washed, and the presence of human antibodies bound to the protein layer determined. One may use labeled α -human antibodies (other than against the isotype of the subject antibodies, where the subject antibodies have been initially used). In assays for antibodies in seropositive subjects, subject antibodies may be used as controls with the same reagent used to detect any human anti-HCV antibodies in the sera of such subjects. The specificity of the antibodies in the sample can be confirmed by using the subject antibodies, which are differentially labeled from the anti-human antibodies and determine whether they are blocked by the antibodies in the sample.

[00151] Where the sample is assayed for HCV E2 protein, detection employs labeled subject antibodies, the selection depending upon whether one is interested in genotyping or detection of E2 protein. After washing away non-specifically bound antibody, the presence of labeled antibodies is determined by detecting the presence of the label in accordance with known techniques. Alternatively or additionally, where the subject antibodies are bound to a surface, a labeled lectin for E2 may be employed to detect the presence of E2 protein.

[00152] Antibodies in accordance with the invention can be used to measure the reactivity of other antibodies, including antibodies in sera, monoclonal antibodies, antibodies expressed as a result of genetic engineering, *etc.* In some embodiments, intact virions are used. In some embodiments, conformationally conserved envelope proteins are used. For virion capture, see, for example, Kimura *et al.*, 1998, *J. Med. Virology*, 56:25-32; Morita *et al.*, 1996, *Hepato-Gastroenterology*, 43:582-585; Sata *et al.*, 1993, *Virology*, 196:354-357; and Hijikata *et al.*, 1993, *J. Virol.*, 67:1953-1958; all of which are incorporated herein by reference. One protocol involves steps of coating a solid support with a lectin (*e.g.*, GNA) and then contacting the surface with a medium (*e.g.*, serum of a seropositive patient) comprising intact HCV virions. Additives

which might destroy virions should usually be avoided (*e.g.*, detergents). After incubating the medium and washing to remove non-specifically bound components of the medium, virions may be contacted with antibodies in accordance with the invention and antibodies of the sample. This may be performed concurrently or consecutively, where the sample is added first. An amount of the subject antibody is used which is sensitive to displacement by another antibody. Such amount may be determined empirically, and one may wish to use different amounts of the subject antibody in a series of tests. By knowing the signal, which is obtained in the absence and presence of the sample, one can determine the reactivity or binding affinity of the antibodies in the sample. Various techniques may be used to determine the amount of a subject antibody bound to the virions. Where the subject antibodies are labeled, *e.g.*, with biotin or digoxigenin, streptavidin or anti-digoxigenin labeled with a fluorophore or enzyme whose substrate produces a detectable signal can serve to determine the amount of the subject antibodies.

[00153] Labeled subject antibodies may be used in assaying for the presence of HCV from biopsy material. Labeled antibody may be incubated with immobilized biopsy material, such as a liver slice, with a solution of one or more of the subject labeled antibodies. After washing away non-specifically bound antibodies, the presence of the antibodies bound to the cells of the biopsied tissue may be detected in accordance with the nature of the label.

[00154] In some embodiments, HCV antibodies in accordance with the invention can be used to identify HCV receptors. Those skilled in the art will appreciate the multitude of ways this can be accomplished (Sambrook J., Fritsch E. and Maniatis T. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989; and Ausubel *et al.*, eds., *Current Protocols in Molecular Biology*, 1987; both of which are incorporated herein by reference). Typically, protein and peptide receptors can be identified by determining whether an antibody to E2 can inhibit attachment of HCV virions to a cell susceptible to HCV infection. Thus, receptors for HCV E2 proteins and peptides can be identified in this manner. A susceptible cell can be incubated in the presence of HCV and anti-HCV E2 antibody, and a cell-binding assay can be utilized to determine whether attachment is decreased in the presence of the antibody.

[00155] Cells expressing putative receptors for HCV and/or libraries of putative receptors for HCV may be screened for their abilities to bind HCV. For example, cells expressing a putative HCV receptor (*e.g.*, a receptor for HCV E2) can be contacted with an HCV protein or peptide in

the presence of an antibody for a time and under conditions sufficient to allow binding of the HCV protein or peptide to putative receptor on the surface of the cell. Alternatively or additionally, HCV proteins, peptides, or virions can be pre-incubated with antibody prior to contacting the putative receptor on the cell surface. Binding can be detected by any means known in the art, *e.g.*, flow cytometry *etc.* (see Ausubel *et al.* or Sambrook *et al.*, *supra*). A decrease in binding to the surface of the cell in the presence of antibody compared to binding in the absence of the cell in the absence of the antibody indicates the identification of an HCV receptor.

[00156] In some embodiments, methods of identifying HCV receptors (*e.g.*, such as E2 receptors) include the use of solid supports, such as beads, columns, and the like. For example, receptors for HCV proteins and peptides (*e.g.*, E2 proteins and/or fragments thereof) and/or HCV virions can be identified by attaching an HCV antibody to a solid support and then contacting the antibody with an HCV protein or peptide for a time sufficient for the HCV protein or peptide to bind to the antibody. This provides an HCV protein ligand for putative HCV receptors that can be contacted with the antibody:ligand complex on the solid support for a time and under conditions sufficient to allow binding of a receptor to the HCV protein or peptide. Proteins can be expressed from a library or provided as a cell extract or purified protein preparation from natural or recombinant cells. Once specific binding complexes between the HCV protein peptide are formed, unbound HCV proteins or peptides, *e.g.*, library proteins or peptide that did not bind specifically to the HCV proteins or peptides, are removed, *e.g.*, by standard washing steps. Bound proteins are then eluted and identified, *e.g.*, by gel electrophoresis.

Administration

[00157] HCV antibodies in accordance with the invention and pharmaceutical compositions thereof in accordance with the present invention may be administered using any amount and any route of administration effective for treatment.

[00158] The exact amount required will vary from subject to subject, depending on the species, age, and general condition of the subject, the severity of the infection, the particular composition, its mode of administration, its mode of activity, and the like. HCV antibodies are typically formulated in dosage unit form for ease of administration and uniformity of dosage. It will be understood, however, that the total daily usage of the compositions of the present invention will

be decided by the attending physician within the scope of sound medical judgment. The specific therapeutically effective dose level for any particular subject or organism will depend upon a variety of factors including the disorder being treated and the severity of the disorder; the activity of the specific HCV antibody employed; the specific pharmaceutical composition administered; the half-life of the composition after administration; the age, body weight, general health, sex, and diet of the subject; the time of administration, route of administration, and rate of excretion of the specific compound employed; the duration of the treatment; drugs used in combination or coincidental with the specific compound employed; and like factors, well known in the medical arts.

[00159] Pharmaceutical compositions of the present invention may be administered by any route. In some embodiments, pharmaceutical compositions of the present invention are administered by a variety of routes, including oral (PO), intravenous (IV), intramuscular (IM), intra-arterial, intramedullary, intrathecal, subcutaneous (SQ), intraventricular, transdermal, interdermal, intradermal, rectal (PR), vaginal, intraperitoneal (IP), intragastric (IG), topical (*e.g.*, by powders, ointments, creams, gels, lotions, and/or drops), mucosal, intranasal, buccal, enteral, vitreal, sublingual; by intratracheal instillation, bronchial instillation, and/or inhalation; as an oral spray, nasal spray, and/or aerosol, and/or through a portal vein catheter.

[00160] In general, the most appropriate route of administration will depend upon a variety of factors including the nature of the agent being administered (*e.g.*, its stability in the environment of the gastrointestinal tract), the condition of the subject (*e.g.*, whether the subject is able to tolerate a particular mode of administration), *etc.* In specific embodiments, HCV antibodies in accordance with the present invention and/or pharmaceutical compositions thereof may be administered intravenously, for example, by intravenous infusion. In specific embodiments, HCV antibodies in accordance with the present invention and/or pharmaceutical compositions thereof may be administered by intramuscular injection. In specific embodiments, HCV antibodies in accordance with the present invention and/or pharmaceutical compositions thereof may be administered by subcutaneous injection. In specific embodiments, HCV antibodies in accordance with the present invention and/or pharmaceutical compositions thereof may be administered via portal vein catheter. However, the invention encompasses the delivery of HCV antibodies in accordance with the present invention and/or pharmaceutical compositions thereof

by any appropriate route taking into consideration likely advances in the sciences of drug delivery.

[00161] In certain embodiments, HCV antibodies in accordance with the present invention and/or pharmaceutical compositions thereof in accordance with the invention may be administered at dosage levels sufficient to deliver from about 0.001 mg/kg to about 100 mg/kg, from about 0.01 mg/kg to about 50 mg/kg, from about 0.1 mg/kg to about 40 mg/kg, from about 0.5 mg/kg to about 30 mg/kg, from about 0.01 mg/kg to about 10 mg/kg, from about 0.1 mg/kg to about 10 mg/kg, or from about 1 mg/kg to about 25 mg/kg of subject body weight per day to obtain the desired therapeutic effect. The desired dosage may be delivered more than three times per day, three times per day, two times per day, once per day, every other day, every third day, every week, every two weeks, every three weeks, every four weeks, every two months, every six months, or every twelve months. In certain embodiments, the desired dosage may be delivered using multiple administrations (*e.g.*, two, three, four, five, six, seven, eight, nine, ten, eleven, twelve, thirteen, fourteen, or more administrations).

[00162] It will be appreciated that HCV antibodies in accordance with the present invention and/or pharmaceutical compositions thereof can be employed in combination therapies. The particular combination of therapies (*e.g.*, therapeutics or procedures) to employ in a combination regimen will take into account compatibility of the desired therapeutics and/or procedures and the desired therapeutic effect to be achieved. It will be appreciated that the therapies employed may achieve a desired effect for the same purpose (for example, HCV antibodies useful for treating, preventing, and/or delaying the onset of HCV infection may be administered concurrently with another agent useful for treating, preventing, and/or delaying the onset of HCV infection), or they may achieve different effects (*e.g.*, control of any adverse effects). The invention encompasses the delivery of pharmaceutical compositions in combination with agents that may improve their bioavailability, reduce and/or modify their metabolism, inhibit their excretion, and/or modify their distribution within the body.

[00163] Pharmaceutical compositions in accordance with the present invention may be administered either alone or in combination with one or more other therapeutic agents. By “in combination with,” it is not intended to imply that the agents must be administered at the same time and/or formulated for delivery together, although these methods of delivery are within the scope of the invention. Compositions can be administered concurrently with, prior to, or

subsequent to, one or more other desired therapeutics or medical procedures. It will be appreciated that therapeutically active agents utilized in combination may be administered together in a single composition or administered separately in different compositions. In general, each agent will be administered at a dose and/or on a time schedule determined for that agent.

[00164] In general, it is expected that agents utilized in combination will be utilized at levels that do not exceed the levels at which they are utilized individually. In some embodiments, the levels utilized in combination will be lower than those utilized individually.

[00165] In some embodiments, HCV E2 antibodies in accordance with the invention (*e.g.*, HC-1, HC-3, HC-11, and CBH-23) may be administered with interferon, with ribavirin, or with both interferon and ribavirin.

[00166] In some embodiments, compositions for combination therapy can comprise a plurality of antibodies directed to a single conformational epitope. In some embodiments, compositions for combination therapy can comprise a plurality of antibodies that recognize distinct conformational epitopes (*e.g.*, on the same viral envelope protein or on different viral envelope proteins), thereby simultaneously interfering with multiple mechanisms in the infectious process.

[00167] In certain embodiments, compositions in accordance with the invention comprise exactly one antibody to E2 (*e.g.*, HC-1, HC-3, HC-11, and CBH-23). In certain embodiments, compositions include exactly two, exactly three, exactly four, exactly five, exactly six, or more than six HCV E2 antibodies. In some embodiments, compositions comprise all possible permutations and combinations of HC-1, HC-3, HC-11, and CBH-23. Exemplary compositions comprising 1, 2, 3, or 4 antibodies selected from the group consisting of HC-1, HC-3, HC-11, and CBH-23 are shown in Table 2:

Table 2: Exemplary Compositions Comprising HCV Antibodies

One Antibody	Two Antibodies	Three Antibodies	Four Antibodies
HC-1	HC-1 and HC-3	HC-1, HC-3, and HC-11	HC-1, HC-3, HC-11, and CBH-23
HC-2	HC-1 and HC-11	HC-1, HC-3, and CBH-23	
HC-11	HC-1 and CBH-23	HC-1, HC-11, and CBH-23	
CBH-23	HC-3 and HC-11	HC-3, HC-11, and CBH-23	
	HC-3 and CBH-23		
	HC-11 and CBH-23		

[00168] In some embodiments, hybridoma cell lines that secrete anti-HCV E2 antibodies have been deposited in the American Type Culture Collection (ATCC). For example, hybridoma cell lines that secrete human monoclonal antibody HC-1 has been deposited under Accession number PTA-9416; human monoclonal antibody HC-3 secreted by the hybridoma cell line has been deposited in the ATCC under Accession number PTA-9417; human monoclonal antibody HC-11 secreted by the hybridoma cell line has been deposited in the ATCC under Accession number PTA-9418; and human monoclonal antibody CBH-23 secreted by the hybridoma cell line has been deposited in the ATCC under Accession number PTA-9419.

[00169] It will be appreciated by one of skill in the art that any permutation or combination of HC-1, HC-3, HC-11, and CBH-23 can be combined with any other antibody (*e.g.*, antibodies that recognize E1, E2, and/or other envelope proteins) to formulate compositions comprising a plurality of different antibodies. In certain embodiments, HC-1, HC-3, HC-11, and/or CBH-23 can be combined with any of the following previously described antibodies against E2: CBH-2, CBH-4G, CBH-5, CBH-7, CBH-8C, CBH-8E, CBH-9, CBH-11, fragments thereof, and/or combinations thereof (see U.S. Patent 6, 692,908; and U.S. Patent Publications 2006/0104980 and 2006/0188511; all of which are incorporated herein by reference). In certain embodiments, HC-1, HC-3, HC-11, and/or CBH-23 can be combined with H-111, H-114 (both of which are previously described antibodies against E1), fragments thereof, and/or combinations thereof (see U.S. Patent Publication 2003/180284; incorporated herein by reference). In certain embodiments, HC-1, HC-3, HC-11, and/or CBH-23 can be combined with humanized AP33 (Owsianka *et al.*, 2005, *J. Virol.*, 79:11095-104; incorporated herein by reference); Fab c137 (Perotti *et al.*, 2008, *J. Virol.*, 82:1047-52; incorporated herein by reference, 2008); mAbs 1:7 and A8 (Johansson *et al.*, 2007, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 104:16269-74; incorporated herein by reference); AR3 human MAbs (Law *et al.*, 2008, *Nat. Med.*, 14:25-27; incorporated herein by reference); fragments thereof; and/or combinations thereof.

Pharmaceutical Compositions

[00170] The present invention provides HCV antibodies and pharmaceutical compositions comprising at least one HCV antibody and at least one pharmaceutically acceptable excipient. Such pharmaceutical compositions may optionally comprise one or more additional therapeutically active substances. In accordance with some embodiments, methods of

administering a pharmaceutical composition comprising administering HCV antibodies to a subject in need thereof are provided. In some embodiments, pharmaceutical compositions are administered to humans. For the purposes of the present disclosure, the phrase “active ingredient” generally refers to an HCV antibody in accordance with the invention. In certain embodiments, an HCV antibody is an antibody that recognizes E2 envelope protein. In certain embodiments, an HCV antibody is an antibody that recognizes a conformational epitope of E2 envelope protein.

[00171] Pharmaceutical compositions for administration of HCV E2 antibodies may be provided in a sterile injectible form (*e.g.*, a form that is suitable for subcutaneous injection or intravenous infusion). For example, in some embodiments, antibodies are provided in a liquid dosage form that is suitable for injection. In some embodiments, antibodies are provided as lyophilized sterile powders, optionally under vacuum, which are reconstituted with an aqueous diluent (*e.g.*, water, buffer, salt solution, *etc.*) prior to injection. In some embodiments, antibodies are diluted and/or reconstituted in water, sodium chloride solution, sodium acetate solution, benzyl alcohol solution, phosphate buffered saline, *etc.* In some embodiments, powder should be mixed gently with the aqueous diluent (*e.g.*, not shaken).

[00172] In some embodiments, antibody formulations comprise one or more pharmaceutically acceptable excipients (*e.g.*, preservative, inert diluent, dispersing agent, surface active agent and/or emulsifier, buffering agent, *etc.*). In some embodiments, antibody formulations comprise one or more preservatives. In some embodiments, antibody formulations comprise no preservative.

[00173] In some embodiments, antibodies are provided in a form that can be refrigerated and/or frozen. In some embodiments, antibodies are provided in a form that cannot be refrigerated and/or frozen. In some embodiments, reconstituted antibody solutions and/or antibody liquid dosage forms may be stored for a certain period of time after reconstitution (*e.g.*, 2 hours, 12 hours, 24 hours, 2 days, 5 days, 7 days, 10 days, 2 weeks, a month, two months, or longer). In some embodiments, storage of antibody formulations for longer than the specified time results in antibody degradation.

[00174] Liquid dosage forms and/or reconstituted antibody solutions may comprise particulate matter and/or discoloration prior to administration. In general, a solution should not be used if discolored or cloudy and/or if particulate matter remains after filtration.

[00175] Formulations of the pharmaceutical compositions described herein may be prepared by any method known or hereafter developed in the art of pharmacology. In general, such preparatory methods include the step of bringing the active ingredient into association with an excipient and/or one or more other accessory ingredients, and then, if necessary and/or desirable, shaping and/or packaging the product into a desired single- or multi-dose unit.

[00176] A pharmaceutical composition in accordance with the invention may be prepared, packaged, and/or sold in bulk, as a single unit dose, and/or as a plurality of single unit doses. As used herein, a "unit dose" is discrete amount of the pharmaceutical composition comprising a predetermined amount of the active ingredient. The amount of the active ingredient is generally equal to the dosage of the active ingredient which would be administered to a subject and/or a convenient fraction of such a dosage such as, for example, one-half or one-third of such a dosage.

[00177] Relative amounts of the active ingredient, the pharmaceutically acceptable excipient, and/or any additional ingredients in a pharmaceutical composition in accordance with the invention will vary, depending upon the identity, size, and/or condition of the subject treated and further depending upon the route by which the composition is to be administered. By-way of example, the composition may comprise between 0.1% and 100% (w/w) active ingredient.

[00178] Pharmaceutical formulations of the present invention may additionally comprise a pharmaceutically acceptable excipient, which, as used herein, includes any and all solvents, dispersion media, diluents, or other liquid vehicles, dispersion or suspension aids, surface active agents, isotonic agents, thickening or emulsifying agents, preservatives, solid binders, lubricants and the like, as suited to the particular dosage form desired. Remington's *The Science and Practice of Pharmacy*, 21st Edition, A. R. Gennaro, (Lippincott, Williams & Wilkins, Baltimore, MD, 2006) discloses various excipients used in formulating pharmaceutical compositions and known techniques for the preparation thereof. Except insofar as any conventional excipient medium is incompatible with a substance or its derivatives, such as by producing any undesirable biological effect or otherwise interacting in a deleterious manner with any other component(s) of the pharmaceutical composition, its use is contemplated to be within the scope of this invention.

[00179] In some embodiments, the pharmaceutically acceptable excipient is at least 95%, at least 96%, at least 97%, at least 98%, at least 99%, or 100% pure. In some embodiments, the excipient is approved for use in humans and for veterinary use. In some embodiments, the

excipient is approved by United States Food and Drug Administration. In some embodiments, the excipient is pharmaceutical grade. In some embodiments, the excipient meets the standards of the United States Pharmacopoeia (USP), the European Pharmacopoeia (EP), the British Pharmacopoeia, and/or the International Pharmacopoeia.

[00180] Pharmaceutically acceptable excipients used in the manufacture of pharmaceutical compositions include, but are not limited to, inert diluents, dispersing and/or granulating agents, surface active agents and/or emulsifiers, disintegrating agents, binding agents, preservatives, buffering agents, lubricating agents, and/or oils. Such excipients may optionally be included in the formulations. Excipients such as cocoa butter and suppository waxes, coloring agents, coating agents, sweetening, flavoring, and/or perfuming agents can be present in the composition, according to the judgment of the formulator.

[00181] Exemplary diluents include, but are not limited to, calcium carbonate, sodium carbonate, calcium phosphate, dicalcium phosphate, calcium sulfate, calcium hydrogen phosphate, sodium phosphate lactose, sucrose, cellulose, microcrystalline cellulose, kaolin, mannitol, sorbitol, inositol, sodium chloride, dry starch, cornstarch, powdered sugar, *etc.*, and/or combinations thereof

[00182] Exemplary granulating and/or dispersing agents include, but are not limited to, potato starch, corn starch, tapioca starch, sodium starch glycolate, clays, alginic acid, guar gum, citrus pulp, agar, bentonite, cellulose and wood products, natural sponge, cation-exchange resins, calcium carbonate, silicates, sodium carbonate, cross-linked poly(vinyl-pyrrolidone) (crospovidone), sodium carboxymethyl starch (sodium starch glycolate), carboxymethyl cellulose, cross-linked sodium carboxymethyl cellulose (croscarmellose), methylcellulose, pregelatinized starch (starch 1500), microcrystalline starch, water insoluble starch, calcium carboxymethyl cellulose, magnesium aluminum silicate (VEEGUM[®]), sodium lauryl sulfate, quaternary ammonium compounds, *etc.*, and/or combinations thereof.

[00183] Exemplary surface active agents and/or emulsifiers include, but are not limited to, natural emulsifiers (*e.g.*, acacia, agar, alginic acid, sodium alginate, tragacanth, chondrux, cholesterol, xanthan, pectin, gelatin, egg yolk, casein, wool fat, cholesterol, wax, and lecithin), colloidal clays (*e.g.*, bentonite [aluminum silicate] and VEEGUM[®] [magnesium aluminum silicate]), long chain amino acid derivatives, high molecular weight alcohols (*e.g.*, stearyl alcohol, cetyl alcohol, oleyl alcohol, triacetin monostearate, ethylene glycol distearate, glyceryl

monostearate, and propylene glycol monostearate, polyvinyl alcohol), carbomers (*e.g.*, carboxy polymethylene, polyacrylic acid, acrylic acid polymer, and carboxyvinyl polymer), carrageenan, cellulosic derivatives (*e.g.*, carboxymethylcellulose sodium, powdered cellulose, hydroxymethyl cellulose, hydroxypropyl cellulose, hydroxypropyl methylcellulose, methylcellulose), sorbitan fatty acid esters (*e.g.*, polyoxyethylene sorbitan monolaurate [TWEEN[®]20], polyoxyethylene sorbitan [TWEEN[®]60], polyoxyethylene sorbitan monooleate [TWEEN[®]80], sorbitan monopalmitate [SPAN[®]40], sorbitan monostearate [SPAN[®]60], sorbitan tristearate [SPAN[®]65], glyceryl monooleate, sorbitan monooleate [SPAN[®]80]), polyoxyethylene esters (*e.g.*, polyoxyethylene monostearate [MYRJ[®]45], polyoxyethylene hydrogenated castor oil, polyethoxylated castor oil, polyoxymethylene stearate, and SOLUTOL[®]), sucrose fatty acid esters, polyethylene glycol fatty acid esters (*e.g.*, CREMOPHOR[®]), polyoxyethylene ethers, (*e.g.*, polyoxyethylene lauryl ether [BRIJ[®]30]), poly(vinyl-pyrrolidone), diethylene glycol monolaurate, triethanolamine oleate, sodium oleate, potassium oleate, ethyl oleate, oleic acid, ethyl laurate, sodium lauryl sulfate, PLURONIC[®]F 68, POLOXAMER[®]188, cetyltrimonium bromide, cetylpyridinium chloride, benzalkonium chloride, docusate sodium, *etc.* and/or combinations thereof.

[00184] Exemplary binding agents include, but are not limited to, starch (*e.g.*, cornstarch, starch paste, *etc.*); gelatin; sugars (*e.g.*, sucrose, glucose, dextrose, dextrin, molasses, lactose, lactitol, mannitol, *etc.*); natural and synthetic gums (*e.g.*, acacia, sodium alginate, extract of Irish moss, panwar gum, ghatti gum, mucilage of isapol husks, carboxymethylcellulose, methylcellulose, ethylcellulose, hydroxyethylcellulose, hydroxypropyl cellulose, hydroxypropyl methylcellulose, microcrystalline cellulose, cellulose acetate, poly(vinyl-pyrrolidone), magnesium aluminum silicate [VEEGUM[®]], larch arabogalactan, *etc.*); alginates; polyethylene oxide; polyethylene glycol; inorganic calcium salts; silicic acid; polymethacrylates; waxes; water; alcohol; *etc.*; and combinations thereof.

[00185] Exemplary preservatives may include, but are not limited to, antioxidants, chelating agents, antimicrobial preservatives, antifungal preservatives, alcohol preservatives, acidic preservatives, and/or other preservatives. Exemplary antioxidants include, but are not limited to, alpha tocopherol, ascorbic acid, ascorbyl palmitate, butylated hydroxyanisole, butylated hydroxytoluene, monothioglycerol, potassium metabisulfite, propionic acid, propyl gallate, sodium ascorbate, sodium bisulfite, sodium metabisulfite, and/or sodium sulfite. Exemplary

chelating agents include ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), citric acid monohydrate, disodium edetate, dipotassium edetate, edetic acid, fumaric acid, malic acid, phosphoric acid, sodium edetate, tartaric acid, and/or trisodium edetate. Exemplary antimicrobial preservatives include, but are not limited to, benzalkonium chloride, benzethonium chloride, benzyl alcohol, bronopol, cetrimide, cetylpyridinium chloride, chlorhexidine, chlorobutanol, chlorocresol, chloroxylonol, cresol, ethyl alcohol, glycerin, hexetidine, imidurea, phenol, phenoxyethanol, phenylethyl alcohol, phenylmercuric nitrate, propylene glycol, and/or thimerosal. Exemplary antifungal preservatives include, but are not limited to, butyl paraben, methyl paraben, ethyl paraben, propyl paraben, benzoic acid, hydroxybenzoic acid, potassium benzoate, potassium sorbate, sodium benzoate, sodium propionate, and/or sorbic acid. Exemplary alcohol preservatives include, but are not limited to, ethanol, polyethylene glycol, phenol, phenolic compounds, bisphenol, chlorobutanol, hydroxybenzoate, and/or phenylethyl alcohol. Exemplary acidic preservatives include, but are not limited to, vitamin A, vitamin C, vitamin E, beta-carotene, citric acid, acetic acid, dehydroacetic acid, ascorbic acid, sorbic acid, and/or phytic acid. Other preservatives include, but are not limited to, tocopherol, tocopherol acetate, deteroxime mesylate, cetrimide, butylated hydroxyanisole (BHA), butylated hydroxytoluene (BHT), ethylenediamine, sodium lauryl sulfate (SLS), sodium lauryl ether sulfate (SLES), sodium bisulfite, sodium metabisulfite, potassium sulfite, potassium metabisulfite, GLYDANT PLUS®, PHENONIP®, methylparaben, GERMALL® 115, GERMABEN® II, NEOLONE™, KATHON™, and/or EUXYL®.

[00186] Exemplary buffering agents include, but are not limited to, citrate buffer solutions, acetate buffer solutions, phosphate buffer solutions, ammonium chloride, calcium carbonate, calcium chloride, calcium citrate, calcium gluconate, calcium gluceptate, calcium gluconate, D-gluconic acid, calcium glycerophosphate, calcium lactate, propanoic acid, calcium levulinate, pentanoic acid, dibasic calcium phosphate, phosphoric acid, tribasic calcium phosphate, calcium hydroxide phosphate, potassium acetate, potassium chloride, potassium gluconate, potassium mixtures, dibasic potassium phosphate, monobasic potassium phosphate, potassium phosphate mixtures, sodium acetate, sodium bicarbonate, sodium chloride, sodium citrate, sodium lactate, dibasic sodium phosphate, monobasic sodium phosphate, sodium phosphate mixtures, tromethamine, magnesium hydroxide, aluminum hydroxide, alginic acid, pyrogen-free water, isotonic saline, Ringer's solution, ethyl alcohol, *etc.*, and/or combinations thereof.

[00187] Exemplary lubricating agents include, but are not limited to, magnesium stearate, calcium stearate, stearic acid, silica, talc, malt, glyceryl behenate, hydrogenated vegetable oils, polyethylene glycol, sodium benzoate, sodium acetate, sodium chloride, leucine, magnesium lauryl sulfate, sodium lauryl sulfate, *etc.*, and combinations thereof.

[00188] Exemplary oils include, but are not limited to, almond, apricot kernel, avocado, babassu, bergamot, black current seed, borage, cade, camomile, canola, caraway, carnauba, castor, cinnamon, cocoa butter, coconut, cod liver, coffee, corn, cotton seed, emu, eucalyptus, evening primrose, fish, flaxseed, geraniol, gourd, grape seed, hazel nut, hyssop, isopropyl myristate, jojoba, kukui nut, lavandin, lavender, lemon, litsea cubeba, macademia nut, mallow, mango seed, meadowfoam seed, mink, nutmeg, olive, orange, orange roughly, palm, palm kernel, peach kernel, peanut, poppy seed, pumpkin seed, rapeseed, rice bran, rosemary, safflower, sandalwood, sasquana, savoury, sea buckthorn, sesame, shea butter, silicone, soybean, sunflower, tea tree, thistle, tsubaki, vetiver, walnut, and wheat germ oils. Exemplary oils include, but are not limited to, butyl stearate, caprylic triglyceride, capric triglyceride, cyclomethicone, diethyl sebacate, dimethicone 360, isopropyl myristate, mineral oil, octyldodecanol, oleyl alcohol, silicone oil, and/or combinations thereof.

[00189] Liquid dosage forms for oral and parenteral administration include, but are not limited to, pharmaceutically acceptable emulsions, microemulsions, solutions, suspensions, syrups, and/or elixirs. In addition to active ingredients, liquid dosage forms may comprise inert diluents commonly used in the art such as, for example, water or other solvents, solubilizing agents and emulsifiers such as ethyl alcohol, isopropyl alcohol, ethyl carbonate, ethyl acetate, benzyl alcohol, benzyl benzoate, propylene glycol, 1,3-butylene glycol, dimethylformamide, oils (in particular, cottonseed, groundnut, corn, germ, olive, castor, and sesame oils), glycerol, tetrahydrofurfuryl alcohol, polyethylene glycols and fatty acid esters of sorbitan, and mixtures thereof. Besides inert diluents, oral compositions can include adjuvants such as wetting agents, emulsifying and suspending agents, sweetening, flavoring, and/or perfuming agents. In certain embodiments for parenteral administration, compositions are mixed with solubilizing agents such as CREMOPHOR[®], alcohols, oils, modified oils, glycols, polysorbates, cyclodextrins, polymers, and/or combinations thereof.

[00190] Injectable preparations, for example, sterile injectable aqueous or oleaginous suspensions may be formulated according to the known art using suitable dispersing agents,

wetting agents, and/or suspending agents. Sterile injectable preparations may be sterile injectable solutions, suspensions, and/or emulsions in nontoxic parenterally acceptable diluents and/or solvents, for example, as a solution in 1,3-butanediol. Among the acceptable vehicles and solvents that may be employed are water, Ringer's solution, U.S.P., and isotonic sodium chloride solution. Sterile, fixed oils are conventionally employed as a solvent or suspending medium. For this purpose any bland fixed oil can be employed including synthetic mono- or diglycerides. Fatty acids such as oleic acid can be used in the preparation of injectables.

[00191] Injectable formulations can be sterilized, for example, by filtration through a bacterial-retaining filter, and/or by incorporating sterilizing agents in the form of sterile solid compositions which can be dissolved or dispersed in sterile water or other sterile injectable medium prior to use.

[00192] In order to prolong the effect of an active ingredient, it is often desirable to slow the absorption of the active ingredient from subcutaneous or intramuscular injection. This may be accomplished by the use of a liquid suspension of crystalline or amorphous material with poor water solubility. The rate of absorption of the drug then depends upon its rate of dissolution which, in turn, may depend upon crystal size and crystalline form. Alternatively, delayed absorption of a parenterally administered drug form is accomplished by dissolving or suspending the drug in an oil vehicle. Injectable depot forms are made by forming microencapsule matrices of the drug in biodegradable polymers such as polylactide-polyglycolide. Depending upon the ratio of drug to polymer and the nature of the particular polymer employed, the rate of drug release can be controlled. Examples of other biodegradable polymers include poly(orthoesters) and poly(anhydrides). Depot injectable formulations are prepared by entrapping the drug in liposomes or microemulsions which are compatible with body tissues.

[00193] Compositions for rectal or vaginal administration are typically suppositories which can be prepared by mixing compositions with suitable non-irritating excipients such as cocoa butter, polyethylene glycol or a suppository wax which are solid at ambient temperature but liquid at body temperature and therefore melt in the rectum or vaginal cavity and release the active ingredient.

[00194] Solid dosage forms for oral administration include capsules, tablets, pills, powders, and granules. In such solid dosage forms, the active ingredient is mixed with at least one inert, pharmaceutically acceptable excipient such as sodium citrate or dicalcium phosphate and/or

fillers or extenders (*e.g.*, starches, lactose, sucrose, glucose, mannitol, and silicic acid), binders (*e.g.*, carboxymethylcellulose, alginates, gelatin, polyvinylpyrrolidinone, sucrose, and acacia), humectants (*e.g.*, glycerol), disintegrating agents (*e.g.*, agar, calcium carbonate, potato starch, tapioca starch, alginic acid, certain silicates, and sodium carbonate), solution retarding agents (*e.g.*, paraffin), absorption accelerators (*e.g.*, quaternary ammonium compounds), wetting agents (*e.g.*, cetyl alcohol and glycerol monostearate), absorbents (*e.g.*, kaolin and bentonite clay), and lubricants (*e.g.*, talc, calcium stearate, magnesium stearate, solid polyethylene glycols, sodium lauryl sulfate), and mixtures thereof. In the case of capsules, tablets and pills, the dosage form may comprise buffering agents.

[00195] Solid compositions of a similar type may be employed as fillers in soft and hard-filled gelatin capsules using such excipients as lactose or milk sugar as well as high molecular weight polyethylene glycols and the like. The solid dosage forms of tablets, dragees, capsules, pills, and granules can be prepared with coatings and shells such as enteric coatings and other coatings well known in the pharmaceutical formulating art. They may optionally comprise opacifying agents and can be of a composition that they release the active ingredient(s) only, or preferentially, in a certain part of the intestinal tract, optionally, in a delayed manner. Examples of embedding compositions which can be used include polymeric substances and waxes. Solid compositions of a similar type may be employed as fillers in soft and hard-filled gelatin capsules using such excipients as lactose or milk sugar as well as high molecular weight polyethylene glycols and the like.

[00196] Dosage forms for topical and/or transdermal administration of a compound in accordance with this invention may include ointments, pastes, creams, lotions, gels, powders, solutions, sprays, inhalants and/or patches. Generally, the active ingredient is admixed under sterile conditions with a pharmaceutically acceptable excipient and/or any needed preservatives and/or buffers as may be required. Additionally, the present invention contemplates the use of transdermal patches, which often have the added advantage of providing controlled delivery of a compound to the body. Such dosage forms may be prepared, for example, by dissolving and/or dispensing the compound in the proper medium. Alternatively or additionally, the rate may be controlled by either providing a rate controlling membrane and/or by dispersing the compound in a polymer matrix and/or gel.

[00197] Suitable devices for use in delivering intradermal pharmaceutical compositions described herein include short needle devices such as those described in U.S. Patents 4,886,499; 5,190,521; 5,328,483; 5,527,288; 4,270,537; 5,015,235; 5,141,496; and 5,417,662. Intradermal compositions may be administered by devices which limit the effective penetration length of a needle into the skin, such as those described in PCT publication WO 99/34850 and functional equivalents thereof. Jet injection devices which deliver liquid vaccines to the dermis via a liquid jet injector and/or via a needle which pierces the stratum corneum and produces a jet which reaches the dermis are suitable. Jet injection devices are described, for example, in U.S. Patents 5,480,381; 5,599,302; 5,334,144; 5,993,412; 5,649,912; 5,569,189; 5,704,911; 5,383,851; 5,893,397; 5,466,220; 5,339,163; 5,312,335; 5,503,627; 5,064,413; 5,520,639; 4,596,556; 4,790,824; 4,941,880; 4,940,460; and PCT publications WO 97/37705 and WO 97/13537. Ballistic powder/particle delivery devices which use compressed gas to accelerate vaccine in powder form through the outer layers of the skin to the dermis are suitable. Alternatively or additionally, conventional syringes may be used in the classical mantoux method of intradermal administration.

[00198] Formulations suitable for topical administration include, but are not limited to, liquid and/or semi liquid preparations such as liniments, lotions, oil in water and/or water in oil emulsions such as creams, ointments and/or pastes, and/or solutions and/or suspensions. Topically administrable formulations may, for example, comprise from about 1% to about 10% (w/w) active ingredient, although the concentration of the active ingredient may be as high as the solubility limit of the active ingredient in the solvent. Formulations for topical administration may further comprise one or more of the additional ingredients described herein.

[00199] A pharmaceutical composition in accordance with the invention may be prepared, packaged, and/or sold in a formulation suitable for pulmonary administration via the buccal cavity. Such a formulation may comprise dry particles which comprise the active ingredient and which have a diameter in the range from about 0.5 nm to about 7 nm or from about 1 nm to about 6 nm. Such compositions are conveniently in the form of dry powders for administration using a device comprising a dry powder reservoir to which a stream of propellant may be directed to disperse the powder and/or using a self propelling solvent/powder dispensing container such as a device comprising the active ingredient dissolved and/or suspended in a low-boiling propellant in a sealed container. Such powders comprise particles wherein at least 98% of the particles by

weight have a diameter greater than 0.5 nm and at least 95% of the particles by number have a diameter less than 7 nm. Alternatively, at least 95% of the particles by weight have a diameter greater than 1 nm and at least 90% of the particles by number have a diameter less than 6 nm. Dry powder compositions may include a solid fine powder diluent such as sugar and are conveniently provided in a unit dose form.

[00200] Low boiling propellants generally include liquid propellants having a boiling point of below 65 °F at atmospheric pressure. Generally the propellant may constitute 50% to 99.9% (w/w) of the composition, and the active ingredient may constitute 0.1% to 20% (w/w) of the composition. The propellant may further comprise additional ingredients such as a liquid non-ionic and/or solid anionic surfactant and/or a solid diluent (which may have a particle size of the same order as particles comprising the active ingredient).

[00201] Pharmaceutical compositions in accordance with the invention formulated for pulmonary delivery may provide the active ingredient in the form of droplets of a solution and/or suspension. Such formulations may be prepared, packaged, and/or sold as aqueous and/or dilute alcoholic solutions and/or suspensions, optionally sterile, comprising the active ingredient, and may conveniently be administered using any nebulization and/or atomization device. Such formulations may further comprise one or more additional ingredients including, but not limited to, a flavoring agent such as saccharin sodium, a volatile oil, a buffering agent, a surface-active agent, and/or a preservative such as methylhydroxybenzoate. The droplets provided by this route of administration may have an average diameter in the range from about 0.1 nm to about 200 nm.

[00202] Formulations described herein as being useful for pulmonary delivery are useful for intranasal delivery of a pharmaceutical composition. Another formulation suitable for intranasal administration is a coarse powder comprising the active ingredient and having an average particle from about 0.2 μm to 500 μm . Such a formulation is administered in the manner in which snuff is taken, *i.e.*, by rapid inhalation through the nasal passage from a container of the powder held close to the nose.

[00203] Formulations suitable for nasal administration may, for example, comprise from about as little as 0.1% (w/w) and as much as 100% (w/w) of the active ingredient, and may comprise one or more of the additional ingredients described herein. A pharmaceutical composition in accordance with the invention may be prepared, packaged, and/or sold in a formulation suitable for buccal administration. Such formulations may, for example, be in the form of tablets and/or

lozenges made using conventional methods, and may, for example, 0.1% to 20% (w/w) active ingredient, the balance comprising an orally dissolvable and/or degradable composition and, optionally, one or more of the additional ingredients described herein. Alternately, formulations suitable for buccal administration may comprise a powder and/or an aerosolized and/or atomized solution and/or suspension comprising the active ingredient. Such powdered, aerosolized, and/or aerosolized formulations, when dispersed, may have an average particle and/or droplet size in the range from about 0.1 nm to about 200 nm, and may further comprise one or more of the additional ingredients described herein.

[00204] A pharmaceutical composition in accordance with the invention may be prepared, packaged, and/or sold in a formulation suitable for ophthalmic administration. Such formulations may, for example, be in the form of eye drops including, for example, a 0.1/1.0% (w/w) solution and/or suspension of the active ingredient in an aqueous or oily liquid excipient. Such drops may further comprise buffering agents, salts, and/or one or more other of the additional ingredients described herein. Other ophthalmically-administrable formulations which are useful include those which comprise the active ingredient in microcrystalline form and/or in a liposomal preparation. Ear drops and/or eye drops are contemplated as being within the scope of this invention.

[00205] General considerations in the formulation and/or manufacture of pharmaceutical agents may be found, for example, in *Remington: The Science and Practice of Pharmacy* 21st ed., Lippincott Williams & Wilkins, 2005.

Kits

[00206] The invention provides a variety of kits for conveniently and/or effectively carrying out methods in accordance with the present invention. Kits typically comprise one or more HCV antibodies in accordance with the invention (e.g., HC-1, HC-3, HC-11, and CBH-23). In some embodiments, kits comprise a collection of different HCV antibodies to be used for different purposes (e.g., diagnostics, treatment, and/or prophylaxis). Typically kits will comprise sufficient amounts of HCV antibodies to allow a user to perform multiple administrations to a subject(s) and/or to perform multiple experiments. In some embodiments, kits are supplied with or include one or more HCV antibodies that have been specified by the purchaser.

[00207] In certain embodiments, kits for use in accordance with the present invention may include one or more reference samples; instructions (*e.g.*, for processing samples, for performing tests, for interpreting results, for solubilizing HCV antibodies, for storage of HCV antibodies, *etc.*); buffers; and/or other reagents necessary for performing tests. In certain embodiments kits can comprise panels of antibodies. Other components of kits may include cells, cell culture media, tissue, and/or tissue culture media.

[00208] Kits may comprise instructions for use. For example, instructions may inform the user of the proper procedure by which to prepare a pharmaceutical composition comprising HCV antibodies and/or the proper procedure for administering pharmaceutical compositions to a subject.

[00209] In some embodiments, kits include a number of unit dosages of a pharmaceutical composition comprising HCV antibodies. A memory aid may be provided, for example in the form of numbers, letters, and/or other markings and/or with a calendar insert, designating the days/times in the treatment schedule in which dosages can be administered. Placebo dosages, and/or calcium dietary supplements, either in a form similar to or distinct from the dosages of the pharmaceutical compositions, may be included to provide a kit in which a dosage is taken every day.

[00210] Kits may comprise one or more vessels or containers so that certain of the individual components or reagents may be separately housed. Kits may comprise a means for enclosing the individual containers in relatively close confinement for commercial sale, *e.g.*, a plastic box, in which instructions, packaging materials such as styrofoam, *etc.*, may be enclosed.

[00211] In some embodiments, kits are used in the treatment, diagnosis, and/or prophylaxis of a subject suffering from and/or susceptible to HCV. In some embodiments, such kits comprise (i) at least one HCV antibody; (ii) a syringe, needle, applicator, *etc.* for administration of the at least one HCV antibody to a subject; and (iii) instructions for use.

[00212] In some embodiments, kits are used in the treatment, diagnosis, and/or prophylaxis of a subject suffering from and/or susceptible to HCV. In some embodiments, such kits comprise (i) at least one HCV antibody provided as a lyophilized powder; and (ii) a diluent for reconstituting the lyophilized powder. Such kits may optionally comprise a syringe, needle, applicator, *etc.* for administration of the at least one HCV antibody to a subject; and/or instructions for use.

[00213] The present invention provides kits containing reagents for the generation of vaccines comprising at least one HCV antibody. In some embodiments, such kits may include cells expressing HCV antibodies, characteristic portions thereof, and/or biologically active portions thereof; (ii) media for growing the cells; and (iii) columns, resin, buffers, tubes, and other tools useful for antibody purification. In some embodiments, such kits may include (i) plasmids containing nucleotides encoding HCV antibodies, characteristic portions thereof, and/or biologically active portions thereof; (ii) cells capable of being transformed with the plasmids, such as mammalian cell lines, including but not limited to, Vero and MDCK cell lines; (iii) media for growing the cells; (iv) expression plasmids containing no nucleotides encoding HCV antibodies as negative controls; (v) columns, resin, buffers, tubes, and other tools useful for antibody purification; and (vi) instructions for use.

[00214] In some embodiments, kits are used to detect the presence of HCV in one or more samples. Such samples may be pathological samples, including, but not limited to, blood, serum/plasma, peripheral blood mononuclear cells/peripheral blood lymphocytes (PBMC/PBL), sputum, urine, feces, throat swabs, dermal lesion swabs, cerebrospinal fluids, cervical smears, pus samples, food matrices, and tissues from various parts of the body such as brain, spleen, and liver. Such samples may be environmental samples, including, but not limited to, soil, water, and flora. Other samples that have not been listed may also be applicable. In some embodiments, such kits comprise (i) at least one HCV antibody; (ii) a sample known to contain HCV, as a positive control; and (iii) a sample known not to contain HCV, as a negative control; and (iv) instructions for use.

[00215] In some embodiments, kits are used to neutralize HCV in one or more samples. Such kits may provide materials needed to treat an HCV-containing sample with at least one HCV antibody and to test the ability of the treated sample to infect cultured cells relative to untreated sample. Such kits may include (i) at least one HCV antibody; (ii) cells capable of being cultured and infected with HCV; (iii) an antibody that is incapable of binding to and neutralizing HCV, as a negative control; (iv) an antibody that is capable of binding to and neutralizing HCV, as a positive control; (v) a sample known not to contain HCV, as a negative control; (vi) a sample known to contain HCV, as a positive control; and (vii) instructions for use.

[00216] These and other aspects of the present invention will be further appreciated upon consideration of the following Examples, which are intended to illustrate certain particular embodiments of the invention but are not intended to limit its scope, as defined by the claims.

Examples

Example 1: Definition of a Conserved Immunodominant Domain on HCV E2 Glycoprotein by Neutralizing Human Monoclonal Antibodies

Materials and Methods

Cells and culture conditions

[00217] 293T and CHO-K1 cells were obtained from ATCC. Huh7 cells were obtained from Dr. Michael Lai (University of Southern California) and Huh7.5 cells were obtained from Dr. Charles Rice (Rockefeller University). Cells were grown in Dulbecco's modified minimal essential medium (DMEM, Invitrogen, Carlsbad, CA) supplemented with 10% fetal calf serum (FCS, Sigma-Aldrich Co. St. Louis, MO) and 2 mM glutamine. CHO-K1 cells were grown in F-12 Kaighn's medium (Invitrogen 21127-022) containing L-glutamine and supplemented with 10% FCS.

Viruses and virus models

[00218] Production and purification of HCVpp (genotype 1a) have been previously described (Bartosch *et al.*, 2003, *J. Exp. Med.*, 197:633-42; and Keck *et al.*, 2005, *J. Virol.*, 79:13199-208; both of which are incorporated herein by reference). Briefly, 293T cells were transfected with HCVpp plasmids using the calcium-phosphate method. After 48 hours of growth, cell-free supernatant was collected by filtration using a 0.45 μ m pore-size filter.

[00219] For production of infectious genotype 2a JFH-1 virus, HCVcc (Wakita *et al.*, 2005, *Nat. Med.*, 11:791-96; incorporated herein by reference), XbaI linearized pJFH-1 plasmid was *in vitro* transcribed (MEGAscript; Ambion, Austin, TX) and electroporated into Huh7.5 cells. Briefly, 10 μ g of *in vitro* transcribed JFH-1 RNA was mixed with 0.4×10^6 Huh7.5 cells in a 4-mm cuvette in calcium-free PBS containing 10 μ g calf liver tRNA and pulsed at 0.27 kV and 960 μ F using a Bio-Rad Gene Pulser system. Electroporated cells were seeded into 10 cm cell culture dishes with 10 ml complete DMEM containing 10 % FCS. Expression of HCV E2 was confirmed by indirect immunofluorescent assay (IFA) at each passage of the cells. For JFH-1 virus production, transfected cells were passaged at 4- to 5-day intervals with a 1:4 to 1:5 split

into fresh culture flasks. Virus harvests placed in small aliquots were stored at -80 °C.

Production of 1a HJ3-5 HCVcc has been described previously (Yi *et al.*, 2006, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 103:2310-15; and Yi *et al.*, 2007, *J. Virol.*, 81:629-38; both of which are incorporated herein by reference).

Antibodies and reagents

[00220] CBH-4G, an antibody to HCV E2 has been previously described (Hadlock *et al.*, 2000, *J. Virol.*, 74:10407; and Keck *et al.*, 2005, *J. Virol.*, 79:13199; both of which are incorporated herein by reference). Murine MAb to *c-myc* was purchased from Santa Cruz Biotechnology (Santa Cruz, CA). CD81 LEL was obtained from Dr. Shoshana Levy (Stanford University). FITC-conjugated goat anti-human IgG, Fc γ fragment specific and R-phycoerythrin-conjugated F(ab')₂ fragment goat anti-mouse IgG (H+L) were obtained from Jackson Immuno Research (West Grove, PA). Alkaline phosphatase conjugated goat anti-human IgG (H+L) and alkaline phosphatase conjugated goat anti-mouse IgG (H+L) were purchased from Promega (Madison, WI). *Galanthus nivalis* lectin (GNA) and *p*-nitrophenyl phosphate disodium hexa-hydrate (phosphatase substrate) were purchased from Sigma (St. Louis, MO).

Monoclonal antibody production and purification

[00221] Generation of new HCV antibodies from peripheral blood B cells was performed essentially as described in Hadlock *et al.* (2000, *J. Virol.*, 74:10407; incorporated herein by reference). Specific HCV antibodies were selected by indirect immunofluorescent assay (IFA) using a subtype 1a or 1b HCVpp infected cell lysates as the target antigen (GenBank accession no AF348705). Monoclonality was achieved by limiting dilution cloning and confirmed by DNA sequencing (Sequetech, Mountain View, CA) of the IgG genes. Cloning and analyzing the V_H and V_H domains of the IgG genes were performed as previously described (Keck *et al.*, 2004, *J. Virol.*, 78:7257; incorporated herein by reference). HCV antibody production and purification were performed essentially as described in Hadlock *et al.* (2000, *J. Virol.*, 74:10407; incorporated herein by reference) and biotinylation of the antibodies was carried out according to the manufacturer's instructions (Pierce Biotechnology, Inc, Rockford, IL).

IgG subclass typing

[00222] IgG subclass typing was conducted using the Human IgG Subclass SD Combi BINDARDID Kit (The Binding Site Inc., San Diego, CA) in accordance with the manufacturer's protocol.

Indirect immunofluorescent assay

[00223] 293T cells were transfected with the constructs bearing E1E2 sequences of genotypes 1 to 6, 40-48 hours post-transfection cells were fixed onto HTC Super Cured 24-spot slides (Cell-Line Associates, Newfield, N.J.) with 100% acetone for 10 minutes at room temperature. Fixed cells were incubated with antibodies as indicated for 30 minutes at 37 °C and washed for 5 minutes with PBS, pH 7.4. Slides were then incubated for 30 minutes at 37 °C with a 0.001% solution of Evan's blue counterstain and fluorescein isothiocyanate (FITC)-conjugated goat anti-human IgG (Jackson ImmunoResearch Laboratories, West Grove, PA). Bound antibody to fixed cells was revealed by fluorescence microscopy as described (Hadlock *et al.*, 1997, *J. Virol.*, 71:5828-40; incorporated herein by reference).

Antibody sequencing

[00224] Human monoclonal antibodies V_L and V_H domain CDR sequences was performed as described (Keck *et al.*, 2004, *J. Virol.*, 78:7257-63; incorporated herein by reference). Essentially, the entire variable regions of heavy and light chain from H-111 were sequenced to identify the FRs and CDRs, the germline V gene counterparts, and to determine the maturational status of the V domains. V_L and V_H domains of HC-1, HC-3, HC-11 and CBH-23 were amplified by RT-PCR from total cellular RNA isolated from the corresponding hybridoma cells (the RNeasy mini kit, Qiagen, Valencia, CA) using 5' family-specific V leader primers and 3' J region primers, as described previously (Campbell *et al.*, 1992, *Mol. Immunol.*, 29:193-203; and Chan *et al.*, 2001, *Blood*, 97:1023-26; both of which are incorporated herein by reference). Sequences were analyzed using Vector NTI (Invitrogen, San Diego, CA) and aligned with germline sequences using V-QUEST and VBASE database (Cook and Tomlinson, 1995, *Immuno. Today*, 16:237-42; incorporated herein by reference).

Competition assay

[00225] Antibody cross-competition studies were performed as previously described (Keck *et al.*, 2004, *J. Virol.*, 78:9224; incorporated herein by reference). Briefly, 1b HCVpp cell lysate was captured onto 96-well plates coated with GNA in PBS for 1 hour at 37 °C. After washing and blocking, competing antibodies at 20 µg/ml were added to each well and incubated for 30 minutes at room temperature, followed by adding the biotinylated test antibody at 2 µg/ml. After 1.5 hour incubation at room temperature, test antibody was detected using alkaline phosphatase-conjugated streptavidin (R & D Systems, Minneapolis, MN), followed by incubation of *p*-

nitrophenyl phosphate for color development. Absorbance was measured with a multiwell plate reader (Molecular Devices, Sunnyvale, CA) at 405 nm and subtracting the background reading at 570 nm. Mean OD values, as measured with biotinylated test HCV antibody to E2 in the presence of competing antibody, were divided by signals measured from biotinylated test HCV antibodies to E2 without competing antibody followed by multiplying by 100 to obtain the percent of test antibody bound to E2. Relatedness of the new HCV antibodies to other antibodies was determined by a modified approach of unweighted pair-group method using arithmetic averages, as previously described (Keck *et al.*, 2004, *J. Virol.*, 78:9224; incorporated herein by reference). This method assumes the extent of bidirectional inhibition as the extent of epitope overlap by the competing antibodies. Unidirectional inhibition or enhancement is interpreted as proximal but not overlapping epitopes.

Immunoprecipitation

[00226] 293T cells producing 1b HCVpp were lysed with a buffer containing 10 mM Tris-HCl, pH 7.5, 150 mM NaCl, 1% NP-40, 20 mM α -Iodoacetamide, and protease inhibitors. This was used as the source of antigen, and approximately 225 ng/ml E2 was used per immunoprecipitation. 2 μ g/ml HCV antibodies was incubated with antigen for 1.5 hours at 4 °C, followed by incubation with immobilized protein A (Pierce, Rockford, IL) for an additional 1.5 hours at 4 °C. Between each step, beads were washed once with IP lysis buffer. After the last step, they were washed 3 times with IP lysis buffer and once with distilled water. Precipitates were heated at 70 °C for 5 minutes in SDS-PAGE sample buffer, run on a 10% SDS-polyacrylamide gel, and transferred to a nitrocellulose membrane. The membrane was immunoblotted with murine MA b AP33 (Owsianka *et al.*, 2005, *J. Virol.*, 79:11095; incorporated herein by reference), followed by incubation with HRP-conjugated secondary antibody (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA) and detection using ECL Plus Western blotting detection system from GE Healthcare.

Antibody affinity measurement

[00227] Antibody affinity measurements were performed with 1a HCVpp cell lysate containing 1 μ g/ml E2 glycoproteins. Microtiter plates were prepared by coating each well with 500 ng of GNA followed by blocking of the wells with BLOTTO consisting of 2.5% non-fat dry milk and 2.5% normal goat serum in TBST (20 mM Tris-HCl, pH 7.5, 150 mM NaCl, 0.1% Tween-20). After blocking, E2 in cell lysate was captured by GNA on plate and later bound by a

range of 0.01 µg/ml – 200 µg/ml of HCV antibodies. Bound HCV antibodies were incubated with alkaline phosphatase-conjugated goat anti-human IgG (Promega, Madison, WI), followed by incubation of *p*-nitrophenyl phosphate for color development. Absorbance was measured at 405 nm and 570 nm. Data were analyzed by nonlinear regression to measure antibody disassociation constant, K_d , and maximum binding, B_{max} (OD), using Prism software (GraphPad).

HCV RNA transfection and virus production

[00228] *Xba*I linearized pJFH-1 plasmid was *in vitro* transcribed (MEGAscript; Ambion, Austin, TX) and electroporated into Huh7.5 cells. Briefly, 10 µg of *in vitro* transcribed JFH-1 RNA was mixed with 0.4×10^6 Huh7.5 cells in a 4-mm cuvette in calcium-free PBS containing 10 µg calf liver tRNA and pulsed at 0.27 kV and at 960 µF using Bio-Rad Gene Pulser system. Electroporated cells were seeded into 10 cm cell culture dishes with 10 ml complete DMEM containing 10% FCS. Expression of HCV E2 was confirmed by IFA at each passage of the cells. For JFH-1 virus production, transfected cells were passaged at 4- to 5-day intervals with a 1:4 to 1:5 split into fresh culture flasks. Pooled medium virus titer was measured as foci forming units (FFU) as described below, placed in small aliquots and kept at -80 °C.

[00229] A second infectious HCV virus is an inter-genotypic chimeric virus produced by replacing the core-NS2 segment of the JFH-1 virus genome with the comparable segment of the subtype 1a H77 virus (Yi *et al.*, 2007, *J. Virol.*, 81:629; incorporated herein by reference). This chimeric virus, H-[NS2/NS3]-J/Y361H/Q1251L (hereinafter referred to as “HJ3-5,” contains two compensatory mutations that promote its growth in cell culture, one of which is within the E1 sequence (polyprotein residue 361) as shown (Yi *et al.*, 2007, *J. Virol.*, 81:629; incorporated herein by reference). Virus stocks were produced in FT3-7 cells (Blight *et al.*, 2002, *J. Virol.*, 76:13001; incorporated herein by reference).

HCVpp neutralization assay

[00230] Neutralization of HCVpp was performed as described previously (Keck *et al.*, 2007, *J. Virol.*, 81:1043-47; and Keck *et al.*, 2005, *J. Virol.*, 79:13199-208; both of which are incorporated herein by reference). Briefly, Huh-7 cells were seeded at 8×10^3 cells per well in a white nontransparent 96 well plate 24 hours before infection. The infection medium was incubated with various concentrations of antibodies for 60 minutes at 37 °C before adding to Huh-7 cells using PBS as a no antibody control. After 15 hours of incubation, HCVpp medium

was replaced with fresh complete medium and incubated for an additional 72 hours. Antibody neutralization activity was determined by the percent reduction of luciferase activity compared with the infection medium containing PBS.

HCVcc infectivity assay

[00231] Neutralization of HCVcc was assessed by NS3 expression reduction in infected cells as monitored by immunoblotting. 350 µl aliquot of 2a JFH-1 virus (10^5 FFU/ml) or 1a HJ3-5 HCVcc infected cells culture supernatants were incubated with antibodies at 20 µg/ml for 1 hour at 37 °C prior to inoculation onto naïve Huh 7.5 cells seeded 24 hours previously into 24-well plates at cell density of 32,000 per well. At 3 hours post-infection (hpi), HCV/antibody-containing medium was removed, and cells were washed with PBS and replaced with fresh complete DMEM. Cells were harvested for Western blotting analysis at 72 hpi. Samples were heated at 70°C for 5 minutes in SDS-PAGE sample buffer and run on a 10% SDS-polyacrylamide gel and transferred to a nitrocellulose membrane. Membranes were immunoblotted with anti-NS3 antibody, followed by incubation with HRP-conjugated secondary antibody (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA) and detection using ECL Plus Western blotting detection system from GE Healthcare. Images were captured with a Bio-Rad gel doc system. Percent neutralization was compared to no antibody control. RO4 is an isotype-matched monoclonal antibody to HCMV and was used as a negative control.

Focus-forming unit (FFU) reduction assay

[00232] A 60 µl aliquot of stock HJ3-5 or JFH-1 virus (approximately 100 FFU) was mixed with an equal volume of diluted antibody and incubated at 37 °C for 1 hour prior to inoculation of 100 µl of the virus/antibody mixture onto Huh7.5 cells seeded 24 hours previously into 8-well chamber slides (Nalge Nunc Rochester, NY). Cultures were placed in a 5% CO₂ environment at 37 °C for 24 hours, fed with an additional 200 µl of media, and then re-incubated for an additional 48 hours. Supernatant fluids were removed, cells were washed once with PBS, and cells were fixed with 1:1 methanol-acetone prior to labeling with 1:300 MAb C7-50 specific for the core protein (Affinity BioReagents, Golden, CO) as described (Yi *et al.*, 2007, *J. Virol.*, 81:629; incorporated herein by reference). Following extensive washing, secondary labeling with FITC-conjugated goat anti-mouse IgG (1010-02, Southern Biotech, Birmingham, AL) at a 1:100 dilution, nuclei were counter-stained with Bisbenzimidazole H (Hoechst, Frankfurt am Main, Germany), and slides were mounted and examined under a Zeiss UV fluorescence microscope.

Foci of antigen-positive cells were counted in each individual slide, with each cluster of infected cells staining positively for core antigen considered to constitute a single infectious focus-forming unit (FFU), as described (Yi *et al.*, 2007, *J. Virol.*, 81:629; and Yi *et al.*, 2006, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 103:2310; both of which are incorporated herein by reference). Percent neutralization was calculated as the reduction in FFU compared to virus incubated with an irrelevant control antibody, RO4.

Blocking E2 binding to CD81

[00233] Genotype 1b E1E2 expressed in 293T containing 1 µg/ml E2 was incubated with each HCV antibody as indicated at 10 µg/ml for 1 hour at room temperature, and the antibody-antigen complex was then added onto CD81 pre-coated wells. Wells were washed and incubated with 5 µg/ml biotinylated CBH-4D for 1 hour. Bound CBH-4D was detected with alkaline phosphatase-conjugated streptavidin (R&D Systems; Minneapolis, MN), followed by incubation of *p*-nitrophenyl phosphate for color development. Absorbance was measured at 405 nm using plate reader Spectra Max 190 from Molecular Devices (Sunnyvale, CA). CBH-5 was used as a positive control and RO4 as a negative control.

Epitope mapping by site-directed mutagenesis

[00234] Alanine scanning mutagenesis was conducted using the QuickChange II Site-Directed Mutagenesis Kit (Stratagen, La Jolla, CA) in accordance with the protocol provided. Mutations were introduced into E2 of genotype 1a H77c strain (GenBank accession number AF009606). All mutants were sequenced (Sequetech, Mountain View, CA) to ensure that the clones possessed only the expected mutation. Mutated E2 proteins were expressed in 293T cells and analyzed by ELISA. Briefly, microtiter plates were coated with 500 ng per well of *Galanthus nivalis* lectin (GNA), followed by blocking with BLOTTO, consisting of 2.5% nonfat dry milk and 2.5% normal goat serum in TBST (20mM Tris-HCl, pH 7.5, 150 mM NaCl, 0.1% Tween-20). After blocking, transfected cell lysates diluted in BLOTTO were added to the plate. Bound mutant E2 proteins were then incubated with HC-1 or HC-11, followed by alkaline phosphatase-conjugated goat anti-human IgG. Samples were then visualized by adding *p*-nitrophenyl phosphate disodium hexa-hydrate and reading the absorbance at 405 nm. Results are shown in Figure 7. Derived values for the mutant E2 proteins were then displayed as a percent of that observed for the wt H77c E2. Mutated amino acids are depicted on the y-axis. The number in the between two substituted amino acids correspond to the position in the polyprotein of

reference strain H (GenBank accession number AF009606). HC-1 and HC-11 HCV antibodies binding to each mutant is expressed as the percent of binding value normalized by the binding of CBH-17, an antibody to a linear epitope on E2, and divided by HC antibody binding to the wild-type on the x-axis.

Binding of HCV Antibodies to E2 mutants by ELISA

[00235] ELISA was performed to measure antibody binding to the mutant E2 glycoproteins. Microtiter plates were coated with 500 ng GNA per well, followed by blocking with BLOTTO (2.5% nonfat dry milk and 2.5% normal goat serum in TBST [20 mM Tris-HCl, pH 7.5, 150 mM NaCl, 0.1% Tween-20]) for 1 hour. Wild type and mutated E2 glycoproteins expressed in 293T cell lysates were captured onto GNA coated plates. Bound E2 was detected by each antibody with the amount of E2 in each well normalized by using an anti-*c-myc* mouse MAb. Bound antibodies were incubated with alkaline phosphatase-conjugated goat anti-human IgG and followed by incubation of *p*-nitrophenyl phosphate for color development. Absorbance was measured at 405 nm and 570 nm. Derived values for the mutant E2 proteins were then displayed as a percent of that observed for the wild-type E2.

HCVpp neutralization time course

[00236] Antibody-mediated neutralization of HCVpp infection at different time intervals after attachment was performed essentially as described (Evans et al., 2007, *Nature*, 446:801-5; incorporated herein by reference) with modifications. Culture supernatants collected from 293T cells containing HCVpp was filtered using a 0.45 μ m filter and cooled to 4 °C. Huh 7.5 cells were seeded at 3.2×10^4 per well in poly-L-lysine coated 24 well tissue culture plates 24 hours prior to infection. After pre-cooling of Huh 7.5 cells at 4 °C and at $t = -120$ minutes, media was replaced with 200 μ l of HCVpp supernatant containing 4 μ g/ml polybrene and 50 mM Hepes, with or without antibody as indicated. The plates were centrifuged at 2100 rpm for 120 minutes at 4 °C. At $t = 0$ minutes, plates were washed twice with 1 ml cold PBS and then fresh 37 °C media containing 4 μ g/ml polybrene, with or without antibodies, was added and followed by placing the plates in a 37°C CO₂ incubator. At different time intervals, antibodies were added to media at the indicated concentrations. At 18 hours post infection, culture medium was changed to fresh medium without antibodies. Cells were harvested 3 days post-infection in 100 μ l cell culture lysis buffer and the expression of the luciferase reporter was measured with the addition of 100 μ l Bright Glo reagent from Promega (Madison, WI).

Cushion pellet virus assay

[00237] HCV pseudoparticles (HCVpp) were produced as described (Bartosch *et al.*, 2003, *J. Exp. Med.*, 197:633-42; and Keck *et al.*, 2005, *J. Virol.*, 79:13199-208; both of which are incorporated herein by reference) by co-transfection of 293T cells with plasmids containing the *env*-defective proviral genome and an expression plasmid encoding the HCV glycoproteins (gps). Here, HCVpp carries each of six mutated residues (R657A, D658a, F679A, L692A, I696A, D698A) involved in HC-3 epitope binding. Wild typeH77c and/or E431A (a residue located outside of HC-3 epitope) are positive controls. Cells expressing HCV E1E2 and virus containing extracellular media were collected separately 48 hours post transfection. Cell lysate was prepared by resuspending cells expressing HCV E1E2 using lysis buffer (150 mM NaCl, 20 mM Tris [pH 7.5], 0.5% deoxycholate, 1.0% Nonidet-P40, 1 mM EDTA, 0.5 mg/ml Pefabloc, 2 µg/ml aprotinin, 2 µg/ml leupeptin, 1 µg/ml pepstatin). Nuclei were pelleted by centrifugation at $18,000 \times g$ at 4°C for 10 minutes, and resulting cytoplasmic extracts were collected for the Western blot analysis. Extracellular medium containing virus was first separated from cell debris by passing through a 0.45 µm filter and was further concentrated by processing 30 ml of filtered supernatant through a 20% sucrose cushion by ultracentrifugation using a Beckman Coulter SW 28 rotor (25,000 rpm, 2 hours at 4 °C). Cushion pelleted virus was resuspended in 150 µl of NTE buffer (150 mM NaCl, 1 mM EDTA, 10 mM Tris-HCl, pH 7.4). For Western blotting, equal volumes of 20% sucrose cushion pellet suspension or 293T cell lysates were mixed with an equal volume of 2x SDS sample buffer and denatured by heating at 95 °C for 5 minutes. All samples were resolved by 10% SDS-PAGE using Tris-HCl Criterion gels (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA). Proteins on the gel were transferred onto a nitrocellulose filter. The filter was blocked with 5% dry-milk in 0.1% T-TBS (20 mM Tris-HCl, pH 7.5, containing 150 mM NaCl and 0.1% Tween-20).

[00238] The following pairs of primary and secondary antibodies were used to detect the amount of proteins in the samples: for E1 detection, H111 (Keck *et al.*, 2004, *J. Virol.*, 78:7257-63; incorporated herein by reference) at 2 µg/ml and anti-human IgG HRP (1:5000, GE Healthcare); for E2 detection, AP33 (Owsianka *et al.*, 2005, *J. Virol.*, 79:11095-104; incorporated herein by reference) at 2 µg and goat anti-mouse IgG (1:2000, Santa Cruz Biotechnologies); goat anti-HIV p24 (1:2500, ViroStat, Portland, OR) and bovine anti-goat IgG HRP (1:5000, Santa Cruz Biotechnologies). GAPDH and P24 proteins were used as internal

controls for cellular protein and HCV particles production, respectively, and were detected by mouse anti-GAPDH and goat anti-mouse IgG HRP (Santa Cruz Biotechnologies). The filter was incubated with ECL plus and chemiluminescent images were capture using a chemi-doc image system from Bio-Rad.

HCVpp infectivity assay

[00239] The amount of virus in virus-containing medium was first normalized by p24 expression using QuickTiter lentivirus titer kit (Cell Biolabs Lab, San Diego, CA) in accordance with the manufacturer's instructions. Subsequently, equal amount of virus was added to pre-seeded Huh-7.5 cells (8×10^3 cells/well) in a white nontransparent 96-well plate and infections were centrifuged at $730 \times g$ for 2 hours at room temperature before placing in a humidified cell culture chamber containing 5% CO₂ at 37°C. Unbound virus was replaced with fresh complete medium incubated for a total of 72 hours. After adding 100 µl of reconstituted Bright-Glo (Promega) to each well followed by mixing for 2 minutes at room temperature, luciferase activity was measured by a Veritas microplate luminometer (Turner Biosystems). Virus infectivity is shown as luciferase activity (RLU).

Results

Isolation of new domain B HCV Antibodies to HCV E2 glycoprotein

[00240] HCV E2 contains at least three immunogenic conformational domains with distinct properties and biological functions (Keck *et al.*, 2007, *J. Virol.*, 81:1043; Keck *et al.*, 2005, *J. Virol.*, 79:13199; and Keck *et al.*, 2004, *J. Virol.*, 78:9224; all of which are incorporated herein by reference). Each domain contains multiple overlapping epitopes having similar properties and function. To expand the panel of neutralizing antibodies, a group of human monoclonal antibodies from peripheral B-cells of three HCV infected individuals having high serum neutralization titers were produced and characterized. Peripheral B cells from individuals with either HCV 1a or 1b infection and high serum antibody neutralization activities were used to produce and characterize a panel of human monoclonal antibodies.

[00241] The initial screening made use of a genotype 1b E2 protein for a 1a infected donor, or 1a E2 protein for a 1b infected donor. B cells were activated by Epstein-Barr virus and used to produce human hybridomas as described (Hadlock *et al.*, 2000, *J. Virol.*, 74:10407; incorporated herein by reference). Four hybridomas, labeled as HC-1, HC-3, HC-11, and CBH-23, were

selected secreting antibodies that bound to subtype 1a HCVpp and 1b E2 but not 1b E1 glycoproteins by indirect immunofluorescence assay (IFA; Figure 1). This screening emphasized selecting HCV antibodies to conserved epitopes as previously shown and showed that these antibodies are to E2 (Keck *et al.*, 2004, *J. Virol.*, 78:9224; incorporated herein by reference).

[00242] Two rounds of single cell cloning established monoclonality of the hybridomas that was confirmed by sequencing the IgG genes as described (Keck *et al.*, 2004, *J. Virol.*, 78:7257; incorporated herein by reference). In addition, the four antibodies were sequenced, and the complementarity determining regions (CDRs) of each antibody's heavy and light chains were determined (Figure 2). In addition, IgG subclasses of each of all four antibodies were determined (Figure 3).

[00243] To find out the extent of epitope conservation among different HCV genotypes and/or subtypes, HC-1, HC-3, HC-11, and CBH-23 were tested by IFA against subtypes 1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 4, 5 and 6 HCVpp infected Huh7.5 cells (Owsianka *et al.*, 2008, *J. Gen. Virol.*, 89:653-9; incorporated herein by reference; Figure 4).

[00244] As summarized in Figure 4, HCV antibodies HC-1 and HC-11 were able to neutralize all HCVpp genotypes except for genotype 4 for HC-1 and genotype 5 for HC-11. Both HC-1 and HC-11 neutralize HCVcc 1a and 2a. CBH-23 was able to neutralize HCVpp 1a and 1b infection, as well as HCVcc 2a infection. HC-3 was able to neutralize HCVpp 1a and HCVcc 2a. In contrast, the isotype-matched control RO4, a antibody to a CMV specific protein, was unable to bind to any HCVpp genotypes. All four antibodies were able to immunoprecipitate E2 (Figure 1) but did not detect E2 under reducing conditions by either ELISA or Western blot analysis, indicating that the HCV antibodies are to conformational epitopes on HCV E2 glycoprotein. HC-3, HC-11 and CBH-23 human hybridomas secrete IgG₁ antibodies, and HC-1 secretes IgG₂ (Figure 3). Antibody production was between 20 µg/ml – 60 µg/ml in spent supernatant. Sequence analysis of their Ig genes (V_L and V_H) showed that HC-1, HC-3, HC-11, and CBH-23 were derived from independent B cells expressing unique combinations of heavy and light chain CDR1, 2 and 3 regions (Figure 2).

[00245] To define the relationship of these new antibodies to the earlier panel, competition analysis with representative biotin-labeled domains A (CBH-4D), B (CBH-5), and C (CBH-7) HCV antibodies was performed (Figure 5). HC-1 and HC-11 showed minimum or no

competition with domains A and C antibodies, and 60% – 80% competition with CBH-5 (Figure 5), suggesting that epitopes recognized by these new antibodies are located within domain B. CBH-23 showed minimum or no competition with domains A and B antibodies, and >90% competition with CBH-7 suggesting that this epitope is located within domain C. HC-3 showed minimum or no competition with domains A, B, and C antibodies, suggesting that this antibody recognizes a new distinct domain.

Domain B epitopes elicit neutralizing antibodies

[00246] If the model of overlapping epitopes within a domain is to have similar properties and functions (Keck *et al.*, 2004, *J. Virol.*, 78:9224; incorporated herein by reference), HC-1, HC-11, and CBH-23 should also neutralize HCV as observed with earlier domains B and C HCV antibodies. Neutralization activities at 20 µg/ml of antibody were first measured using 1a and 1b HCVpp infection with each HCV antibody neutralizing both isolates. Average neutralization of the HCV antibodies against 1b HCVpp was comparable to CBH-5, at 64%. In contrast, an average of 80% neutralization for all HCV antibodies was observed in 1a HCVpp infection, compared with 60% with CBH-5. Indeed, more detailed neutralization analysis with HC-11 showed that this antibody has IC_{50} of 0.9 µg/ml. This value is roughly 5 fold higher in 1a HCVpp neutralization potency than CBH-5 at 4.0 µg/ml. This may reflect differences in their epitopes between subtypes since CBH-5 was isolated from a 1b-infected patient and the new HCV antibodies were isolated from a 1a-infected patient. Neutralization was further tested with infectious subtype 1a and 2a HCVcc (Figure 4). For 2a HCVcc, neutralizing activity was measured by two assays, inhibition of NS3 protein expression in Huh7.5 infected cells by Western blot analysis and by FFU reduction. The effect of each antibody on 1a HCVcc infectivity was determined by FFU reduction. As shown in Figure 4, neutralization for 2a HCVcc was complete with HC-1, HC-3, and HC-11 with each HCV antibody at 10 µg/ml as measured by HCV NS3 expression. In contrast, infectivity with 2a HCVcc was unaffected by the negative controls (*i.e.*, RO4 antibody or no antibody (PBS) controls). Levels of β -actin protein used as an internal control were comparable between different samples. These results together are consistent with the model of overlapping conformational epitopes within a distinct immunogenic domain on E2 glycoprotein having similar functions. The successful isolation of HC-1 and HC-11 to domain B provides confirmation that domain B epitopes are highly immunogenic and elicit potent neutralizing antibodies.

Domain B antibodies inhibit E2 binding to CD81

[00247] The mechanism of neutralization with earlier domain B and C HCV antibodies is by inhibiting binding E2 to CD81. This was studied with HC-1, HC-3, HC-11, and CBH-23 in a CD81 capture assay. As shown in Figure 6, preincubation of E2 glycoproteins in the presence of 15 µg/ml of HCV antibodies HC-1, HC-11, CBH-23, or CBH-5 reduced by over 90% E2 binding to CD81 compared to the RO4 negative control. Similar to other domain B or C HCV antibodies, these HCV antibodies neutralize HCV by blocking E2 binding to CD81. In contrast, preincubation of E2 glycoproteins in the presence of HC-3 did not reduce E2 binding to CD81.

Epitope mapping of HC-1 and HC-12 by site-directed mutagenesis

[00248] Alanine scanning mutagenesis was performed to define the residues within the HCV antibody epitopes that engage in E2-CD81 interactions. A series of mutated proteins at amino acid sites ranging between 523 and 540 were obtained by site-directed mutagenesis. This region contains Tyr527, Trp529, Gly530, and Asp535 that are contact point residues for E2 binding to CD81 (Owsianka *et al.*, 2006, *J. Virol.*, 80:8695; incorporated herein by reference). Moreover, residues Gly523, Pro525, Gly530, Asp535 and Asn540 are involved in the CBH-5 epitope (Owsianka *et al.*, 2008, *J. Gen. Virol.*, 89:653-9; incorporated herein by reference). For these mutants, the effect on HC-1 binding was analyzed by using from transfected cells with mutant plasmids encoding E2-*c-myc* fusion protein. Mutant E2 proteins were assessed for their reactivity to HC-1 by ELISA (Figure 7). This assessment was confirmed by flow analysis. Since *c-myc* is a C-terminal tag, the amount of *c-myc* detected by PE-anti-*c-myc* was used as an internal control to normalize the level of expression of E2. To evaluate the percentage of HC-1 binding to mutant E2 proteins, E2/*c-myc* ratio was calculated for each mutant and compared to the ratio obtained with wild-type protein. CBH-4G, a nonneutralizing antibody, was used as a control to identify residues that are specific to HC-1. The lack of binding at substitution sites with both CBH-4G and a HCV antibody suggested either an overall change in E2 conformation or some degree of overlap between a neutralizing and a nonneutralizing epitopes. We previously noted some degree of cross-competition between neutralizing and nonneutralizing HCV antibodies to E2 suggesting spatial proximity of their immunogenic domains on E2 (Keck *et al.*, 2004, *J. Virol.*, 78:9224; incorporated herein by reference).

[00249] A significant decrease compared to wild type in HC-1 binding to 10% or less was noted when Trp529 (row 3), Gly530 (row 4), and Asn540 (row 12) were replaced by alanine, as

shown in Figure 7A. Because the Asn540 mutant also affected CBH-4G binding, it is unclear whether this residue participates in the HC-1 epitope. A mutation at position Asp535 (row 9) decreased HC-1 binding by >80%. For HC-11, a significant decrease of binding was observed when Gly530 and Asp535 were replaced by alanine, as shown in Figure 7B.

[00250] A mutation Gly530 (row 4) decreased HC-1 binding by >80%. In contrast to HC-1, a mutation at Trp529 (row 3) reduced HC-11 binding by only 44%, as compared to wild type. For both antibodies (Figures 7A and 7B), substitution at Gly523 (row 1) decreased by 60%. Substitutions in Pro525 (row 2), Ala531 (row 5), Asn532 (row 6), Asp533 (row 7), Thr534 (row 8) had no or slight effect with +/- 20% on HC-1 and HC-12 binding. Substitutions at Val536 (row 10), Phe537 (row 11) and Asn540 (row 12) reduced HC-1 and HC-11 binding by 75-95%, but also reduced CBH-4G binding by 70-95%. Collectively, these results indicate that Trp529, Gly530 and Asp535 are contact residues for HC-1, and Gly530 and Asp535 are contact residues for HC-11. Thus, the present invention encompasses the recognition that HCV antibodies HC-1 and HC-11 neutralize HCVpp and HCVcc infections by directly blocking residues that are also contact points for E2 binding to CD81. The fact that no single substitution knock down binding by 100% is consistent with HCV antibodies HC-1 and -11 binding to discontinuous epitopes with other contact points to be defined that may or may not be directly involved in E2 binding to CD81.

[00251] Epitope mapping of HC-3 showed no involvement of residues between 530-535, but showed greater than 90% decrease in binding at residues R657, D658, F679, L692, I696, and D698 (Figure 8).

[00252] To approximate the step that HC-3 inhibits during the entry pathway, a time course study was performed compared to domain B and an antibody to CD81. Infectious HCVcc were incubated with 4 °C pre-cooled Huh-7.5 cells to permit virus attachment but no entry. Test antibody was then added at 15 minute intervals after placement of the virus-cell complex in a 37 °C incubator. As shown in Figure 9, there are similar patterns of progressive loss in blocking virus entry with both anti-CD81 and the domain B HCV antibody, HC-11. This is expected as domain B HCV antibodies inhibit virus entry by blocking E2 binding to CD81. The similarity in patterns with HC-3 with these two antibodies suggests that HC-3 inhibits virus entry at a temporal step near virus interaction with CD81. This includes the possible inhibition of E2 interaction with a different HCV co-receptor, such as SR-B1 or a step immediately following

CD81 engagement. The identification of contact residues for HC-3 at R657, D658, F679, L692, I696, and D698, and the lack of contact residues between 530-535, are consistent with these findings that HC-3 inhibits virus entry by a different step than blocking E2 binding to CD81.

[00253] The amino acids involved in HC-3 binding to E2 were tested in a cushion pellet assay to see if they are also involved in mediating E1E2 dimerization. In this assay, HCVpp carries each of six mutated residues (R657A, D658A and F679A, L692A, I696A, or D698A) that are part of the HC-3 E2 epitope. Alternatively, HCVpp carries wild type H77c or the E431A mutation (a residue located outside of the HC-3 epitope), as a positive control. Cells expressing HCV E1E2 were separated from extracellular medium (containing virus). Cell lysates and cushioned virus pellets were prepared and loaded on a gel for western blotting.

[00254] Compared to H77c, HCVpp mutants R657A and D658A (and to a lesser extent, F679A) showed significant reduction in E1 (Figure 10). This suggests that these residues are involved in heterodimer formation between E1 and E2. These residues have not yet been identified as being involved in E1E2 dimerization. Similar observations were observed with E1E2 from cell lysates (Figure 10). The E431A mutant serves as a control of a mutation not affecting heterodimer formation.

[00255] Infectivity of virus having mutations at a contact point for HC-3 (*i.e.*, infectivity of virus with a mutation at R657A, D658A and F679A, L692A, I696A, or D698A) was determined. Results of these experiments (Figure 11) indicate that each mutation is lethal to the virus. The control mutation at E431A showed no change. Together with the findings in Figure 10, these data suggest that HC-3 mediates neutralization by affecting the transition from a E1E2 heterodimer to a state that is necessary for internalization and subsequent release of the virus into the cytosol. The present invention encompasses the recognition that one or more of these amino acid residues could be a target for small molecules that would mimic the effect of HC-3 to affect this transition step.

Discussion

[00256] HCV has an extraordinary capacity to generate quasispecies leading to escape viral mutants that are pathogenic. Despite this ability to evade immune containment, the demonstration of animal protection with passive immunotherapy and findings that broadly neutralizing antibodies are found in infected individuals provide support for a vaccine approach

that includes the capability to induce these antibodies. Development of a successful vaccine will require characterization of immunodominant epitopes mediating virus neutralization that is broadly conserved among different genotypes, subtypes, and/or strains. In this example, the HCV antibodies (*i.e.*, HC-1, HC-3, HC-11, and CBH-23) are derived from a B cell donor infected with either subtype 1a or 1b. The antibodies were screened by IFA using subtype 1a or 1b E2 expressed in 293T cells to emphasize selecting HCV antibodies to conserved epitopes. Three of the four HCV antibodies are IgG₁, which is consistent with previous findings of the antibody response to HCV infection as mainly of the IgG₁ subclass (Chen *et al.*, 1999, *Gastroenterology*, 116:135; and Hadlock *et al.*, 2000, *J. Virol.*, 74:10407; both of which are incorporated herein by reference). The four HCV antibodies bind to epitopes conserved across subtypes 1-6 as detected by IFA and are to conformational epitopes as shown by their ability to immunoprecipitate HCVpp but not to detect E2 by western blot analysis. Elimination of binding to denatured antigens further proved the antibodies are to conformational epitopes. Cross-competition studies placed these antibodies within an earlier group of related HCV antibodies, labeled as domain B containing a cluster of tightly overlapping epitopes. Within the earlier set of domain B HCV antibodies, some as represented by CBH-5 bind and neutralized all subtypes and subtypes HCVpp while others as represented by CBH-8C are more restricted in not binding or neutralizing some subtypes/subtypes (Keck *et al.*, 2004, *J. Virol.*, 78:9224; and Owsianka *et al.*, 2008, *J. Gen. Virol.*, 89:653-9; both of which are incorporated herein by reference). Similar to CBH-5, HC-1 and HC-11 neutralize broadly as tested with 1a and 1b HCVpp, and 1a and 2a HCVcc. While the extent of neutralization achieved was similar to CBH-5 with 1b HCVpp, neutralization potency against 1a with some of the HCV antibodies was far greater than with CBH-5. This suggests some differences in their contact residues and is consistent with the fact that the donor of the B cells was infected with a 1a HCV isolate. Among the expanded panel of domain B HCV antibodies, neutralization potency was correlated with antibody binding affinity. With subtype 1a, CBH-5 has a lower antibody binding affinity of 2.2×10^{-7} M K_d (Keck *et al.*, 2004, *J. Virol.*, 78:9224; incorporated herein by reference) compared to the affinities of the HCV antibodies between $2.4\text{-}6.6 \times 10^{-9}$ M K_d.

[00257] In general, the primary mechanism of antibody-mediated virus neutralization is by inhibiting an early step of virus entry and appears to be mostly directed at the E2 glycoprotein. Compelling evidence showed that E2 interactions with glycosaminoglycans, the lipoprotein

receptor scavenger receptor class B type 1, SR-B1, and CD81 are involved in HCVpp and HCVcc entry [reviewed in Moradpour *et al.*, 2007, *Nat. Rev. Microbiol.*, 5:453; incorporated herein by reference]. Whether E2 is also pivotal in later steps remains to be determined, such as interaction with claudin-1, a member in a large family of intercellular adhesion molecules and recently shown to be an essential step in entry that follows E2 binding to CD81 (Evans *et al.*, 2007, *Nature*, 446:801; incorporated herein by reference). Of the HCV antibodies, each inhibits E2 binding to CD81 as shown with other domain B HCV antibodies (Hadlock *et al.*, 2000, *J. Virol.*, 74:10407; incorporated herein by reference). One of ordinary skill in the art will readily recognize that experiments such as those described herein can be carried out to find out whether domain B HCV antibodies inhibit E2 interaction with other HCV receptor molecules.

[00258] Specific residues critical for CD81 binding have been localized to mainly two discontinuous sequences on E2 (Drummer *et al.*, 2006, *J. Virol.*, 80:7844; and Owsianka *et al.*, 2006, *J. Virol.*, 80:8695; both of which are incorporated herein by reference). They include a conserved motif located between HVR1 and HVR2 (amino acid 436-443) (Drummer *et al.*, 2006, *J. Virol.*, 80:7844; incorporated herein by reference) and specific residues conserved on all subtypes/subtypes, Trp420, Tyr527, Trp529, Gly530 and Asp535 (Owsianka *et al.*, 2006, *J. Virol.*, 80:8695; incorporated herein by reference). Alanine substitution studies on one of these two regions from 523-540 showed that two of the HCV antibodies representing the entire group revealed critical shared contact residues. HC-1 requires Trp529, Gly530 and Asp535, and HC-12 requires Gly530 and Asp535. These two patterns place HC-12 more similar to the CBH-5 epitope that also involves Gly530 and Asp535 but with at least one different contact point at Gly523 (Owsianka *et al.*, 2008, *J. Gen. Virol.*, 89:653-9; incorporated herein by reference). Indeed, competition studies also showed that the HC-11 epitope is spatially closer to CBH-5 than to either HC-1. Both HC-1 and HC-11 bind to alanine substitution at Gly523 while CBH-5 showed no binding. Recent studies showed that other broadly neutralizing human antibodies from combinatorial libraries isolated from an individual infected with subtype 2b also recognize epitopes containing Gly523, Trp529, Gly530, and Asp535 (Johansson *et al.*, 2007, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 104:16269; incorporated herein by reference). Why HC-1 and HC-12 have greater neutralizing potencies than CBH-5 with subtype 1a can be attributed in part by different antibody affinity to subtype 1a with HC-1, HC-12 and CBH-5 having nearly a two-log drop in K_d . This might reflect differences in their epitopes on contact residues outside of 523-540 that

could account for the differences in K_d values and neutralizing activities. Also, the location of critical contact residues of all domain B HCV antibodies at Gly530 and Asp535 on HCV E2 provides added proof of specific glycosylation sites on E2 modulating the neutralizing antibody response to HCV. In two independent studies, the glycan at Asn532 has been shown to decrease neutralizing activities of HCV polyclonal sera as well as HCV-specific neutralizing monoclonal antibodies (Falkowska *et al.*, 2007, *J. Virol.*, 81:8072; and Helle *et al.*, 2007, *J. Virol.*, 81:8101; both of which are incorporated herein by reference). When this residue is substituted with alanine, the mutant HCVpp showed greater sensitivity to be neutralized by these antibodies. The location of the glycan at Asn532 could reduce access of all domain B HCV antibodies to two shared contact residues at Gly530 and Asp535. Two other glycans as Asn417 and Asn645 have also been shown to reduce the neutralizing activity of a domain B HCV antibody, CBH-5 (Helle *et al.*, 2007, *J. Virol.*, 81:8101; incorporated herein by reference). Additional studies could provide evidence of other contact points of domain B HCV antibodies near these two glycans.

[00259] In summary, three sets of related neutralizing monoclonal antibodies from different laboratories have been isolated from individuals infected with HCV subtype 1a, 1b or 2b isolates (Hadlock *et al.*, 2000, *J. Virol.*, 74:10407; Johansson *et al.*, 2007, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 104:16269-74; and Keck *et al.*, 2007, *J. Virol.*, 81:1043; all of which are incorporated herein by reference). Cross-competition studies and epitope mapping to a region on HCV E2 involved in E2 binding to CD81 demonstrate that these antibodies are to overlapping epitopes with varying degrees of conservation among different HCV subtype and subtype isolates. Clearly, domain B is an immunodominant region on HCV E2 containing multiple overlapping epitopes. The fact that an HCVpp alanine substitution mutant at Asn532 having greater sensitivity to be neutralized by a panel of sera obtained from individuals infected with subtype 1a, 1b, 2b, 3, 4 and 5 showed that these sera contain antibodies directed at this region which further confirms that the epitopes in domain B are preferential targets of the immune response (Falkowska *et al.*, 2007, *J. Virol.*, 81:8072; incorporated herein by reference). Although the majority of domain B HCV antibodies are to conserved epitopes, some such as CBH-8C and CBH-11 do not bind to subtype 1a isolates, suggesting that an antibody response to some domain B epitopes could lead to escape virus mutants. An effective vaccine approach may involve eliciting an antibody response to those epitopes as represented by HCV antibodies while eliminating epitopes associated with escape mutants. This can be accomplished through point mutations or through deletions without

altering the native structure of the E2 glycoprotein as recently shown for the hypervariable regions (McCaffrey *et al.*, 2007, *J. Virol.*, 81:9584; incorporated herein by reference). Lastly, the biochemical and functional characterizations of the HCV antibodies, the earlier group of domain B HCV antibodies and the described recombinant human antibodies are consistent with the proposed model of antibodies to related epitopes within a domain having similar biophysical and functions properties.

Example 3: Antibody Production

[00260] The following Example provides a method that can be utilized to produce HCV monoclonal antibodies.

Expression and purification of antibody from a plasmid vector

[00261] A gene encoding an entire antibody molecule can be amplified from its parent hybridoma by RT-PCT and cloned into a heterologous expression cassette capable of driving expression of the antibody in a constitutive or inducible manner in a eukaryotic cell line. For example, antibody genes can be expressed in an expression plasmid such as pcDNA3.1 Zeo, pIND(SP1), pREP8, (all from Invitrogen, Carlsbad, California), and/or other expression vectors. Alternatively or additionally, antibody genes can be expressed via viral or retroviral vectors such as MLV based vectors, vaccinia virus-based vectors, and/or Adenovirus-based vectors. Similarly, antibody genes can be expressed in insect virus vectors such as baculovirus vectors. Other vectors, such as the pCOMB series of vectors allow for expression of an antibody heavy and light chain pair or a single chain antibody on the surface of M13 phage or bacteria.

[00262] Once expressed, antibodies can be purified using, *e.g.*, protein-A or protein-G sepharose, and purified antibody can be chemically or enzymatically modified in any of the following ways: biotinylation (*e.g.*, biotin-Cl1-hydroxysuccinimide ester, *etc.*); coupling to beads of various formats (*e.g.*, sepharose, agarose, magnetic, polystyrene, through the use of cyanogen bromide, *etc.*); and/or bridging the antibody to a useful chemical moiety (*e.g.*, by modifying lysine residues, by modifying basic residues, and/or through the use of reagents specific for free sulfhydryl groups, *etc.*).

Equivalents and Scope

[00263] Those skilled in the art will recognize, or be able to ascertain using no more than routine experimentation, many equivalents to the specific embodiments of the invention, described herein. The scope of the present invention is not intended to be limited to the above Description, but rather is as set forth in the appended claims.

[00264] Those skilled in the art will recognize, or be able to ascertain using no more than routine experimentation, many equivalents to the specific embodiments of the invention described herein. The scope of the present invention is not intended to be limited to the above Description, but rather is as set forth in the appended claims.

[00265] In the claims articles such as “a,” “an,” and “the” may mean one or more than one unless indicated to the contrary or otherwise evident from the context. Thus, for example, reference to “an antibody” includes a plurality of such antibodies, and reference to “the cell” includes reference to one or more cells known to those skilled in the art, and so forth. Claims or descriptions that include “or” between one or more members of a group are considered satisfied if one, more than one, or all of the group members are present in, employed in, or otherwise relevant to a given product or process unless indicated to the contrary or otherwise evident from the context. The invention includes embodiments in which exactly one member of the group is present in, employed in, or otherwise relevant to a given product or process. The invention includes embodiments in which more than one, or all of the group members are present in, employed in, or otherwise relevant to a given product or process. Furthermore, it is to be understood that the invention encompasses all variations, combinations, and permutations in which one or more limitations, elements, clauses, descriptive terms, *etc.*, from one or more of the listed claims is introduced into another claim. For example, any claim that is dependent on another claim can be modified to include one or more limitations found in any other claim that is dependent on the same base claim. Furthermore, where the claims recite a composition, it is to be understood that methods of using the composition for any of the purposes disclosed herein are included, and methods of making the composition according to any of the methods of making disclosed herein or other methods known in the art are included, unless otherwise indicated or unless it would be evident to one of ordinary skill in the art that a contradiction or inconsistency would arise.

[00266] Where elements are presented as lists, *e.g.*, in Markush group format, it is to be understood that each subgroup of the elements is also disclosed, and any element(s) can be

removed from the group. It should be understood that, in general, where the invention, or aspects of the invention, is/are referred to as comprising particular elements, features, *etc.*, certain embodiments of the invention or aspects of the invention consist, or consist essentially of, such elements, features, *etc.* For purposes of simplicity those embodiments have not been specifically set forth *in haec verba* herein. It is noted that the term “comprising” is intended to be open and permits the inclusion of additional elements or steps.

[00267] Where ranges are given, endpoints are included. Furthermore, it is to be understood that unless otherwise indicated or otherwise evident from the context and understanding of one of ordinary skill in the art, values that are expressed as ranges can assume any specific value or subrange within the stated ranges in different embodiments of the invention, to the tenth of the unit of the lower limit of the range, unless the context clearly dictates otherwise.

[00268] In addition, it is to be understood that any particular embodiment of the present invention that falls within the prior art may be explicitly excluded from any one or more of the claims. Since such embodiments are deemed to be known to one of ordinary skill in the art, they may be excluded even if the exclusion is not set forth explicitly herein. Any particular embodiment of the compositions of the invention (*e.g.*, any HCV genotype/subtype, any HCV antibody, any epitope, any pharmaceutical composition, any method of administration, any therapeutic application, *etc.*) can be excluded from any one or more claims, for any reason, whether or not related to the existence of prior art.

[00269] The publications discussed above and throughout the text are provided solely for their disclosure prior to the filing date of the present application. Nothing herein is to be construed as an admission that the inventors are not entitled to antedate such disclosure by virtue of prior disclosure.

Other Embodiments

[00270] Those of ordinary skill in the art will readily appreciate that the foregoing represents merely certain preferred embodiments of the invention. Various changes and modifications to the procedures and compositions described above can be made without departing from the spirit or scope of the present invention, as set forth in the following claims.

Claims

What is claimed is:

1. An antibody directed to a conformational epitope within amino acids 523 to 540 of hepatitis C virus (HCV) envelope glycoprotein 2 (E2).
2. An antibody, wherein the antibody is monoclonal antibody HC-1.
3. An antibody, wherein the antibody is monoclonal antibody HC-3.
4. An antibody, wherein the antibody is monoclonal antibody HC-11.
5. An antibody, wherein the antibody is monoclonal antibody CBH-23.
6. An antibody directed to the epitope recognized by HC-1.
7. An antibody directed to the epitope recognized by HC-3.
8. An antibody directed to the epitope recognized by HC-11.
9. An antibody directed to the epitope recognized by CBH-23.
10. An antibody, wherein the antibody competes with HC-1 for binding to its epitope.
11. An antibody, wherein the antibody competes with HC-3 for binding to its epitope.
12. An antibody, wherein the antibody competes with HC-11 for binding to its epitope.
13. An antibody, wherein the antibody competes with CBH-23 for binding to its epitope.
14. The antibody of any one of claims 1-13, wherein the antibody is a monoclonal antibody.
15. The antibody of any one of claims 1-13, wherein the antibody is a humanized antibody.
16. The antibody of any one of claims 1-13, wherein the antibody is a mammalian antibody.

17. A fragment of an antibody selected from the group consisting of HC-1, HC-3, HC-11, and CBH-23, wherein the fragment retains the antigen binding activity of the whole antibody.
18. A cell line expressing the antibody of any one of claims 1-17.
19. The cell line of claim 18, wherein the cell line is a B cell line.
20. The cell line of claim 18, wherein the cell line is a human cell line.
21. The cell line of claim 18, wherein the cell line is a mammalian cell line.
22. The cell line of claim 21, wherein the cell line is a eukaryotic cell line.
23. The cell line of claim 18, wherein the cell line is a hybridoma.
24. A pharmaceutical composition comprising:
 - an antibody selected from the group consisting of HC-1, HC-3, HC-11, and CBH-23; and;
 - a pharmaceutically acceptable excipient.
25. A pharmaceutical composition comprising:
 - an antibody that recognizes an epitope recognized by an antibody selected from the group consisting of HC-1, HC-3, HC-11, and CBH-23; and;
 - a pharmaceutically acceptable excipient.
26. A pharmaceutical composition comprising:
 - a fragment of an antibody selected from the group consisting of HC-1, HC-3, HC-11, and CBH-23, wherein the fragment retains the antigen binding activity of the whole antibody; and
 - a pharmaceutically acceptable excipient.
27. The pharmaceutical composition of any one of claims 24-26, further comprising at least one additional antiviral agent.

28. The pharmaceutical composition of claim 27, wherein the at least one additional antiviral agent is selected from the group consisting of interferons, anti-HCV monoclonal antibodies, anti-HCV polyclonal antibodies, RNA polymerase inhibitors, ribavirin, protease inhibitors, IRES inhibitors, helicase inhibitors, antisense compounds, short interfering RNAs, short hairpin RNAs, micro RNAs, RNA aptamers, and ribozymes.
29. The pharmaceutical composition of claim 27, wherein the at least one additional antiviral agent is interferon.
30. The pharmaceutical composition of claim 27, wherein the at least one additional antiviral agent is ribavirin.
31. The pharmaceutical composition of claim 27, wherein the at least one additional antiviral agent is a combination of interferon and ribavirin.
32. The pharmaceutical composition of claim 27, wherein the at least one additional antiviral agent is an anti-HCV monoclonal antibody.
33. The pharmaceutical composition of claim 32, wherein the anti-HCV monoclonal antibody recognizes envelope glycoprotein 2 (E2).
34. The pharmaceutical composition of claim 32, wherein the antibodies are directed to proteins of identical HCV genotypes.
35. The pharmaceutical composition of claim 32, wherein the antibodies are directed to proteins of two or more HCV genotypes.
36. A method of treating a patient infected with HCV comprising steps of:
 - providing a patient infected with HCV or susceptible to HCV infection; and
 - administering to the patient the antibody or pharmaceutical composition of any one of claims 1-35.
37. A method of treating a patient exposed to HCV comprising steps of:
 - providing a patient infected with HCV or susceptible to HCV infection; and

administering to the patient the antibody or pharmaceutical composition of any one of claims 1-35.

38. The method of claim 36 or 37, wherein a therapeutically effective amount is an amount sufficient to treat HCV infection in the subject.
39. The method of claim 36 or 37, wherein a therapeutically effective amount is an amount sufficient to reduce the recurrence of HCV infection in the subject.
40. The method of claim 36 or 37, wherein a therapeutically effective amount is an amount sufficient to prevent or delay onset of HCV infection in the subject
41. The method of claim 36 or 37, wherein the subject is a baby born to an HCV infected mother.
42. The method of claim 36 or 37, wherein the subject is a liver transplant recipient.
43. The method of claim 36 or 37, wherein the subject is an individual who is susceptible to HCV infection.
44. The method of claim 36 or 37, wherein the subject is an individual who is suffering from HCV infection.
45. A method, comprising administering to a patient in need thereof an effective amount of a pharmaceutical composition, wherein the pharmaceutical composition comprises a pharmaceutically acceptable excipient and a human monoclonal antibody selected from the group consisting of:
 - (a) the monoclonal antibody HC-1 which is secreted by the hybridoma cell line deposited in the ATCC under Accession Number PTA-9416;
 - (b) the monoclonal antibody HC-3 which is secreted by the hybridoma cell line deposited in the ATCC under Accession Number PTA-9417;
 - (c) the monoclonal antibody HC-11 which is secreted by the hybridoma cell line deposited in the ATCC under Accession Number PTA-9418;
 - (d) the monoclonal antibody CBH-23 which is secreted by the hybridoma cell line deposited in the ATCC under Accession Number PTA-9419; and

- (c) fragments of the antibodies of (a)-(d) which retain the antigen binding characteristics of the whole antibody.
46. A kit comprising:
at least one HCV antibody selected from the group consisting of HC-1, HC-3, HC-11, and CBH-23;
a syringe, needle, or applicator for administration of the at least one HCV antibody to a subject; and
instructions for use.
47. A kit comprising:
a lyophilized powder comprising at least one HCV antibody selected from the group consisting of HC-1, HC-3, HC-11, and CBH-23;
a diluent, wherein the diluent is used to reconstitute the powder.
48. A small molecule, wherein the small molecule binds to the same epitope as HC-1.
49. A small molecule, wherein the small molecule binds to the same epitope as HC-3.
50. A small molecule, wherein the small molecule binds to the same epitope as HC-11.
51. A small molecule, wherein the small molecule binds to the same epitope as CBH-23.
52. A small molecule, wherein the small molecule competes with HC-1 for binding to its epitope.
53. A small molecule, wherein the small molecule competes with HC-3 for binding to its epitope.
54. A small molecule, wherein the small molecule competes with HC-11 for binding to its epitope.
55. A small molecule, wherein the small molecule competes with CBH-23 for binding to its epitope.

HMabs	HCVpp					
	1a	1b	2A	2B	3A	4
HC-1	+	+	+	+	+	+
HC-3	+	+	+	+	+	+
HC-11	+	+	+	+	+	+
CBH-23	+	+	+	+	+	+
RO4	--	--	--	--	--	--

a: Indirect immunofluorescent assay against E1E2 transfected 293T cells

FIG. 1

Heavy Chain

	<u>CDR1</u>	<u>CDR2</u>	<u>CDR3</u>
HC-1	GGTYNSEV	FIPMFGTA	AKVLQVGGNLVVRPL
HC-3	GFSLSTTGVG	IYWDDDK	ALNSYRSGTILYRELELRGLFYI
HC-11	GATFSSFI	IIPMFGTA	AMEVPGFCRGGSCGYMDV
CBH-23	GGTFSSYA	IVPMFGTE	ARHENIYGTPFDY

Light Chain

	<u>CDR1</u>	<u>CDR2</u>	<u>CDR3</u>
HC-1	QTISSSTH	GVS	HQYGNSPQT
HC-3	QSISSW	ESS	QQYESSWT
HC-11	HSVSSSN	GAS	QQYGSSPIT
CBH-23	HSITRY	AAS	QQSYSTLLT

FIG. 2

3/11

	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4
HC-1	--	+++	--	--
HC-3	+++	--	--	--
HC-11	+++	--	--	--
CBH-23	+++	--	--	--

FIG. 3

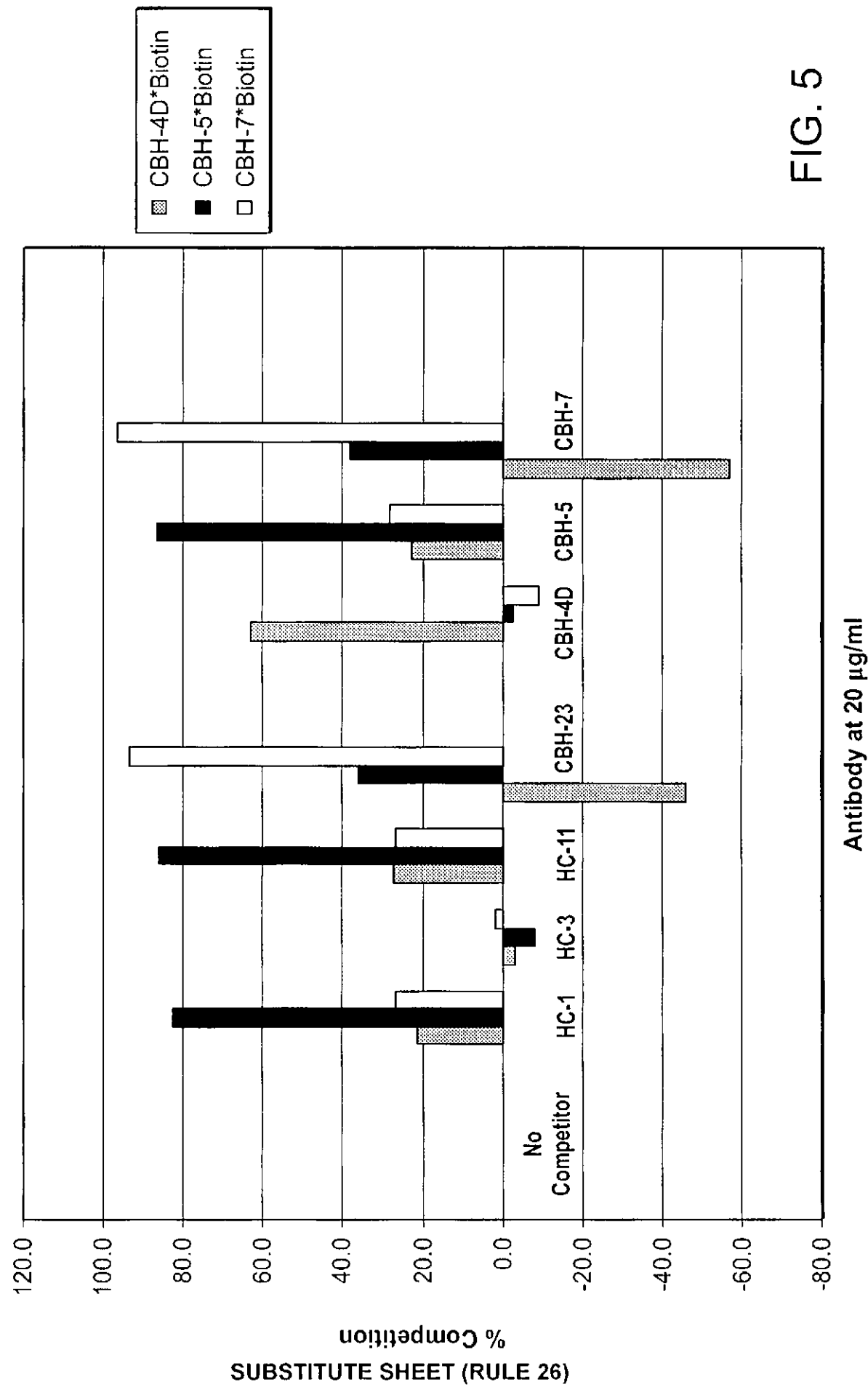
4/11

HMAb	HCVpp ^a						HCVcc ^b			
	1a	1b	2a	2b	3a	4	5	6	1a	2a
HC-1	86 ^c	78	38	41	39	29	58	48	95	100
HC-3	70	18	NA ^d	NA	NA	NA	NA	NA	NA	100
HC-11	90	87	58	52	37	52	11	45	90	100
CBH-23	82	40	42	25	21	20	7	-10	NA	85
RO4	5	5	0	4	2	0	0	0	0	0

a: HCVpp is HCV pseudoparticles
b: HCVcc is cell cultured infectious HCV virions
c: Number is percent neutralization
d: Not available

FIG. 4

5/11



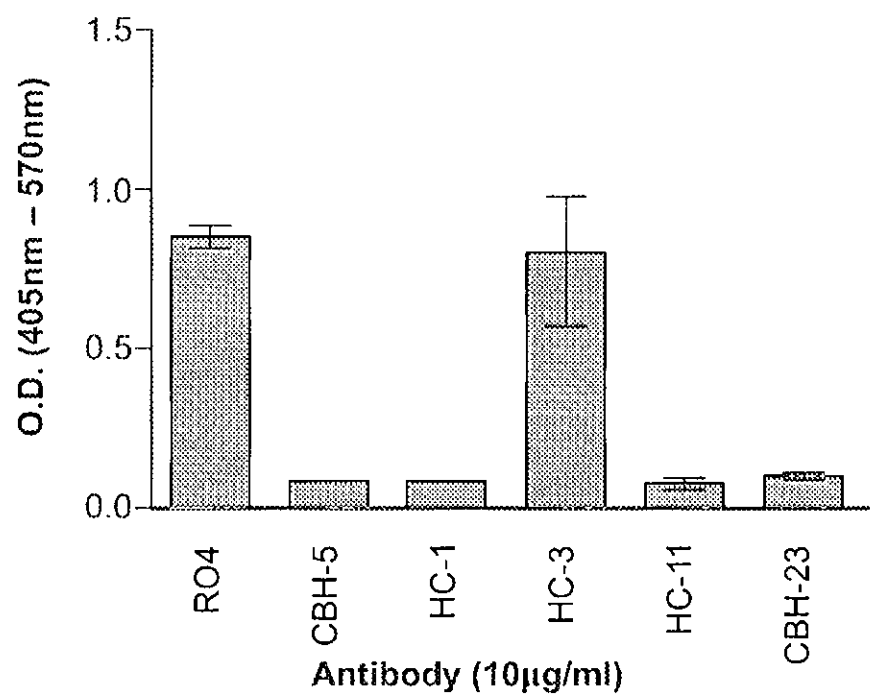


FIG. 6

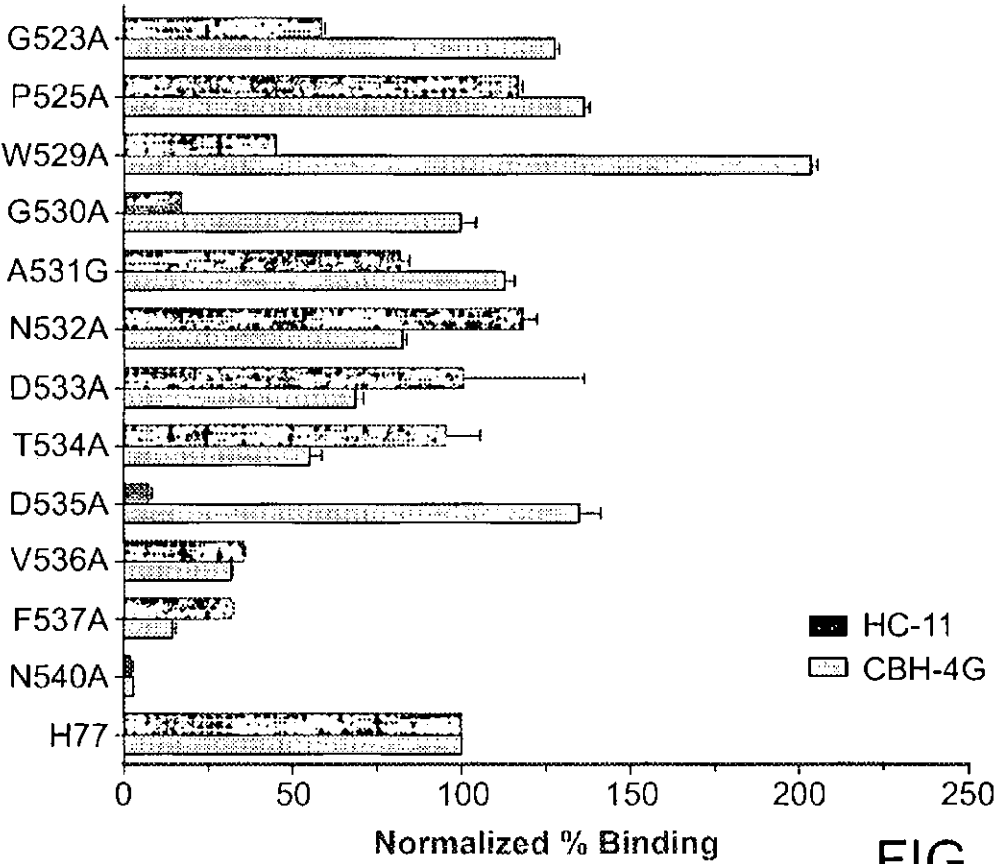
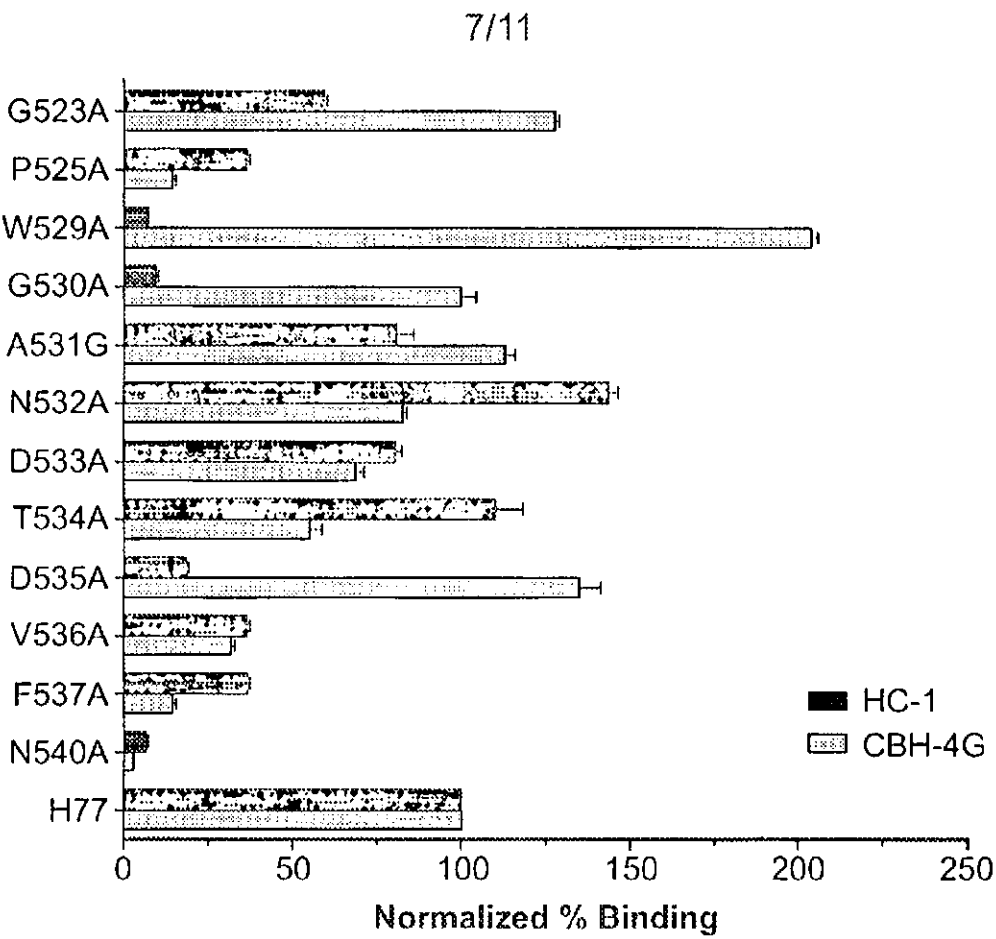
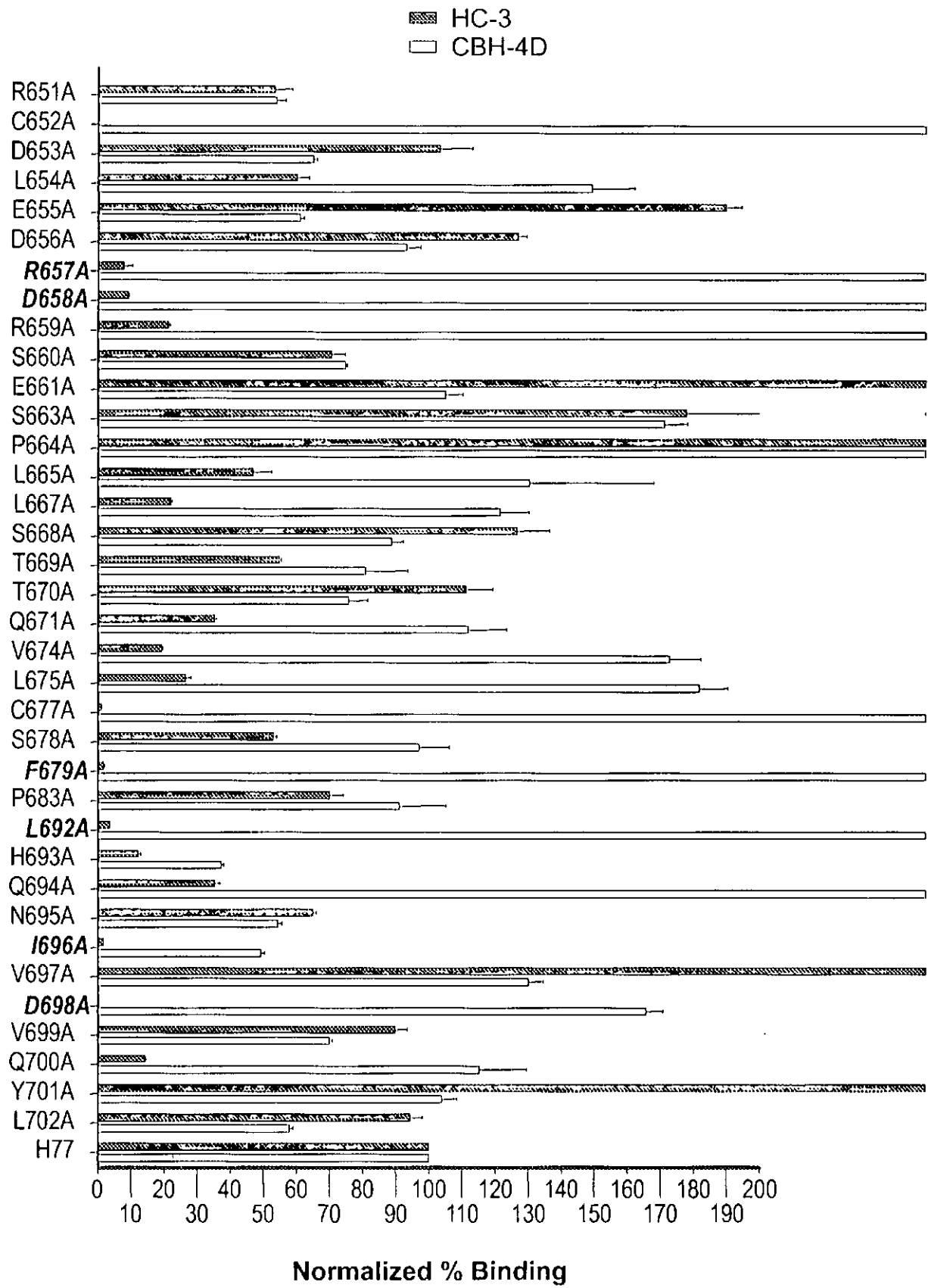


FIG. 7

8/11

FIG. 8



9/11

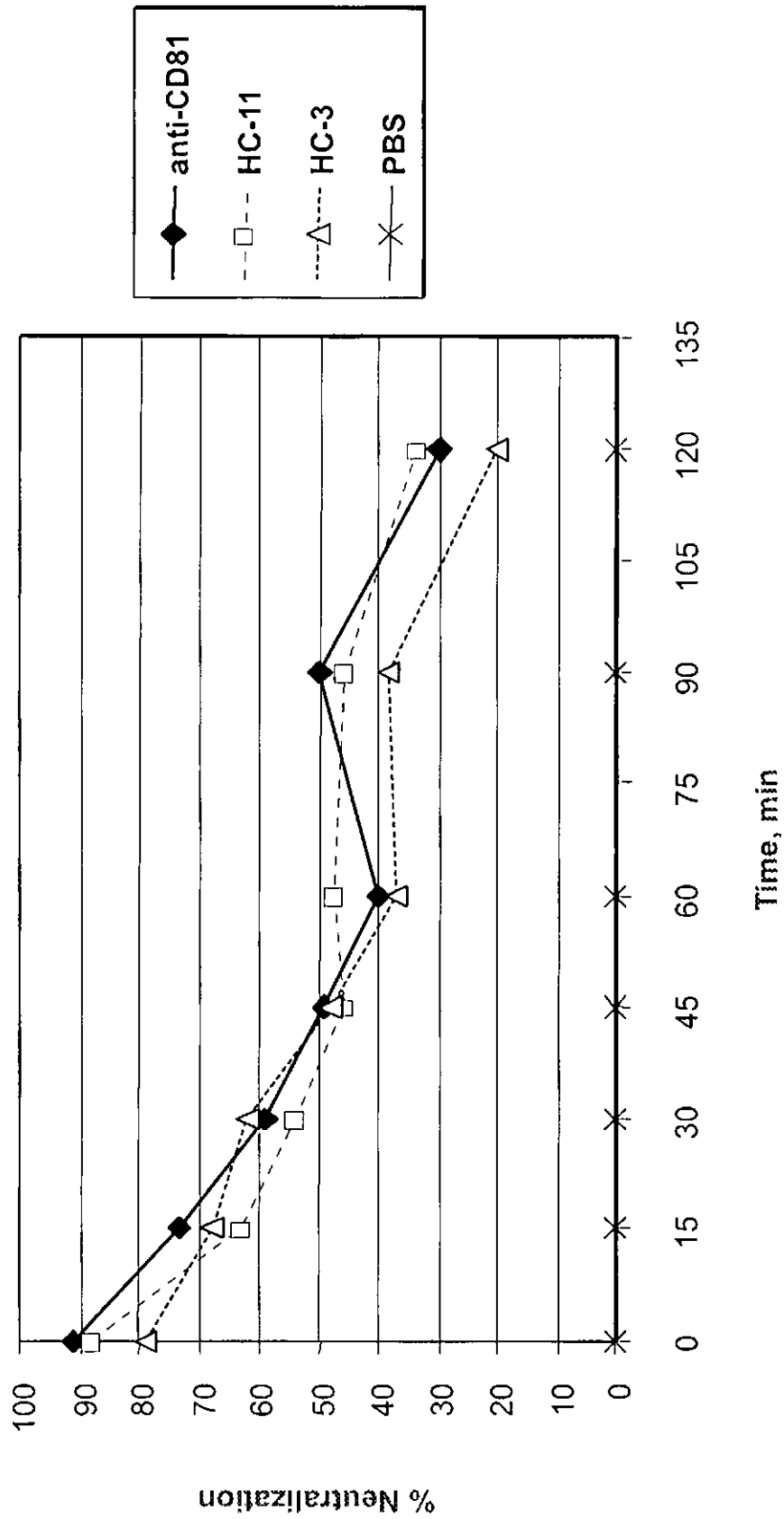


FIG. 9

10/11

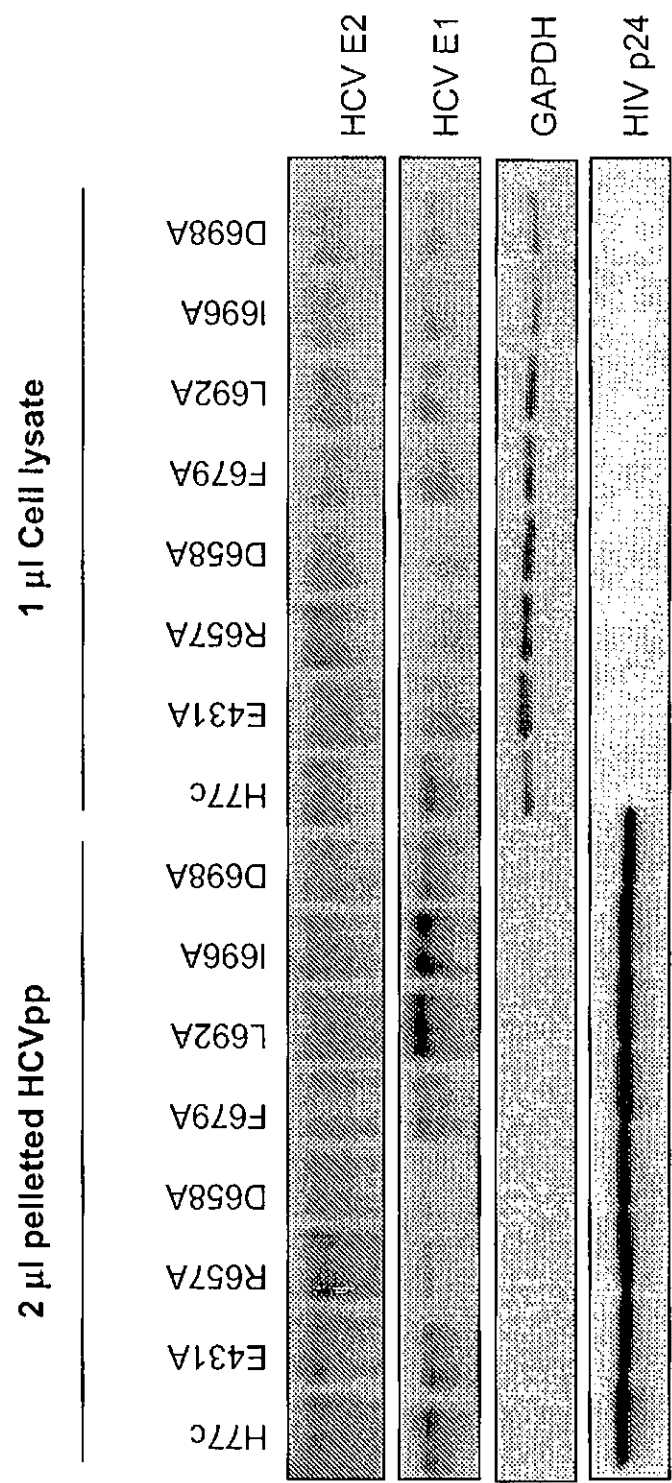


FIG. 10

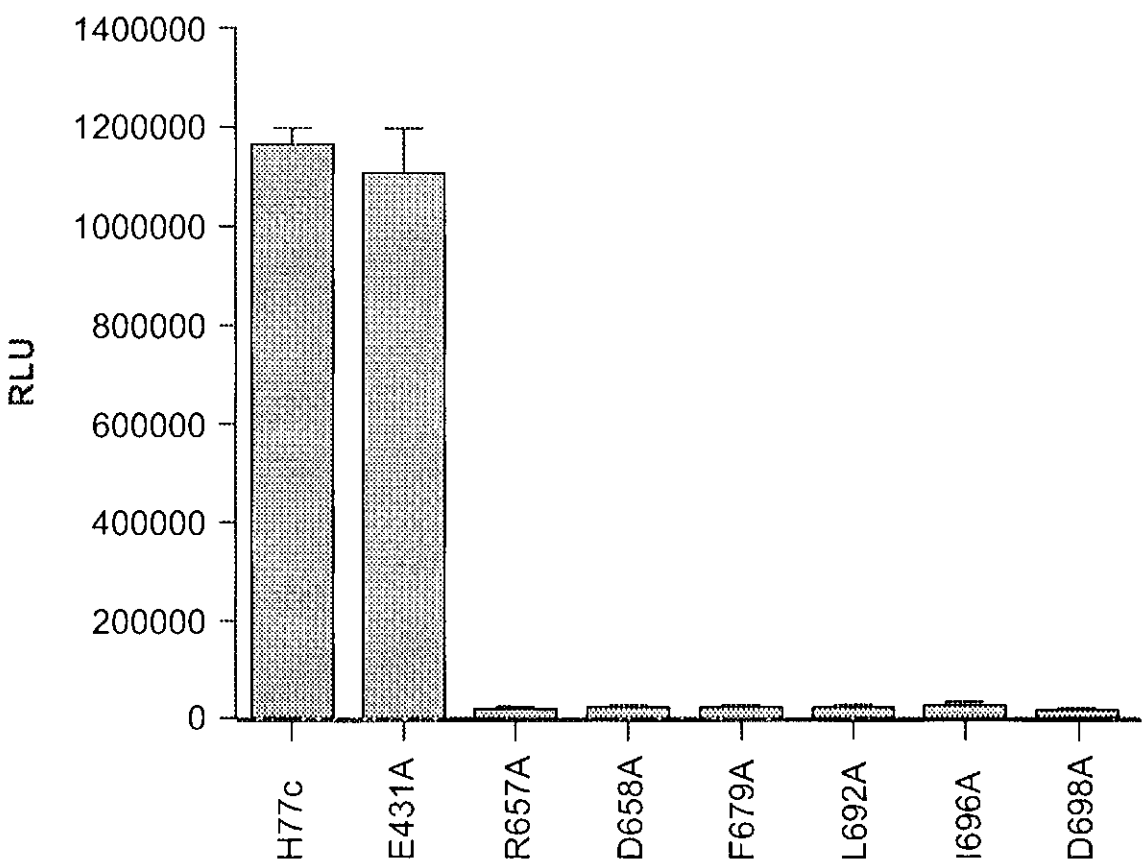


FIG. 11

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 08/78884

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC(8) - C07K 16/10, A61K 39/395 (2009.01)

USPC - 424/124.1, 424/149.1, 424/161.1

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

USPC - 424/124.1, 424/149.1, 424/161.1, 530/388.3, 530/388.15

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

PubWEST(USPT,PGPB,EPAB,JPAB); Dialog Classic Files ? 654, 652, 351, 349, 315, 6, 35, 65, 155; Google Scholar; Entrez Pubmed; USPTO Web Page; Search terms - monoclonal antibody, HC-1, HC-3, HC-11, CBH-23, epilope, HCV envelope glycoprotein E2, kit, excipient, diluents, kit, ribavirin, interferon, humanized, human

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X - A	US 2006/0104980 A1 (FOUNG et al.) 18 May 2006 (18.05.2006) para [0004], [0015]-[0020], [0029] [0053], [0054], [0085], [0086], [0089], [0157]	1, 6-16 and 48-55 2-5, 17, 24-35, 45-47
A	US 2006/0257852 A1 (RAPPUOLI et al.) 16 November 2006 (16.11.2006) para [0003], [0017], [0028], [1452], [1467]	27-31, 47, 48
A	KECK et al., Analysis of a highly flexible conformational Immunogenic domain A in hepatitis C virus E2, J. Virology, November 2005, Vol. 79, No. 21, pages 13199-13208	1-17, 24-35, 45-55

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T"

later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X"

document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y"

document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&"

document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

04 January 2009 (04.01.2009)

Date of mailing of the international search report

30 JAN 2009

Name and mailing address of the ISA/US

Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents

P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450

Facsimile No. 571-273-3201

Authorized officer:

Leo W. Young

PCT Helpdesk: 571-272-4300

PCT OSP: 571-272-7774

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 08/78884

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☒ Claims Nos.: 18-23 and 36-44
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

ANTICUERPOS DE HEPATITIS C Y SUS USOS

Antecedentes de la Invención

Más de 170 millones de personas alrededor del mundo
5 están infectadas con el virus de hepatitis C (HCV, por sus
siglas en inglés). La infección aguda usualmente está
silenciosa, pero la mayor de los individuos infectados
desarrollan infecciones persistentes (Major et al, 2001,
"Hepatitis C viruses", Fields Virology, 1127-1162;
10 incorporada aquí por referencia). Un pequeño porcentaje de
infecciones agudas sin embargo resuelven la viremia con
resolución de la enfermedad. La inmunidad celular es
necesaria, como una respuesta de la célula CD4⁺ T robusta y
sostenida, que temporalmente está asociada con la depuración
15 del virus que conduce a la resolución de la enfermedad
(revisado en Shoukry et al., 2004, Annu. Rev. Microbiol,
58:391; incorporada aquí por referencia).

Los fármacos antiviricos (por ejemplo, interferón o
interferón PEGilado) tomados solos o en combinación con
0 ribavirina (es decir, un análogo de nucleósido que interfiere
con la replicación del genoma viral) pueden utilizarse para
el tratamiento de personas con hepatitis C crónica, pero el
costo del tratamiento es muy alto. El tratamiento con
interferón solo es efectivo en aproximadamente 10% a 20% de
25 los pacientes, mientras el interferón combinado con

ribavirina es efectivo en aproximadamente 30% a 50% de los pacientes.

La presente invención abarca el reconocimiento de que los anticuerpos pueden desarrollarse y pueden ser útiles para la profilaxis, tratamiento, y/o el diagnóstico de HCV. Un reto significativo para el desarrollo de la vacuna con base en el anticuerpo es definir los epítomos protectores conservados y generar anticuerpos que específicamente reconocen estos epítomos.

10 Breve Descripción de la Invención

La presente invención proporciona anticuerpos monoclonales, que incluyen anticuerpos monoclonales humanos, que se unen a múltiples genotipos y/o subtipos del virus de hepatitis C (HCV). Tales anticuerpos son útiles en la profilaxis, tratamiento, diagnóstico y/o el estudio de HCV. En particular, la presente invención proporciona anticuerpos monoclonales que se unen a epítomos adaptativos conservados de la glicoproteína E2 de envoltura HCV. En algunas modalidades, los anticuerpos HCV de acuerdo con la presente invención son capaces de unirse a muchos, la mayor parte, o todos los casos de HCV. En algunas modalidades, los anticuerpos monoclonales encuentran uso en una variedad de ensayos de diagnóstico. Los anticuerpos HCV de acuerdo con la invención encuentran uso en la inmunoterapia pasiva para reducir la carga viral de individuos infectados. El uso de

anticuerpos HCV de acuerdo con la invención también puede interferir con la infección de células objetivo. Los anticuerpos que reconocen epítopos conservados pueden utilizarse para proporcionar una plantilla para el diseño
5 racional del péptido y los miméticos de epítipo adaptativamente definidos (por ejemplo, compuestos orgánicos, compuestos organometálicos, compuestos inorgánicos, moléculas pequeñas, etc.). En algunas modalidades, las regiones conservadas de la proteína E2 HCV y sus fragmentos son
10 provistos para utilizarse para propósitos terapéuticos, de profilaxis, de diagnóstico y/u otros propósitos.

En algunas modalidades, los anticuerpos de acuerdo con la invención están dirigidos a epítopos adaptativos de la proteína E2 de HCV. Los epítopos adaptativos y lineales de E2
15 han sido identificados utilizando un panel de anticuerpos monoclonales y una serie de construcción de eliminación de E2. Los estudios previos (ver, por ejemplo, la Patente de E. U. A. No. 6,692,908; y las Publicaciones de Patente de E. U. A. 2006/0104980 y 2006/0188571; todas las cuales se
20 incorporan aquí por referencia) han reportado una clase de anticuerpos que se unen a epítopos adaptativos entre los aminoácidos 411 - 644 E2 de HCV 1b. Los anticuerpos de esta clase se ha encontrado que inhiben la interacción de E2 con CD81. Otra clase de anticuerpos se ha encontrado que se unen
25 a epítopos adaptativos entre los aminoácidos 470 - 644 E2 de

HCV 1b. Una tercera clase de anticuerpos que se unen a epítomos adaptativos entre los aminoácidos 470 - 644 de E2 HCV 1b pero fallan en la inhibición de la unión de E2 a CD81. Una cuarta clase se une a los epítomos adaptativos entre los aminoácidos 644 - 661 E2 de HCV 1b. Una quinta clase se une a los epítomos adaptativos entre los aminoácidos 230 - 313 E1 de HCV 1b. Una sexta clase se une a los epítomos E1 HCV lineales derivados de múltiples genotipos. Una séptima clase se une a epítomos adaptativos que incluyen en parte los aminoácidos 657 - 698 E2 de HCV 1a.

En algunas modalidades, los epítomos adaptativos a los cuales los anticuerpos HCV están dirigidos están conservados entre los genotipos HCV (por ejemplo, genotipos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, y/o sus combinaciones). En algunas modalidades, los epítomos adaptativos a los cuales los anticuerpos HCV están dirigidos son conservados entre los subtipos HCV (por ejemplo, los subtipos 1a, 1b, 1c, 2a, 2b, 2c, 3a, 3b, 4a, 4b, 4c, 4d, 4e, 5a, 6a, 7a, 7b, 8a, 8b, 9a, 10a, 11a, y/o sus combinaciones). En algunas modalidades, los epítomos adaptativos a los cuales los anticuerpos HCV están dirigidos están conservados entre las cepas HCV. Se estima que existen más de 100 cepas de HCV, que dan designaciones numéricas (por ejemplo, 1, 2, 3, etc.) después de la indicación del genotipo y el subtipo.

La presente invención proporciona anticuerpos

monoclonales que reconocen epítomos E2 HCV que están más precisamente definidos que cualquiera de los epítomos descritos anteriormente. Los anticuerpos de acuerdo con la invención compiten de manera recíproca con alguno de los anticuerpos previamente descritos. Sin embargo, algunos anticuerpos de acuerdo con la invención neutralizan HCV en los sistemas de modelo considerados con mayor potencia que los anticuerpos previamente descritos. De esta forma, la presente invención abarca el reconocimiento de que los anticuerpos recién identificados, descritos en la presente, pueden proporcionar un mayor beneficio terapéutico y/o profiláctico que los anticuerpos previamente descritos.

En algunas modalidades, los anticuerpos E2 anti-HCV se seleccionan del grupo que consiste del anticuerpo monoclonal humano HC-1 que se secreta a través de la línea celular de hibridoma depositada en la Colección de Cultivo de Tipo Americano (ATCC, por sus siglas en inglés), bajo el número de Acceso PYA-9416; el anticuerpo monoclonal humano HC-3 secretado a través de la línea celular de hibridoma depositada en el ATCC con el número de Acceso PTA-9417; el anticuerpo monoclonal humano HC-11 secretado por la línea celular de hibridoma depositado en el ATCC con el número de Acceso PTA-9418; y el anticuerpo monoclonal humano CBH-23 secretado por la línea celular de hibridoma depositado en el ATCC con el número de Acceso PTA-9419.

Los anticuerpos de acuerdo con la presente invención pueden combinarse con excipientes farmacéuticamente aceptables para proporcionar formulaciones farmacéuticas. La presente invención proporciona composiciones farmacéuticas para el tratamiento, prevención y/o diagnóstico de infección con hepatitis C. En algunas modalidades, las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la invención comprenden anticuerpos humanos capaces de unirse a la glicoproteína E2 de envoltura HCV capaz de neutralizar la infección HCV *in vitro* e *in vivo*.

En algunas modalidades, las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la invención pueden comprender fragmentos de anticuerpos HCV (por ejemplo, HC-1, HC-3, HC-11, y/o CBH-23) que sustancialmente retienen las características de unión a antígeno del anticuerpo completo. En algunas modalidades, las composiciones farmacéuticas pueden comprender anticuerpos HCV producidos por métodos recombinantes que son bien conocidos en la técnica.

La presente invención proporciona varios usos terapéuticos, profilácticos y/o de diagnóstico de los anticuerpos HCV de acuerdo con la invención. En algunas modalidades, las composiciones farmacéuticas comprenden los anticuerpos HC-1, HC-3, HC-11, y CBH-23 que pueden utilizarse para el tratamiento de infección por hepatitis C crónica y/o aguda mediante la administración al paciente de una cantidad

terapéuticamente efectiva de los anticuerpos, o sus fragmentos, capaces de unirse a E2 HCV. Una cantidad terapéuticamente efectiva es una cantidad suficiente para lograr uno o más de los efectos biológicos particulares. Una

5 cantidad terapéuticamente efectiva puede administrarse en una sola dosis en un solo momento, o puede distribuirse con el tiempo en múltiples dosis individuales (o del mismo o diferentes tamaños), o una distribución continua (a una velocidad constante o variable). En ciertas modalidades, una

10 cantidad terapéuticamente efectiva es una cantidad efectiva para lograr uno o más resultados biológicos deseados que incluyen, pero no se limitan a: (i) aliviar uno o más los síntomas de la infección HCV; (ii) reducir el número de partículas virales en circulación en un individuo y/o en

15 cualquiera de los órganos de individuo (por ejemplo, hígado); (iii) evitar la reaparición, reducir la probabilidad de reaparición, y/o retrasar la reaparición de uno de los síntomas de infección HCV; y/o (iv) prevenir, reducir la probabilidad de, y/o retrasar el inicio de un aumento en el

20 número de partículas virales en circulación en un individuo infectado con HCV y/o en cualquiera de los órganos del individuo (por ejemplo, hígado). Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la invención pueden utilizarse para prevenir, reducir la recurrencia de, y/o retrasar el

25 inicio de infección HCV. Se pueden utilizar, por ejemplo,

para la inmunización pasiva de individuos recientemente expuestos a HCV o en riesgos de ser expuestos a HCV, bebés recién nacidos de madres HCV-positivas, y/o pacientes con trasplante de hígado (por ejemplo, para evitar posibles infecciones HCV recurrentes en tales pacientes).

La invención también proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden cantidades terapéuticamente efectivas de anticuerpos de acuerdo con la invención combinados con por lo menos otro agente-vírico como un ingrediente activo adicional. Tales agentes pueden incluir, pero no se limitan a, interferones (por ejemplo, interferón α -2b, interferón- γ , etc.), anticuerpos monoclonales anti-HCV, anticuerpos policlonales anti-HCV, inhibidores de polimerasa de ARN, inhibidores de proteasa, ribavirina, inhibidores de IRES, inhibidores de helicasa, inmunomoduladores, compuestos antisentido, ARN de interferencia corta, ARN de horquilla corta, micro-ARN, aptámeros de ARN, ribozimas, y sus combinaciones.

Los anticuerpos de acuerdo con la presente invención definen epítopos adaptativos en la proteína E2 HCV, y son provistas composiciones y compuestos que contiene tal epítipo. Por ejemplo, la presente invención proporciona proteínas, péptidos y moléculas pequeñas que comprenden epítopos adaptativos de la proteína E2 HCV. Los péptidos pueden contener uno o más epítopos reconocidos por los

anticuerpos de acuerdo con la presente invención. En ciertas modalidades, las proteínas son cadenas de péptidos concatenados con secuencias de enlace opcionales, por lo menos una que contiene por lo menos un epítipo adaptativo de HCV. Los péptidos de la cadena pueden contener diferentes epítopos adaptativos de la proteína E2 HCV. Alternativamente, los péptidos de la cadena todos pueden contener el mismo epítipo. En general, se desea que los péptidos de la cadena se plieguen apropiadamente con el despliegue del epítipo(s) adaptativo sustancialmente como aparece en la naturaleza. Tales proteínas y péptidos pueden utilizarse en la formulación de vacunas o utilizarse en pruebas de diagnóstico.

La presente invención también proporciona métodos para estratificar pacientes con base en su respuesta inmunológica a HCV y para identificar a aquellos pacientes que probablemente respondan bien a la inmunoterapia de HCV. Por ejemplo, se puede utilizar el suero del paciente para probar la presencia de anticuerpos dirigidos contra un epítipo particular de HCV. Si el paciente no tiene niveles adecuados de anticuerpos dirigidos a tal epítipo, específicamente un epítipo adaptativo de la proteína E2 HCV, los anticuerpos monoclonales humanos dirigidos contra el epítipo pueden administrarse al paciente. La propia respuesta inmunitaria del paciente puede complementarse con anticuerpos

de acuerdo con la invención o sus composiciones. En ciertas modalidades, la inmunoterapia ayuda en la depuración del virus HCV y/o la resolución de la infección HCV. En ciertas modalidades, la inmunoterapia de acuerdo con la presente
5 invención trata y/o previene la infección HCV crónica.

Definiciones

Aminoácido: Como se utiliza en la presente, el término "aminoácido", en su sentido más amplio, se refiere a cualquier compuesto y/o sustancia que puede incorporarse en
10 una cadena de polipéptido. En algunas modalidades, un aminoácido tiene la estructura $H_2N-C(H)(R)-COOH$. En algunas modalidades, un aminoácido es un aminoácido de existencia natural. En algunas modalidades, un aminoácido es un aminoácido sintético; en algunas modalidades, un aminoácido
15 es un D-aminoácido; en algunas modalidades, un aminoácido es un L-aminoácido. "Aminoácido estándar" se refiere a cualquiera de los 20 L-aminoácidos estándar comúnmente encontrados en péptidos de existencia natural. "Aminoácido no estándar" se refiere a cualquier aminoácido, diferente de los
20 aminoácidos estándar, independientemente de si se prepara sintéticamente o se obtiene de una fuente natural. Como se utiliza en la presente, "aminoácido sintético" abarca aminoácidos químicamente modificados, que incluyen pero no se limitan a sales, derivados de aminoácido (tales como amidas),
25 y/o sustituciones. Los aminoácidos, incluyendo los

aminoácidos carboxi y/o amino-terminal en péptidos, pueden modificarse a través de metilación, amidación, acetilación, grupos protectores, y/o la sustitución con otros grupos químicos que pueden cambiar la vida útil en circulación del

5 péptido sin afectar adversamente su actividad. Los aminoácidos pueden participar en un enlace de disulfuro. Los aminoácidos pueden comprender una o modificaciones post-traducción, tal como la asociación con una o más entidades químicas (por ejemplo, grupos metilo, grupos acetato, grupos

10 acetilo, grupos fosfato, fracciones formilo, grupos isoprenoides, grupos sulfato, fracciones de polietilenglicol, fracciones de lípido, fracciones de carbohidrato, fracciones de biotina, etc.). El término "aminoácido" se utiliza de manera intercambiable con "residuo de aminoácido", y puede

15 referirse a un aminoácido libre y/o a un residuo de aminoácido de un péptido. Será evidente a partir del contexto en el cual el término se utiliza si se refiere a un aminoácido libre o un residuo de un péptido.

Animal: Como se utiliza en la presente, el término

20 "animal" se refiere a cualquier miembro del reino animal. En algunas modalidades, "animal" se refiere a humanos, de cualquier sexo y en cualquier etapa de desarrollo. En algunas modalidades, "animal" se refiere a animales no humanos, en cualquier etapa de desarrollo. En ciertas modalidades, el

25 animal no humano es un mamífero (por ejemplo, un roedor,

ratón, una rata, un conejo, un mono, un perro, un gato, una
oveja, ganado, un primate y/o un puerco). En algunas
modalidades, los animales incluyen, pero no se limitan a,
mamíferos, aves, reptiles, anfibios, peces, insectos y/o
5 gusanos. En ciertas modalidades, el animal es susceptible a
la infección por HCV. En algunas modalidades, un animal puede
ser un animal transgénico, un animal genéticamente
modificado, y/o un clon.

Anticuerpo: Como se utiliza en la presente, el
10 término "anticuerpo" se refiere a cualquier inmunoglobulina,
ya sea natural, o producida completa o parcialmente de forma
sintética. Todos sus derivados que mantiene la habilidad de
la unión específica también se incluyen en el término. El
término también cubre cualquier proteína que tiene un dominio
15 de unión que es homólogo o mayormente homólogo con un dominio
de unión de inmunoglobulina. Tales proteínas pueden derivarse
de fuentes naturales, o producirse parcialmente o
completamente de forma sintética. Un anticuerpo puede ser
monoclonal o policlonal. Un anticuerpo puede ser un miembro
20 de cualquier clase de inmunoglobulina, incluyendo cualquiera
de las clases humanas: IgG, IgM, IgA, IgD, e IgE. En ciertas
modalidades, un anticuerpo puede ser un miembro de la clase
de inmunoglobulina IgG. Como se utiliza en la presente, los
términos "fragmento de anticuerpo" o "porción característica
25 de un anticuerpo" se utilizan de forma intercambiable y se

refieren a cualquier derivado de un anticuerpo que es menor de longitud completa. En general, el fragmento del anticuerpo retiene por lo menos una porción significativa de la habilidad de unión específica del anticuerpo de longitud completa. Los ejemplos de fragmentos de anticuerpo incluyen, pero no se limitan a, Fab, Fab', F(ab')₂, scFv, Fv, diacuerpo dsFv, y fragmentos Fc. Un fragmento de anticuerpo puede producirse por cualquier medio. Por ejemplo, un fragmento de anticuerpo puede enzimática o químicamente producirse a través de fragmentación de un anticuerpo intacto y/o puede producirse recombinantemente de un gen que codifica la secuencia del anticuerpo parcial. Alternativa o adicionalmente, un fragmento de anticuerpo puede producirse completa o parcialmente de manera sintética. Un fragmento de anticuerpo puede opcionalmente comprender un fragmento de anticuerpo de cadena individual. Alternativa o adicionalmente, un fragmento de anticuerpo puede comprender múltiples cadenas que están enlazadas juntas, por ejemplo, a través de enlaces de disulfuro. Un fragmento puede opcionalmente comprender un complejo multimolecular. Un fragmento de anticuerpo funcional típicamente comprende por lo menos 50 aminoácidos y más típicamente comprende por lo menos 200 aminoácidos. En algunas modalidades, un anticuerpo puede ser un anticuerpo humano. En algunas modalidades, un anticuerpo puede ser un anticuerpo humanizado.

Aproximadamente: Como se utiliza en la presente, el término "aproximadamente" o "alrededor de", como se aplica a uno o más valores de interés, se refiere a un valor que es similar a un valor de referencia manifestado. En ciertas 5 modalidades, el término "aproximadamente" o "alrededor" se refiere a un intervalo de valores que caen dentro de 25%, 20%, 19%, 18%, 17%, 16%, 15%, 14%, 13%, 12%, 11%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, o menos en cualquier dirección (mayor que o menor que) del valor de referencia 10 manifestado a menos que se manifieste lo contrario o por el contrario sea evidente a partir del contexto (excepto cuando tal número excedería el 100% de un valor posible).

Biológicamente activo: Como se utiliza en la presente, la frase "biológicamente activo" se refiere a una 15 característica de cualquier sustancia que tiene actividad en un sistema biológico (por ejemplo, cultivo celular, organismo, etc.). Por ejemplo, una sustancia que, cuando se administra a un organismo, tiene un efecto biológico sobre ese organismo, se considera como siendo biológicamente 20 activa. En modalidades particulares, cuando una proteína o polipéptido es biológicamente activo, una porción de esa proteína o polipéptido que comparte por lo menos una actividad biológica de la proteína o polipéptido es típicamente referida como una porción "biológicamente 25 activa".

Porción característica: Como se utiliza en la presente, el término una "porción característica" de una sustancia, en el sentido más amplio, es una que comparte algún grado de identidad de secuencia o estructural con
5 respecto a la sustancia completa. En ciertas modalidades, una porción característica comparte por lo menos una característica funcional con la sustancia intacta. Por ejemplo, una "porción característica" de una proteína o polipéptido es una que contiene un alargamiento continuo de
10 aminoácidos, o una colección alargamientos continuos de aminoácidos, que juntos son característicos de una proteína o polipéptido. En algunas modalidades, cada alargamiento continuo general contiene por lo menos 2, 5, 10, 15, 20, 50 o más aminoácidos. En general, una porción característica de
15 una sustancia (por ejemplo, de una proteína, anticuerpo, etc.) es una que, además de la identidad de secuencia y/o estructural especificada anteriormente, comparte por lo menos una característica funcional con la sustancia intacta relevante. En algunas modalidades, una porción característica
20 puede ser biológicamente activa.

Expresión: Como se utiliza en la presente, "expresión" de una secuencia de ácido nucleico se refiere a uno o más de los siguientes eventos: (1) la producción de una plantilla de ARN de una secuencia de ADN (por ejemplo, a
25 través de transcripción); (2) procesamiento de un transcripto

de ARN (por ejemplo, a través de la división, edición, formación de la tapa 5', y/o formación del extremo 3'). (3) traducción de un ARN en polipéptido o proteína; y/o (4) la modificación post-traducción de un polipéptido o proteína.

5 *Funcional:* Como se utiliza en la presente, una molécula biológica "funcional" es una molécula biológica en la forma en la cual exhibe una propiedad y/o actividad a través de la cual se caracteriza.

Gen: Como se utiliza en la presente, el término
10 "gen" tiene su significado como se entiende en la técnica. Se apreciará por los expertos en la técnica que el término "gen" puede incluir secuencias reguladoras de gen (por ejemplo, promotores, potenciadores, etc.) y/o secuencias de intrón. Además se apreciará que las definiciones del gen incluyen
15 preferencias a ácidos nucleicos que no codifican proteínas sino más bien codifican moléculas de ARN funcionales tales como ARNt, agentes de inducción de iARN, etc. Para los propósitos de claridad se observa que, como se utiliza en la presente solicitud, el término "gen" generalmente se refiere
20 a una porción de un ácido nucleico que codifica una proteína; el término puede opcionalmente abarcar secuencias reguladoras, como será claro a partir del contexto de los expertos en la técnica. Esta definición no pretende excluir a aplicación del término "gen" a unidades de expresión de
25 codificación no de proteína sino más bien para aclarar que en

la mayor parte de los casos, el término como se utiliza en el documento se refiere a un ácido nucleico que codifica a una proteína

Producto de gen o producto de expresión: Como se utiliza en la presente, el término "producto de gen" o "producto de expresión" generalmente se refiere a un ARN transcrito del gen (pre- y/o post-procesamiento) o un polipéptido (pre- y/o post-modificación) codificado por un ARN transcrito del gen.

Homología: Como se utiliza en la presente, el término "homología" se refiere a la redundancia global entre las moléculas poliméricas, por ejemplo, entre moléculas de ácido nucleico (por ejemplo, moléculas de ADN y/o moléculas de ARN) y/o entre moléculas de polipéptido. En algunas modalidades, las moléculas poliméricas se consideran como "homólogas" entre sí si sus secuencias son al menos 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, o 99% idénticas. En algunas modalidades, las moléculas poliméricas se consideran como "homólogas" entre sí, si su secuencia es al menos 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, o 99% similar.

Identidad: Como se utiliza en la presente, el término "identidad" se refiere a la relevancia global entre las moléculas poliméricas, por ejemplo, entre moléculas de ácido nucleico (por ejemplo, moléculas de ADN y/o moléculas

de ARN) y/o entre moléculas de polipéptido. El cálculo de la identidad porcentaje de dos secuencias de ácido nucleico, por ejemplo, puede llevarse a cabo a través de la alineación de dos secuencias para propósitos de comparación óptima (por ejemplo, los huecos pueden introducirse en una o ambas de la primera y segunda secuencia de ácido nucleico para la alineación óptima y secuencias no idénticas pueden descartarse para propósitos de comparación). En ciertas modalidades, la longitud de una secuencia alineada para propósitos de comparación es de al menos 30%, al menos 40%, al menos 50%, al menos 60%, al menos 70%, al menos 80%, al menos 90%, al menos 95%, o sustancialmente 100% de la longitud de la secuencia de referencia. Los nucleótidos en posiciones de nucleótido correspondiente después se comparan. Cuando una posición en la primera secuencia está ocupada por el mismo nucleótido que la posición correspondiente en la segunda secuencia, entonces las moléculas son idénticas en esa posición. El porcentaje de identidad entre dos secuencias es una función del número de posiciones idénticas compartidas por las secuencias, tomando en cuenta el número de huecos, y la longitud de cada hueco, que necesita introducirse para la alineación óptima de dos secuencias. La comparación de las secuencias y la determinación del porcentaje de identidad entre dos secuencias pueden lograrse utilizando un algoritmo matemático. Por ejemplo, el porcentaje de identidad entre dos

secuencias de nucleótido puede determinarse utilizando el algoritmo de Meyers y Miller (CABIOS, 1989, 4: 11-17), que ha sido incorporado en el programa ALIGN (versión 2.0) utilizando la tabla de residuos ponderada PAM120, una penalidad de longitud de hueco de 12 y una penalidad de hueco de 4. El porcentaje de identidad entre dos secuencias de nucleótido puede, alternativamente, determinarse utilizando un programa GAP en el paquete de software GCG utilizando una matriz NWSgapdna.CMP.

10 *Aislado:* Como se utiliza en la presente, el término "aislado" se refiere a una sustancia y/o entidad que ha sido (1) separada de por lo menos algunos de los componentes con los cuales está asociada cuando se produce inicialmente (ya sea en naturaleza y/o en una configuración experimental), y/o
15 (2) producirse, prepararse y/o fabricarse por la mano del hombre. Las sustancias y/o las entidades aisladas pueden separarse de aproximadamente 10%, aproximadamente 20%, aproximadamente 30%, aproximadamente 40%, aproximadamente 50%, aproximadamente 60%, aproximadamente 70%,
20 aproximadamente 80%, aproximadamente 90%, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99%, o más de alrededor de 99% de los otros
25 componentes con los cuales está inicialmente asociada. En

algunas modalidades, los agentes aislados están alrededor de 80%, alrededor de 85%, alrededor de 90%, alrededor de 91%, alrededor de 92%, alrededor de 93%, alrededor de 94%, alrededor de 95%, alrededor de 96%, alrededor de 97%,
5 alrededor de 98%, alrededor de 99%, o más de alrededor de 99% puros. Como se utiliza en la presente, una sustancia es "pura" si está sustancialmente libre de otros componentes. Como se utiliza en la presente, el cálculo del porcentaje de pureza de las sustancias y/o entidades aisladas no deberá
10 incluir excipiente (por ejemplo, regulador de pH, solvente, agua, etc.

Mimótopo: Como se utiliza en la presente, el término "mimótopo" se refiere a una macromolécula que imita la estructura de un epítipo. En algunas modalidades, un
15 mimótopo provoca una respuesta del anticuerpo idéntica o similar a la provocada por su epítipo correspondiente. En algunas modalidades, un anticuerpo que reconoce un epítipo también reconoce un mimótopo que imita ese epítipo. En algunas modalidades, un mimótopo es un péptido. En algunas
20 modalidades, un mimótopo es una molécula pequeña, carbohidrato, lípido o ácido nucleico. En algunas modalidades, los mimótopos con péptidos o mimótopos no de péptido de epítipos HCV adaptativamente conservados. En algunas modalidades, al imitar la estructura de un epítipo
25 viral adaptativamente definido, un mimótopo interfiere con la

habilidad de las partículas del virus HCV para unirse a sus asociados de unión naturales (por ejemplo, el receptor objetivo HCV, proteína E1, etc.), por ejemplo, mediante la unión al asociado de unión natural mismo.

5 *Acido nucleico:* Como se utiliza en la presente, el término "ácido nucleico", en su sentido más amplio, se refiere a cualquier compuesto y/o sustancia que está o puede incorporarse en una cadena de oligonucleótido. En algunas modalidades, un ácido nucleico es un compuesto y/o sustancia
10 que está o puede incorporarse en una cadena de oligonucleótido a través de un enlace de fosfodiéster. En algunas modalidades, "ácido nucleico" se refiere a residuos de ácido nucleico individuales (por ejemplo, nucleótidos y/o nucleósidos). En algunas modalidades, "ácido nucleico" se
15 refiere a una cadena de oligonucleótido que comprende residuos de ácido nucleico individuales. Como se utiliza en la presente, los términos "oligonucleótido" y "polinucleótido" pueden utilizarse de manera intercambiable. En algunas modalidades, "ácido nucleico" abarca ARN así como
20 ADN monocatenario o bicatenario y/o ADNc. Además, los términos "ácido nucleico", "ADN", "ARN" y/o términos similares incluyen análogos de ácido nucleico, es decir, análogos que tienen una estructura de fosfodiéster diferente. Por ejemplo, los así denominados "ácidos nucleicos de péptido" que se
25 conocen en la técnica y tienen enlaces de péptido en lugar de

enlaces de fosfodiéster en la estructura, se consideran dentro del alcance de la presente invención. El término "secuencia de nucleótido que codifica una secuencia de aminoácido" incluye todas las secuencias de nucleótido que son versiones degeneradas entre sí y/o codifican la misma secuencia de aminoácido. Las secuencias de nucleótido que codifican proteínas y/o ARN pueden incluir intrones. Los ácidos nucleicos pueden purificarse de fuentes naturales, producirse utilizando sistemas de expresión recombinantes y opcionalmente purificarse, sintetizarse químicamente, etc. Cuando es apropiado, por ejemplo, en el caso de moléculas químicamente sintetizadas, los ácidos nucleicos pueden comprender análogos de nucleósido tales como análogos que tienen bases o azúcares químicamente modificados, modificaciones de estructura, etc. Una secuencia de ácido nucleico se presenta en la dirección 5' a 3' a menos que se indique lo contrario. El término "segmento de ácido nucleico" se utiliza en la presente para referirse a una secuencia de ácido nucleico que es una porción de una secuencia de ácido nucleico más larga. En muchas modalidades, un segmento de ácido nucleico comprende por lo menos 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, o más residuos. En algunas modalidades, un ácido nucleico es o comprende nucleósidos naturales (por ejemplo adenosina, timidina, guanosina, citidina, uridina, desoxiadenosina, desoxitimida, desoxiguanosina y desoxicitidina); los análogos

de nucleósido (por ejemplo, 2-aminoadenosina, 2-tiotimidina, inosina, pirrolo-pirimidina, 3-metil adenosina, 5-metilcitidina, C-5 propinil-citidina, C-5 propinil-uridina, 2-aminoadenosina, C5-bromouridina, C5-fluorouridina, C5-yodouridina, C5-propinil-uridina, C5-propinil-citidina, C5-metilcitidina, 2-aminoadenosina, 7-deazaadenosina, 7-deazaguanosina, 8-oxoadenosina, 8-oxoguanosina, O(6)-metilguanina, y 2-tiocitidina); bases químicamente modificadas; bases biológicamente modificadas (por ejemplo, bases metiladas); bases intercaladas; azúcares modificadas (por ejemplo, 2'-fluororibosa, ribosa, 2'-desoxiribosa, arabinosa, y hexosa); y/o grupos fosfato modificados (por ejemplo, fosfotioatos y enlaces de 5'-N-fosforamidita). En algunas modalidades, la presente invención está específicamente dirigida a "ácidos nucleicos no modificados", que significa ácidos nucleicos (por ejemplo, polinucleótidos y residuos, que incluyen nucleótidos y/o nucleósidos) que no han sido químicamente modificados con el fin de facilitar o lograr su distribución.

20 *Proteína:* Como se utiliza en la presente, el término "proteína" se refiere a un polipéptido (es decir, una cadena de por lo menos dos aminoácidos enlazados entre sí a través de enlaces de péptido). Las proteínas pueden incluir fracciones diferentes de aminoácido (por ejemplo, pueden ser glicoproteínas, proteoglicanos, etc.). y/o pueden ser por el

contrario procesadas o modificadas. Los expertos en la técnica apreciarán que una "proteína" puede ser una cadena de polipéptido completa como se produce una célula (con o sin una secuencia de señal), o puede ser una de sus porciones

5 características. Los expertos en la técnica apreciarán que una proteína algunas veces puede incluir más de una cadena de polipéptido, por ejemplo, enlazada a través de uno o más enlaces de disulfuro, o asociada por otros medios. Los polipéptidos pueden contener L-aminoácidos, D-aminoácidos, o

10 ambos y puede contener cualquiera de una variedad de modificaciones o análogos de aminoácidos conocidos en la técnica. Las modificaciones útiles incluyen, por ejemplo, acetilación terminal, amidación, mutilación, etc. En algunas modalidades, las proteínas pueden comprender aminoácidos

15 naturales, aminoácidos no naturales, aminoácidos sintéticos, y sus combinaciones. El término "péptido" generalmente se usa para referirse a un polipéptido que tiene una longitud menor de aproximadamente 100 aminoácidos, menor de aproximadamente 50 aminoácidos, menor de aproximadamente 20 aminoácidos, o

20 menor de aproximadamente 10 aminoácidos. En algunas modalidades, las proteínas son anticuerpos, fragmentos de anticuerpo, sus proteínas biológicamente activas, y/o sus porciones características.

Infección HCV recurrente: Como se utiliza en la

25 presente, una "infección HCV recurrente" se refiere a la

reaparición de la evidencia clínica y/o de laboratorio de la infección, uno o más síntomas de infección o la presencia de partículas HCV en circulación y/o partículas HCV en el hígado del sujeto. En algunas modalidades, una infección HCV
5 recurrente se refiere a una afección en un sujeto que ha sido previamente infectada con HCV pero no ha recibido un trasplante de hígado.

Molécula pequeña: En general, una "molécula pequeña" se entiende en la técnica como una molécula orgánica
10 que es menor de aproximadamente 2000 g/mol, menor de aproximadamente 1500 g/mol, menor de aproximadamente 1000 g/mol, menor de aproximadamente 800 g/mol, o menor de aproximadamente 500 g/mol. En algunas modalidades, las moléculas pequeñas no son poliméricas. En algunas
15 modalidades, las moléculas pequeñas no son proteínas, péptidos o aminoácidos. En algunas modalidades, las moléculas pequeñas no son ácidos nucleicos o nucleótidos. En algunas modalidades, las moléculas pequeñas no son sacáridos o polisacáridos.

20 *Sujeto:* Como se utiliza en la presente, el término "sujeto" o "paciente" se refiere a cualquier organismo al cual se puede administrar una composición de esta invención, por ejemplo, para propósitos experimentales, de diagnóstico, profilácticos y/o terapéuticos. Los sujetos típicos incluyen
25 animales (por ejemplo, mamíferos tales como ratones, ratas,

conejos, primates no humanos y humanos; insectos; gusanos; etc.). En algunas modalidades, un sujeto puede infectarse con, sufrir de, y/o ser susceptible a HCV.

Sustancialmente: Como se utiliza en la presente, el término "sustancialmente" se refiere a la condición cualitativa del grado de exhibición total o casi total o el grado de una característica o propiedad de interés. Un experto en la técnica biológica entenderá que el fenómeno biológico y químico raramente, si existe alguno, llega a la finalización y/o avanza hacia la finalización o logra o evita un resultado absoluto. El término "sustancialmente" por consiguiente se utiliza en la presente para capturar la falta potencial de compleción en muchos fenómenos biológicos y químicos.

Que sufre de: Un individuo que "sufre de" una enfermedad, trastorno y/o afección, (por ejemplo, infección HCV) ha sido diagnosticado con y/o despliega uno o más de los síntomas de una enfermedad, trastorno y/o afección.

Susceptible de: Un individuo que es "susceptible de" una enfermedad, trastorno y/o afección (por ejemplo, infección HCV. No ha sido diagnosticado con una enfermedad, trastorno y/o afección. En algunas modalidades, un individuo que es susceptible a una enfermedad, trastorno y/o afección puede exhibir síntomas de la enfermedad, trastorno y/o afección. En algunas modalidades, un individuo que es

susceptible a una enfermedad, trastorno y/o afección puede no exhibir síntomas de la enfermedad, trastorno y/o afección. En algunas modalidades un individuo que es susceptible a la enfermedad, trastorno y/o afección desarrollará la enfermedad, trastorno y/o afección. En algunas modalidades, un individuo que es susceptible a la enfermedad, trastorno y/o afección no desarrollará la enfermedad, trastorno y/o afección.

Cantidad terapéuticamente efectiva: Como se utiliza en la presente, el término "cantidad terapéuticamente efectiva" significa una cantidad de la composición de la invención que es suficiente, cuando se administra a un sujeto que sufre de, o es susceptible de una enfermedad, trastorno y/o afección (por ejemplo, infección HCV), para tratar, diagnosticar, prevenir y/o retrasar el inicio de la enfermedad, trastorno y/o afección.

Agente terapéutico: Como se utiliza en la presente, la frase "agente terapéutico" se refiere a cualquier agente que, cuando se administra un sujeto, tiene un efecto terapéutico y/o provoca un efecto biológico y/o farmacológico deseado. En algunas modalidades, un agente terapéutico es cualquier sustancia que puede utilizarse para aliviar, mitigar, relevar, inhibir, prevenir, retrasar el inicio de, reducir la severidad de y/o reducir la incidencia de uno o más síntomas o características de la infección HCV.

Tratar: Como se utiliza en la presente, el término "tratar", "tratamiento", o "tratando" se refiere a cualquier método utilizado para parcial o completamente aliviar, mitigar, relevar, inhibir, prevenir, retrasar el inicio de, 5 reducir la severidad de, y/o reducir la incidencia de uno o más de los síntomas o características de una enfermedad, trastorno, y/o afección (por ejemplo, infección HCV). El tratamiento puede administrarse a un sujeto que exhibe signos de la enfermedad, trastorno y/o condición. En algunas 10 modalidades, el tratamiento puede administrarse a un sujeto que exhibe solamente signos tempranos de la enfermedad, trastorno y/o afección con el propósito de disminuir el riesgo de desarrollar la patología asociada con la enfermedad, trastorno y/o afección.

15 *Vector:* Como se utiliza en la presente, "vector" se refiere a una molécula de ácido nucleico capaz de transportar otro ácido nucleico con el cual está asociado. En algunas modalidades, los vectores son capaces de la replicación extra-cromosómica y/o la expresión de ácidos nucleicos a los 20 cuales se enlaza una célula hospedera tal como una célula eucariota y/o procariota. Los vectores capaces de dirigir la expresión de genes operativamente enlazados son referidos en la presente como "vectores de expresión".

Nomenclatura HCV

25 Es bien conocido por los expertos en la técnica que

la nomenclatura HCV típicamente utiliza un número Arábigo por ejemplo, "1", "2", "3", "4", etc.) que representa el genotipo HCV y una letra en minúsculas (por ejemplo, "a", "b", etc.) que representa el subtipo HCV. Aunque las reglas de la nomenclatura son generalmente aceptadas en la técnica, los expertos en la técnica reconocen que las reglas de la nomenclatura no siempre son estrictamente seguidas por el experto en la técnica en las publicaciones, presentaciones, conversación, etc. De esta forma, los expertos en la técnica reconocería que, por ejemplo, es implícito que "HCV 1a", "genotipo 1a HCV", y "subtipo 1a HCV", podría utilizarse de manera intercambiado por un experto en la técnica, y que las tres formas pretenden referirse al genotipo 1, subtipo a de HCV.

Como se utiliza en la presente, Los números Arábigos (por ejemplo, "1", "2", "3", "4", etc.) se utilizan para referirse al genotipo HCV, y las letras en minúsculas (por ejemplo, "a", "b", etc.) se utilizan para referirse a los subtipos de HCV. También se entiende que, cuando HCV de un genotipo particular es referido en la presente, significa que abarca todos los subtipos del genotipo nombrado. Para dar un ejemplo, "genotipo 1" es utilizado en la presente para referirse a todos los subtipos del genotipo 1 (por ejemplo, genotipo 1, subtipo a; genotipo 1, subtipo b; etc.).

Como se utiliza en la presente, cualquier número

Arábigo (por ejemplo, "1", "2", "3", "4", etc.) que está presente después de las designaciones de genotipo y subtipo se entenderá que se refiere a la cepa HCV.

Breve Descripción de las Figuras

5 Figura 1: Unión a diferentes genotipos HCV a través del ensayo inmunofluorescente indirecto. Se transfectaron células 293T con los constructos que llevan las secuencias E1E2 de los genotipos 1 a 6. Veinticuatro horas después de la transfección, las células se fijaron sobre portaobjetos y se
10 detectó la unión del anticuerpo a células fijas a través de microscopía fluorescente. HC-1, HC-3, HC-11, y CBH-23 se unieron a los genotipos 1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 4, 5, y 6.

 Figura 2: Secuencias CDR del dominio V_L y V_H dominio de anticuerpos monoclonales traducidos de secuencias ADNc. El
15 análisis reveló que cada anticuerpo contiene diferentes secuencias CDR de V_L y V_H .

 Figura 3: Tipificación de la subclase IgG. HC-1 es IgG2, mientras HC-3, HC-11, y CBH-23 son IgG1.

 Figura 4: Neutralización con diferentes genotipos
20 HCV. Cada anticuerpo se ensayó a 20 μ g/ml para su habilidad para neutralizar diferentes genotipos HCV. Los números están porcentaje de neutralización comparado con un control no de anticuerpo. RO4 es un anticuerpo monoclonal humano coincidente con el isotipo de HCMV y sirve como un control
25 negativo.

^a: HCVpp es HCV en pseudo-partículas

^b: HCVcc es viriones HCV infeccioso cultivados de célula

^d: Número es el porcentaje de neutralización

5 ^c: No disponible

Figura 5: Ensayo de competencia de anticuerpo. El análisis de competencia con dominios A marcados con biotina representativos (CBH-4D), B (CBH-5), y anticuerpos C (CBH-7) HCV se llevó a cabo. HC-1 y HC-11 demostraron una competencia
10 mínima con los anticuerpos de los dominios A y C, y 60%-80% de competencia con CBH-5, lo que sugiere que los epítopos reconocidos por estos nuevos anticuerpos se localizan dentro del dominio B. CBH-23 mostró una mínima o nada de competencia con los anticuerpos de los dominios A y B, y >90% de
15 competencia con CBH-7, sugiriendo que este tipo se localiza dentro del dominio C. HC-3 demostró una competencia mínima o nada de competencia con los anticuerpos de los dominios A, B, y C, lo que sugiere que este reconoce un nuevo dominio diferente. Cada anticuerpo de control (es decir, CBH-4D, CBH-
20 5 y CBH-7) se inhibe a sí mismo y mínimamente inhibe a los otros dos anticuerpos.

Figura 6: Inhibición de la unión de E2 a CD81 a través de anticuerpos monoclonales humanos. El genotipo E1E2 1b expresado en 293T conteniendo 1 µg/ml E2 se incubó con
25 cada anticuerpo de prueba a 10 µg/ml y el complejo de anti-

antígeno después se agregó en las cavidades pre-cubiertas con CD81. La detección de la unión de E2 a CD81 se midió con CBH-4D bioteñido. CBH-5 se utilizó como control positivo y RO4 como control negativo. La pre-incubación de las glicoproteínas E2 con HC-1, HC-11, CBH-23, o CBH-5 se redujo en aproximadamente 90% la unión de E2 a CD81 comparado con el RO4 negativo. Similarmente a los otros anticuerpos del dominio B o C HCV, esos anticuerpos HCV neutralizaron HCV mediante el bloqueo de la unión de E2 a CD81. En contraste, la pre-incubación de las glicoproteínas E2 en la presencia de HC-3 no redujo la unión de E2 a CD81. Los experimentos se llevaron a cabo dos veces por triplicado. Las barras de error indican una desviación estándar de la media.

Figuras 7A y 7B: Mapeo del epítipo de HC-1 y HC-11 a través del reemplazo de alanina. Las mutaciones se introdujeron en E2 de la cepa H77c del genotipo 1a (No. de acceso GenBank AF009606) a través de mutagénesis dirigida al sitio (Strategene, CA). Las proteínas E2 mutadas se expresaron en células 293T y se analizaron a través de ELISA. Los aminoácidos mutados se describen en el eje y. El número al inicio de cada péptido corresponde a la posición en la poliproteína de la cepa H de referencia. Los anticuerpos (Fig. 7A) HC-1 y (Fig. 7B) HC-11 HCV se unen a cada mutante que se expresa como porcentaje del valor de unión normalizado a través de la unión de CBH-17 y dividido por la unión del

anticuerpo HC al tipo silvestre en el eje x.

Figura 8: Mapeo del epítipo de HC-3 a través del reemplazo de alanina. El reemplazo de alanina se llevó a cabo como se muestra en las Figuras 7A y 7B.

5 Figura 9: Curso del tiempo de la neutralización mediada por el anticuerpo de infección HCVpp. Para aproximar el paso en donde HC-3 se inhibe durante la trayectoria completa, se llevó a cabo un estudio de curso de tiempo comparado con el dominio B y anticuerpo para CD81. Existen
10 patrones similares de avance perdidos en el bloqueo de la entrada el virus con ambos, el anticuerpo anti-CD81 y HCV del dominio B, HC-11. Esto se espera como el dominio de los anticuerpos B HCV que inhiben la entrada del virus a través del bloqueo de E2 de unión a CD81. La similitud de los
15 patrones con HC-3 con estos dos anticuerpos sugiere que HC-3 inhibe la entrada del virus en un paso temporal cerca de la interacción con CD81. Esto incluye la posible inhibición de la interacción de E2 con un co-receptor HCV diferente, tal como SR-B1 o un paso inmediatamente después de la conexión de
20 CD81.

Figura 10: El epítipo HC-3 está involucrado en la dimerización E1-E2. Comparado con los mutantes R657A y D658A H77c, HCVpp, (y a un grado menor F679A) demostraron una reducción significativa en E1 en el gránulo de soporte HCVpp.
25 Esto sugiere que estos residuos están involucrados en la

formación del heterodímero entre E1 y E2. Estos residuos no han sido previamente identificados como estando involucrados en la dimerización E1E2. Se observaron observaciones similares con E1E2 de lisados celulares. El mutante E431A
5 sirve como un control de una mutación que no afecta la formación del heterodímero.

Figura 11: Efecto de la mutagénesis del epítipo HC-3 sobre la ineffectividad de HCVpp. Se determinó la ineffectividad del virus que tiene mutaciones R657A, D658A y
10 F679A, L692A, I696A, o D698A. Cada mutación es letal para el virus. Una mutación de control en E431A no mostró ningún cambio.

Descripción Detallada de la Invención

La presente invención proporciona anticuerpos que
15 reconocen la glicoproteína 2 de envoltura (E2) del virus de hepatitis C (HCV). En algunas modalidades, los anticuerpos E2 HCV son anticuerpos monoclonales, tales como anticuerpos monoclonales humanos. En algunas modalidades, los anticuerpos E2 HCV se unen a E2 asociado con uno o más de los genotipos
20 y/o subtipos del virus de hepatitis C. En algunas modalidades, los anticuerpos E2 de HCV son útiles para aplicaciones terapéuticas, de diagnóstico y/o profilácticas. La presente invención proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden los anticuerpos E2 de HCV y métodos para
25 tratar pacientes utilizando los anticuerpos E2 de HCV.

En algunas modalidades, los anticuerpos E2 de HCV se identifican y se aíslan de suero de pacientes infectados. Como se describe en los ejemplos, se produjo y caracterizó un grupo de anticuerpos monoclonales humanos de células B periféricas de tres individuos infectados con HCV que tienen una neutralización en suero de concentraciones de unión. Cuatro anticuerpos monoclonales humanos para E2 HCV se produjeron y aislaron, HC-1, HC-3, HC-11, y CBH-23. Los cuatro anticuerpos se unen a los genotipos 1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 4, 5, y 6 de HCV (Figura 1). Estos anticuerpos se unen a epítomos adaptativos, que se conservan a través de los tipos y genotipos virales. HC-1, HC-11 y CBH-23 inhiben la interacción de la proteína E2 con CD81 (Figura 6). HC-3 no inhibe la unión de E2 a CD81 (Figura 6).

En algunas modalidades, los anticuerpos E2 de HCV de acuerdo con la invención proporcionan la neutralización de un amplio espectro de genotipos y/o subtipos de HCV. Ambos, la amplitud de la reactividad a múltiples genotipos y/o subtipos HCV y la habilidad de interferir con la unión de los viriones HCV a células susceptibles son deseables para un anticuerpo neutralizante terapéuticamente útil. La presente invención también proporciona el diseño del péptido y los miméticos estructurales no de péptido de proteínas de envoltura HCV.

Virus de Hepatitis C Virus (HCV)

El virus de hepatitis C (HCV) es un virus de

envoltura, la información del cual se codifica en un genoma de ARN de estructura positiva de 9.5 kb. Una región no de codificación altamente conservada de 341 bp se localiza en el extremo 5' del genoma viral, que es seguido por un marco de lectura abierto largo que codifica una poliproteína de aproximadamente 3,010 aminoácidos. Dos glicoproteínas de envoltura putativas E1 (gp35) y E2 (gp72) han sido identificadas con 5 ó 6 y 11 sitios de glicosilación N-enlazados, respectivamente. Un alto nivel de la variabilidad genética está asociado con los genes de envoltura. Esta variabilidad está altamente acentuada en el extremo 5' del gen E2, en donde dos regiones hipervariables denominadas HVR1 y HVR2, han sido descritas. Los anticuerpos para HVR1 parece que median la neutralización del virus en el cultivo celular y los estudios de protección de chimpancé (Farci et al., 1996, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 93:15394-15399; y Shimizu et al., 1994, *J. Virol.*, 68:1494-1500; ambas de las cuales se incorporan aquí por referencia). Aunque el avance ha sido hecho al inducir una respuesta inmunitaria más amplia a secuencias relacionadas con HVR1 (Puntoriero et al., 1998, *EMBO J.*, 17:3521-3533; incorporada por referencia en la presente), desafortunadamente, los anticuerpos para HVR1 tienden a ser específicos del aislado y con el tiempo conducen la replicación de nuevas variantes virales que la respuesta inmunitaria existente no reconoce (Farci et al.,

1994, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 91:7792-7796; Weiner et al., 1992, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 89:3468-3472; y Kato et al., 1993, *J. Virol.*, 67:3923-3930; todas las cuales se incorporan aquí por referencia). Los antígenos de envoltura
5 HCV parece que son altamente inmunogénicos cuando se expresan en formas glicosiladas (da Silva Cardoso et al., 1997, *Ann. Hematol.*, 74:135-7; incorporada por referencia en la presente). Los datos preliminares sugieren la existencia de epítomos conservados dentro de la proteína E2 (Lesniewski et
10 al., 1995, *J. Med. Virol.*, 45:415-22; incorporada por referencia en la presente). La existencia de anticuerpos neutralizantes en el suero de pacientes infectados ha sido propuesta.

Los estudios utilizando proteínas E1-E2 de HCV
15 expresadas en células de mamífero han demostrado que los individuos infectados tienen una respuesta al anticuerpo para E2 HCV compuesta en parte por epítomos que son ambos adaptativos y lineales en naturaleza (Harada et al., 1994, *J. Gen. Virol.*, 76:1223-1231; incorporada por referencia en la
20 presente). Los estudios que involucran el aislamiento de anticuerpos monoclonales o recombinantes humanos para la proteína E2 de HCV demostraron que una fracción sustancial de estos anticuerpos reconocen a los epítomos adaptativos (da Silva Cardoso et al., 1998, *J. Med. Virol.*, 55:28-34;
25 incorporada por referencia en la presente). Como la función

biológica de estos dominios, los investigadores han utilizado ensayos sustitutos para proporcionar ideas sobre la neutralización viral ya que el virus no puede crecer *in vitro* (Houghton, "Hepatitis C viruses", In Fields, Knipe, Howley (eds.) *Virology*, Lippincott-Raven, Philadelphia, 1035-1058; 5 incorporada por referencia en la presente). Un ensayo sustituto, el ensayo de la neutralización de unión (NOB), evalúa la habilidad de un anticuerpo o suero dado para evitar la asociación de la proteína E2 de HCV con una línea celular 10 T humana (Rosa *et al.*, 1996 *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 93:1759-1763; incorporada por referencia en la presente). El hallazgo de que los anticuerpos séricos obtenidos de chimpancés protegidos por la vacunación fueron fuertemente positivos en el ensayo NOB proporciona soporte para la 15 relevancia del ensayo como una medición de la actividad neutralizante del virus (Rosa *et al.*, *supra*; y Ishii *et al.*, 1998, *Hepatology*, 28:1117-1120; ambas incorporadas por referencia en la presente).

La proteína de superficie celular de tetraspanina 20 humana CD81 (también conocida como TAPA-1; para revisión ver Levy *et al.*, 1998, *Ann. Rev. Immunol.*, 16:89-109; incorporada por referencia en la presente) es la proteína objetivo unida a través de E2 de HCV en el ensayo NOB (Pileri *et al.*, 1998, *Science*, 282:938-941; incorporada por referencia en la 25 presente). Además, el CD81 humano se une a viriones libres, y

posteriormente es un posible receptor para HCV (Pileri et al., supra). Sin embargo, se conoce poco acerca de la conservación de los epítomos reconocidos por los anticuerpos positivos NOB previamente identificados en proteínas E2 de HCV de diferentes genotipos y/o subtipos.

Otros métodos para la detección y la protección contra HCV incluyen el desarrollo de miméticos de péptido. Como un ejemplo, los miméticos de péptido de proteínas virales de tipo A y C de hepatitis han sido creados a través de la producción de colecciones de péptido sintéticas y de despliegue de fago aleatoriamente generadas para utilizarse en ensayos de detección y terapias de vacunación (Mattioli et al., 1995, *J. Virol.*, 69:5294-5299; y Prezzi et al., 1996, *J. Immunol.*, 156:4504-4513; ambas incorporadas por referencia en la presente). Sin embargo, la unión del anticuerpo efectiva de estos mimótopos solamente solamente se ha comparado con epítomos víricos linealmente definidos. La fusión recombinante secuencial de varios epítomos HCV inmunodominantes linealmente definidos ha sido descrita para utilizarse en ensayos de diagnóstico (Chein et al., 1999, *J. Clin. Microbiol.*, 37:1393-1397; incorporada por referencia en la presente). Sin embargo, este antígeno de fusión de epítomos múltiples diseñado para los epítomos lineales no fue creado para funcionar en la misma capacidad que el mimético adaptativo. No se diseñó para interferir con la unión a un

receptor objetivo.

Las referencias que proporcionan información de antecedentes concernientes a HCV incluyen Abrignani, 1997, *Springer Semin. Immunopathology*, 19:47-55; Simmonds, 1995, *Hepatology*, 21:570:583; y Mahaney et al., 1994, *Hepatology*, 20:1405-1411; todas las cuales se incorporan aquí por referencia. Los constructos de virus o baculovirus de vacuna que tienen una porción del genoma HCV se describen en Ralston et al. (1993, *J. Virology*, 67:6733-6761; incorporada por referencia en la presente) y Lanford et al. (1993, *Virology*, 197:225-235; incorporada por referencia en la presente).

Anticuerpos HCV

Los genes de glicoproteína de envoltura HCV despliegan algunos de los niveles más altos de heterogeneidad genética a través de los genotipos y subtipos, con E2 desplegando una mayor variabilidad que E1. Una región hipervariable (HVR1) encontrada en el término N de E2 es altamente inmunogénica y es la determinante principal de las respuestas del anticuerpo neutralizante específicas del aislado (Farci et al., 1996, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 93:15394; y Shimizu et al., 1994, *J. Virol.*, 68:1494; ambas incorporadas por referencia en la presente). Un estudio de los aislados HCV secuencial obtenido de muestras séricas recolectadas durante un periodo de 26 años de un paciente específico mostraron que los anticuerpos séricos fallan al

neutralizar las especies E1E2 dominantes concurrentes presentes en el mismo punto en el tiempo (von Hahn et al., 2007, *Gastroenterology*, 132:667; incorporada por referencia en la presente). El escape está asociado con las mutaciones
5 en HVR1 que conduce a la disminución de la unión y a la neutralización de los anticuerpos monoclonales a HVR1 que se produjo para el aislado anterior obtenido de este paciente. Los anticuerpos más ampliamente neutralizantes usualmente están dirigidos contra epítomos adaptativos dentro de E2
10 (Allander et al., 2000, *J. Gen. Virol.*, 81:2451; Bugli et al., 2001, *J. Virol.*, 75:9986; Habersetzer et al., 1998, *Virology*, 249:32; Hadlock et al., 2000, *J. Virol.*, 74:10407; y Ishii et al., 1998, *Hepatology*, 28:1117; todas las cuales se incorporan aquí por referencia).

15 Los presentes inventores previamente describieron un panel de anticuerpos monoclonales humanos neutralizantes y no neutralizantes para epítomos adaptativos en E2 HCV derivados de células B de un individuo infectado con el genotipo 1b HCV. A través del análisis recíproco se
20 identificaron tres clústeres inmunogénicos de epítomos traslapados con diferentes funciones y propiedades (Keck et al., 2005, *J. Virol.*, 79:13199; y Keck et al., 2004, *J. Virol.*, 78:9224; ambas incorporadas por referencia en la presente). Todos anticuerpos no neutralizantes cayeron dentro
25 de un clúster designado como dominio A (Keck et al., 2005, *J.*

Virology, 79:13199; incorporada por referencia en la presente). Los anticuerpos neutralizantes se segregaron en dos clústeres, designados como dominios B y C, con los anticuerpos del dominio B teniendo mayor potencia que los anticuerpos del dominio C en el bloqueo con la infección por el virus del cultivo celular infeccioso del genotipo 2a (HCVcc) (Keck et al., 2007, *J. Virology*, 81:1043; incorporada por referencia en la presente). Todos los anticuerpos del dominio B así como los anticuerpos C mostraron que inhiben la unión de E2 a CD81, un receptor para HCV mostró que es esencial para la entrada de HCVpp y HCVcc en las células hospederas (Hsu et al., 2003, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 100:7271; y Tscherne et al., 2006, *J. Virology*, 80:1734; ambas incorporadas por referencia en la presente).

Aunque los anticuerpos para los epítomos traslapados dentro del dominio B fueron previamente aislados de un individuo infectado con HCV, permanece dudoso el grado en que los epítomos del dominio B en E2 son objetivos dominantes de la respuesta inmunitaria. El Ejemplo 1 describe el aislamiento de dos nuevos anticuerpos monoclonales humanos HC-1 y HC-11, de un individuo infectado con HCV del genotipo 1a que compite de manera recíproca con los anticuerpos del dominio B del panel anterior, de esta forma expandiendo el número de epítomos traslapados dentro de este dominio. Estos anticuerpos están dirigidos a epítomos adaptativos

conservados entre todos los genotipos y/o subtipos; neutralizar HCVpp y HCVcc, con algunos teniendo una mayor potencia que la previamente observada con otros anticuerpos en este dominio. El mecanismo de neutralización con esos anticuerpos es a través de la inhibición de la unión de E2 a CD81. Además, los estudios de sustitución de alanina E2 en una región que ha sido definida para conectarse con CD81 (Owsianka et al., 2006, *J. Virol.*, 80:8695; incorporada por referencia en la presente) mostró que algunos residuos de contacto dentro de estos epítomos de anticuerpo HCV son los mismos residuos de contacto necesarios para unión de E2 a CD81. Un tercer anticuerpo monoclonal humano, CBH-23, se aisló de un individuo infectado con HCV genotipo 1b. CBH-23 compite de manera recíproca con un anticuerpo representativa para el dominio C, y media la neutralización a través de la inhibición de la unión de E2 a CD81. Un cuarto anticuerpo monoclonal humano, HC-3, se aisló de un individuo infectado con HCV genotipo 1b. HC-3 no compite de manera recíproca con los anticuerpos del dominio A, B, y C representativos del panel anterior, de esta indicando un nuevo dominio, designado D. HC-3 no inhibe la unión E2 a CD81 (Figura 6). La presente invención abarca el reconocimiento de mecanismo a través de los cuales HC-3 media la neutralización del virus que ocurre a aproximadamente el mismo tiempo durante la entrada del virus cuando el virus interactúa con CD81. Aunque no se desee

estar unido a ninguna teoría en particular, HC-3 puede mediar la neutralización del virus mediante el bloque de la unión del virus, que ocurre antes de la unión de E2 CD81; bloquear la interacción del virus con un co-receptor diferente justo
5 antes o después de la unión E2 a CD81; y/o bloquear un cambio en la conformación en una o más glicoproteínas de envoltura víricas involucradas en una entrada del virus exitosa.

En virtud de una variedad de perfiles de unión de los anticuerpos, los ensayos de diagnóstico pueden
10 utilizarse, los cuales destacarán una pluralidad de tipos y genotipos y/o subtipos, para así proporcionar un anticuerpo pan-anti-HCV. En algunas modalidades, los anticuerpos pueden utilizarse para la inmunización pasiva, como terapia protectora para individuos en riesgo de HCV o como terapia
15 para personas que son seropositivas para HCV.

Las referencias relacionadas con el uso de los anticuerpos para HCV incluyen Akatsuka et al., 1993, *Hepatology*, 18:503-510; DeLalla et al., 1993, *J. Hepatol.*, 18:163-167; Mondelli et al., 1994, *J. Virol.*, 68:4829-4836;
20 Siemoneit et al., 1994, *Hybridoma*, 13:9-13; y Moradpour et al., 1996, *J. Med. Virol.*, 48:234-241; todas las cuales se incorporan aquí por referencia.

Los anticuerpos HCV de acuerdo con la invención ofrecen varias ventajas sobre los anticuerpos existentes
25 contra HCV. Debido a que las secuencias de aminoácido

primarias no homólogas pueden aún definir estructuras proteicas tridimensionales inmunológicamente idénticas, los anticuerpos que se unen a epítopos estructurales conservados pueden reconocer múltiples genotipos HCV secuencialmente

5 divergentes y/o subtipos en conformación nativa, mientras los anticuerpos que reconocen solamente epítopos lineales o desnaturalizados no pueden. En particular, los anticuerpos que reconocen epítopos adaptativamente dependientes de E2 pueden efectivamente interferir con la interacción del virus

10 HCV con su receptor objetivo celular. El uso de los anticuerpos que reconocen epítopos adaptativamente dependientes para interferir activamente con la habilidad del virus HCV nativo para unirse a receptores de célula objetivo (por ejemplo, CD81) tienen un aplicación terapéutica

15 específica para reducir la carga viral en individuos infectados, y/o evitar la infección o la re-infección de órganos en individuos no infectados (por ejemplo, a través de (i) el reconocimiento de las proteínas E2 de HCV verificadas por diferentes genotipos y/o subtipos HCV; (ii) la unión de

20 las partículas HCV; y/o (iii) evitar la unión y la entrada de partículas virales HCV a sus células objetivo), particularmente en receptores con recientes trasplantes de órganos, individuos que experimentan diálisis renal, bebés que nacen de madres infectadas con HCV, y/o individuos que

25 experimentan tratamientos por hemofilia u otros trastornos de

coagulación de sangre. En algunas modalidades, otros receptores incluyen individuos recientemente expuestos a HCV (por ejemplo, a través de la exposición a fluidos corporales que contienen HCV). En algunas modalidades, los anticuerpos HCV pueden ser útiles para el tratamiento de pacientes con cepas de HCV que son idénticas a la cepa de HCV de las cuales los anticuerpos surgieron. En algunas modalidades, los anticuerpos HCV pueden ser útiles para el tratamiento de pacientes con cepas de HCV que son diferentes de la cepa de HCV del cual los anticuerpos surgieron. Ambos anticuerpos HCV individuales y un coctel de varios anticuerpos HCV que reconocen varios epítomos pueden utilizarse.

En algunas modalidades, los anticuerpos HCV pueden interferir con la infección viral asociado con E2 a través de mecanismos diferentes de la prevención de la interacción directa con CD81. En algunas modalidades, los anticuerpos HCV pueden interferir con la ineffectividad vírica a través de un número de posibles mecanismos, que incluyen la prevención de la unión de E2 a las proteínas co-receptoras, alterar los cambios adaptativos en proteína E2 necesarios para unión de la célula objetivo, la inhibición de la fusión viral mediada por E2 a células objetivo, y/o la inhibición de la remoción de las capas de los viriones HCV. En algunas modalidades, los anticuerpos HCV que directamente interfieren con la unión de E2 a CD81 pueden efectivamente complementar los anticuerpos

HCV que interfieren con la ineffectividad a través de otros mecanismos.

Los anticuerpos HCV de acuerdo con la invención que reconocen epítomos virales y que interfieren con la interacción del virus/receptor objetivo y los epítomos virales que se unen a tales anticuerpos también pueden servir como plantillas para racionalmente designar el péptido y otros mimicos estructurales de los epítomos virales. Los mimicos moleculares estructurales definidos por estos anticuerpos HCV encuentran uso en su habilidad para bloquear la unión del virus nativo a los receptores objetivos mediante la unión al receptor objetivo mismo.

Mediante la producción de anticuerpos monoclonales humanos o humanizados, es posible analizar directamente la respuesta inmunitaria humana para HCV. En algunos casos, es deseable utilizar anticuerpos monoclonales humanos o humanizados. A través del uso de anticuerpos monoclonales humanos, las respuestas inmunitarias junto a los anticuerpos mismos como antígenos foráneos puede minimizarse, mientras las respuestas inmunitarias vigorosas se general típicamente contra anticuerpos monoclonales producidos de fuentes no humanas, porque estas se reconocen como antígenos foráneos. La selección de anticuerpos HCV que reconocen epítomos adaptativos virales conservados proporciona aplicaciones terapéuticas más amplias y más efectivas de estos reactivos

para mitigar o prevenir la infección por HCV que los anticuerpos capaces de unirse solamente a epítomos lineales o desnaturalizados. Los anticuerpos descritos en la presente reconocen los epítomos adaptativos, que son proteínas E2 HCV
5 altamente conservadas de múltiples diferentes genotipos y/o subtipos. De esta forma, los anticuerpos descritos en la presente tienen la ventaja de que son más potentes contra un amplio intervalo de aislados HCV, que muchos anticuerpos neutralizantes previamente descritos. Una ventaja adicional
10 es que la alta conservación de los epítomos reconocida por los anticuerpos descritos en la presente indica que estos anticuerpos reconocen secuencias con significancia funcional y/o estructural dentro de la proteína E2 HCV. De esta forma los péptidos o las moléculas pequeñas aisladas con estos
15 anticuerpos tienen una probabilidad de ser regiones funcionales dentro de E2 HCV.

Producción y Caracterización de Anticuerpos HCV

La estrategia global utilizada para el desarrollo de los anticuerpos HCV del tema se describe en el Ejemplo 1.
20 En breve, (1) individuos con evidencia de exposición a HCV se identificaron; (2) las células B específicas del antígeno de sangre periférica se expandieron y activaron *in Vitro*; (3) estas células se immortalizaron a través de electrofusión con un heteromiéloma de ratón-humano adecuado; (4) el anticuerpo
25 relevante que secreta hibridomas se identificó; y (5) los

hibridomas relevantes se estabilizaron por clonación. Esta estrategia dio como resultado la identificación de anticuerpos HCV que son específicos para la proteína E2 HCV y que se unen a epítomos adaptativos de E2 de genotipos HCV 1a, 5 1b, 2a, 2b, 3a, 4, 5, y 6 (Figura 1).

Como se describe en el Ejemplo 1, las células B periféricas de individuos con ya sea infección 1a o 1B HCV y con altas actividades neutralizantes del anticuerpo sérico se utilizaron para producir y caracterizar un panel de 10 anticuerpos monoclonales humanos. La clasificación inicial hace uso de una proteína E2 del genotipo 1b para clasificar anticuerpos derivados de un donador infectado 1a, o la proteína E2 1a para clasificar anticuerpos derivados de un donador infectado con 1b. Este paso tiene influencia en el 15 método de clasificación utilizado para la selección de anticuerpos para epítomos conservados entre los genotipos 1a y 1b ya que el donador estaba infectado con cualquier aislado del genotipo 1a o 1b. Los anticuerpos identificados por tal clasificación (es decir, HC-1, HC-3, HC-11, y CBH-23) no 20 reconocen la proteína E2 a través de Western Blot, pero sí reconocen la proteína E2 a través de inmunoprecipitación. Estos resultados sugieren que estos anticuerpos HCV reconocen los epítomos adaptativos.

Los anticuerpos HCV HC-1, HC-3, HC-11, y CBH-23 25 todos fueron capaces de unirse a E1E2 de los genotipos HCV

1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 4, 5, y 6 (Figura 1). HC-1 y HC-11 neutralizan la mayor parte de los genotipos HCV 1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 4, 5, y 6 HCVpp 1a (Figura 4) y la infección 1b, así como la infección 1a y 2a HCVcc (Figura 4). HC-3 fue capaz de neutralizar HCVpp 1a y HCVcc 2a. HC-3 neutraliza la HCVpp y 2a HCVcc (Figura 4), y CBH-23 neutraliza el genotipo 1a, 1b, 2a HCVpp, y 2a HCVcc (Figura 4). Estos datos indican que los cuatro anticuerpos HCV son capaces de reconocer y neutralizar múltiples genotipos HCV. Los ensayos de captura CD81 mostraron que tres de estos cuatro anticuerpos (es decir, HC-1, HC-11, y CBH-23) son capaces de bloquear la interacción de E2 y CD81. (Figura 6). La presente invención muestra que los epítomos que parcial o completamente se traslapan con el sitio de unión CD81 dentro de E2 HCV son ambos adaptativos en naturaleza y altamente conservados. Un alto grado de conservación de secuencia en el sitio de unión CD81 es consistente con la proposición de que la interacción entre E2 HCV y CD81 es biológicamente relevante. La presente invención abarca el reconocimiento de que, ya que HC-3 neutraliza 1a y 2a de HCV pero no inhibe la unión de E2 a CD81, HC-3 podría utilizarse como mecanismos alternativos para la neutralización vírica.

El análisis de competencia ha sido utilizado para definir anticuerpos con sitios de unión similares en E2 HCV. Los anticuerpos HCV previamente identificados que reconocen

uno de los dominios A, B, o C de E2 HCV se biotiniaron, y la unión de los anticuerpos bioteñidos para E2 HCV en la presencia de cantidades en aumento de anticuerpos HCV de competencia (es decir, HC-1, HC-3, HC-11, y CBH-23) se determinó. Los anticuerpos HCV HC-1 y HC-11 efectivamente compite con los anticuerpos que reconocen el dominio B, pero no los dominios A o C. CBH-23 efectivamente compite con un anticuerpo que reconoce el dominio C y no los dominios A o B. HC-3 no compite con ningún anticuerpo del dominio A, B o C.

Estos resultados indican que los epítomos adaptivos dentro de la glicoproteína E2 de HCV están altamente conservados entre los genotipos y/o subtipos HCV divergente. Los anticuerpos que reconocen estos epítomos son útiles como reactivos para mejor definir la estructura de E2 de HCV. Además, los anticuerpos que inhibieron la unión de los viriones HCV a CD81 humano demostraron que media la neutralización vírica de los modelos HCVpp y HCVcc, que son modelos HCV bien aceptados en la técnica. Ciertamente, el experto en la técnica reconoce que la neutralización exitosa de HCVpp y/o HCVcc es predictiva de actividad terapéutica *in vivo* (ver, por ejemplo, Lavie et al., 2007, *Curr. Issues Mol. Biol.*, 9:71-86; Bartosch et al., 2003, *J. Exp. Med.*, 197:633-642; y Law et al., 2008, *Nat. Med.*, 14:25-27; todas las cuales se incorporan aquí por referencia).

De esta forma, la presente invención proporciona

anticuerpos E2 de HCV HC-1, HC-3, HC-11, y/o CBH-23. La presente invención proporciona anticuerpos que reconocen el mismo o epítomos similares que HC-1, HC-3, HC-11, y/o CBH-23. En algunas modalidades, en algunas modalidades, la invención
5 proporciona anticuerpos que compiten con HC-1, HC-3, HC-11, y/o CBH-23 para unión a la proteína E1. En algunas modalidades, la invención proporciona anticuerpos que disminuyen la unión de HC-1, HC-3, HC-11, y/o CBH-23 a la proteína E2 en aproximadamente 30%, aproximadamente 40%,
10 aproximadamente 50%, aproximadamente 60%, aproximadamente 70%, aproximadamente 80%, aproximadamente 90%, aproximadamente 95%, o más de alrededor de 95%.

En algunas modalidades, la invención proporciona agentes (por ejemplo, moléculas pequeñas, péptidos, ácidos
15 nucleicos, lípidos, nanopartículas, etc.) que compiten con HC-1, HC-3, HC-11, y/o CBH-23 para la unión a la proteína E2. En algunas modalidades, la invención proporciona (por ejemplo, moléculas pequeñas, péptidos, ácidos nucleicos, lípidos, nanopartículas, etc.) que disminuyen la unión de HC-
20 1, HC-3, HC-11, y/o CBH-23 a la proteína E2 en aproximadamente 30%, aproximadamente 40%, aproximadamente 50%, aproximadamente 60%, aproximadamente 70%, aproximadamente 80%, aproximadamente 90%, aproximadamente 95%, o más de alrededor de 95%.

25 El modelo HCVpp (particular pseudotipificada HCV)

comprende partículas retrovirales infecciosas pseudotipificadas con proteínas E1 y E2 HCV no modificadas (ver, por ejemplo, Bartosch et al., 2003, *J. Exp. Med.*, 197:633-642; Drummer et al., 2003; *FEBS Lett.*, 546:385-390; 5 Op De Beeck et al., 2004, *J. Virol.*, 78:2994-3002; y Hsu et al., 2003, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 100:7271-7276; todas las cuales se incorporan aquí por referencia). HCVpp preferencialmente infecta células hepáticas humanas, que se neutralizan a través de los anticuerpos anti-E2, se 10 neutralizan a través el suero de paciente infectado HCV, e imitan las etapas tempranas de la infección HCV, incluyendo la entrada vírica (Bartosch et al., 2003, *supra*; y Lavie et al., 2007, *Curr. Issues Mol. Biol.*, 9:71-86; ambas incorporadas por referencia en la presente). Los ensayos con 15 base HCVpp son útiles para observar la entrada del virus y se correlacionan con las condiciones fisiológicas, *in vivo*, y son adecuadas para el desarrollo de nuevas terapias antivíricas (Bartosch et al., 2003, *supra*).

El modelo HCVcc (virión HCV de cultivo celular) 20 proporciona un sistema de cultivo celular que permite la producción de viriones HCV completamente replicativos, infecciosos (Lindenbach et al., 2005, *Science*, 309:623-626; Wakita et al., 2005, *Nat. Med.*, 11:791-796; y Zhong et al., 2005, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 102:9294-9299; todas las 25 cuales se incorporan aquí por referencia). El sistema HCVcc

se basa en la transfección de la línea celular Huh-7 de hepatoma humano con ARN de HCV de la cepa JFH1 del genotipo 2a clonada de un individuo con hepatitis fulminante. Con el fin de permitir estudios comparativos entre las diferentes
5 cepas HCV, las proteínas estructurales que codifican los genomas de diferentes genotipos y las proteínas no estructurales del aislado JFH1 también se han hecho (Pietschmann et al., 2006). Los modelos HCVcc son capaces de replicar *in vitro* en cultivos celulares e *in vivo* en
10 chimpancés (Wakita et al., 2005, *supra*). El sistema HCVcc permite el estudio de la vida del ciclo viral completa y confirma datos generados con el sistema HCVpp.

Está bien establecido que los resultados de virtualmente todos los experimentos realizados utilizando
15 viriones HCVcc son consistentes con los resultados de experimentos similares realizados utilizando los viriones HCVpp. Ver Lindenbach et al., 2005, *Science*, 309:623-626; Lavie et al., 2007, *Curr. Issues Mol. Biol.*, 9:71-86; Chapel et al., 2007, *J. Gen. Virol.*, 88:1133-1143; Régeard et al.,
20 2007, *FEBS J.*, 274:4705-4718; Pietschmann et al., 2006, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 103:7408-7413; Wakita et al., 2005, *Nature Medicine*, 11:791-796; Yi et al., 2006, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 103:2310-2315; Zhong et al., 2005, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 102:9294-9299; todas las cuales se
25 incorporan aquí por referencia.

Otro modelo establecido para estudiar HCV es el modelo de ratón de "trímero HCV" (Ilan et al., 2002, *J. Infect. Dis.*, 185:153-61; incorporada por referencia en la presente). El modelo de ratón de trímero HCV se desarrolló
5 utilizando ratones lentamente irradiados, reconstituidos con células de médula ósea de ratón inmunodeficiente combinado severo (SCID, por sus siglas en inglés) en donde los fragmentos de hígado humano infectados ex vivo con HCV han sido trasplantados. El ratón trímero HCV puede ser útil para
10 evaluar la eficacia terapéutica in vivo de agentes terapéuticos y/o de diagnóstico HCV potenciales (Ilan et al., 2002, *J. Infect. Dis.*, 185:153-61; Eren et al., 2006, *J. Virol.*, 80:2654-2664; ambas incorporadas por referencia en la presente).

15 Está bien establecido que los resultados de los experimentos llevados a cabo utilizando los viriones HCVcc o HCVpp en sistemas de cultivo son consistentes con los resultados de experimentos en animales llevados a cabo utilizando modelos quiméricos de ratón de hígado humano (Eren
20 et al., 2006, *J. Virol.*, 80:2654-2664; y Law et al., 2008, *Nat. Med.*, 14:25-27; ambas incorporadas por referencia en la presente). Además, se ha establecido que la inhibición de la replicación HCV en ambos ensayos in vitro, y a través de la extensión, de modelos quiméricos de ratón humano de animal
25 pequeño in vivo, por ejemplo, el modelo de ratón de trímero,

se correlación con la inhibición de HCV en primates no humanos *in vivo*. Por ejemplo, en un estudio que se enfoca en parte en la habilidad de preparaciones IgG humanas policlonales seleccionadas en la prevención de infección en chimpancés, las preparaciones con altas concentraciones neutralizantes como se define por lo ensayos HCVpp fueron protectoras mientras las preparaciones con bajas concentraciones de neutralización no lo fueron. Ver Yu *et al.*, 2004, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 101:7705-7710; incorporada por referencia en la presente.

Dado el valor predictivo de estos de sistemas de modelo, un experto en la técnica fácilmente reconocerá que HC-1, HC-3, HC-11, y/o CBH-23 (o anticuerpos que reconocen los mismos epítomos que HC-1, HC-3, HC-11, y/o CBH-23) pueden exitosamente utilizarse para neutralización de HCV *in vivo*. Los análogos al éxito logrado con inmunoglobulina de hepatitis B en el trasplante de hígado (Dickson, 1998, *Liver Transpl. Surg.*, 4(5 Supl 1):S73-S78; y Markowitz *et al.*, 1998, *Hepatology* 28:585-589; ambas incorporadas por referencia en la presente), una posible aplicación es suprimir la infección HCV en receptores de trasplante de hígado con anticuerpos monoclonales humanos neutralizantes altamente reactivos.

Aunque se proporcionan los anticuerpos monoclonales humanos, otros anticuerpos de otras fuentes pueden reconocer

los mismos epítopos reconocidos por los anticuerpos humanos descritos en la presente, y también pueden utilizarse. Generalmente los anticuerpos de fuente de murino (por ejemplo, ratones, ratas, lagomorfos, etc.) y animales domésticos (por ejemplo, conejo, conejillos de indias, cabras, ovejas, puercos, pollos, caballo, hámster, etc.) encuentran uso. Se pueden producir anticuerpos que tienen regiones conservadas de fuentes de mamífero utilizando modificación genética y el reemplazo de las regiones constantes de los anticuerpos HCV provistos en la presente o pueden utilizar las proteínas a ser descritas a continuación como inmunógenos para inmunizar los animales y después immortalizar las células B resultantes y clasificarlas como se describe a continuación para células immortalizadas que producen anticuerpos monoclonales que tienen una especificidad en un amplio intervalo análogo. Al clasificar en ensayos de competencia con anticuerpos HCV objetivo, se puede determinar si los anticuerpos no humanos se unen al mismo epítipo.

En lugar de utilizar hibridomas como una fuente de los anticuerpos, los genes que codifican un anticuerpos HCV o una de sus porciones pueden aislarse o introducirse en una célula hospedera de mamífero apropiada, por ejemplo, CHO, CHO-K1, 293T, Huh7, Huh7.5, HeLa, CV1, o similar. Los plásmidos de expresión adecuados incluyen pcDNA3.1 Zeo,

pIND(SP1), pREP8 (todos disponibles de Invitrogen, Carlsbad, CA) (ver Ejemplo 1), y similar. Los genes del anticuerpo pueden expresarse a través de vectores virales o retrovirales, que pueden ejemplificarse por medio de vectores con base en MLV, vectores con base en virus de vacuna, etc. Similarmente, los genes de anticuerpo pueden expresarse utilizando las series pCOMB de vectores en la superficie del fago M13, como dos cadenas independientes, que pueden re-naturalizarse para formar el anticuerpo intacto. Alternativamente, los anticuerpos pueden expresarse como una sola cadena, incluyendo por lo menos las regiones variables. Los genes pueden utilizarse para terapia génica mediante la introducción de genes en células apropiadas, tales como linfocitos, células de músculo, fibroblastos, y similares, en donde los anticuerpos pueden expresarse y secretarse ya sea constitutiva o inductivamente para proporcionar una fuente continua o intermitente del anticuerpo durante un periodo de tiempo predeterminado, con base en la vida útil de la célula hospedera. Los genes juntos con un gen marcador (por ejemplo, resistencia a antibiótico; etiqueta fluorescente; selección de nutriente; etc.) puede introducirse en los cultivos celulares de las células tomadas de un sujeto, las células modificadas seleccionadas por medio del marcador y las células marcadas de volverse al hospedero. El ADN puede introducirse en células utilizando varios constructos de AND

de plásmido, AND desnudo, virus de AND (por ejemplo, adenovirus, virus asociado con adeno, o virus de vacuna), y/o virus de ARN (por ejemplo, virus *Vesicular stomatitis*, virus sindbis, y virus semiliki forest), para nombrar algunos. En
5 algunas modalidades, el constructor de ADN tiene un promotor para el cual los factores de transcripción están presentes en las células en cuestión o pueden inducirse o introducirse y los genes bajo control de transcripción de tal promotor. Otra
10 secuencias reguladoras también pueden estar presentes, tales como líderes para la secreción, potenciadores, secuencias estabilizantes de ARN, y similar.

En algunas modalidades, los anticuerpos son de clase IgG. En algunas modalidades, los anticuerpos son de la clase IgG1 o IgG2 (Figura 3). En algunas modalidades, Los
15 anticuerpos son de la clase IgG₁. En ciertas modalidades, los anticuerpos son de la clase IgG_{1κ}. En algunas modalidades, los anticuerpos son de la clase IgG_{1γ}, IgG_{1δ}, o IgG_{1λ}. En algunas modalidades, los anticuerpos son de la clase IgG₂, IgG₃, o IgG₄. En algunas modalidades, los anticuerpos son de la clase
20 IgA, IgD, IgE, o IgM. En algunas modalidades, los anticuerpos son de clase IgA₁ o IgA₂.

Los anticuerpos pueden utilizarse en su forma nativa o pueden truncarse para proporcionar fragmentos Fab o F(ab')₂. Los genes que codifican cadenas pesada y ligera
25 pueden aislarse y modificarse en número de diferentes formas.

Convenientemente, al utilizar RT-PCR, el ADNc puede obtenerse para los genes en una construcción conveniente para manipulación adicional. Las secuencias de nucleótido de regiones variables de cadenas pesada y ligera pueden aislarse y unirse, ya sea directa o indirectamente o a través de una cadena de $3n$ nucleótidos, en donde n es al menos 1 y no más de aproximadamente 60, usualmente no más de aproximadamente 40, para proporcionar un enlazador de los aminoácidos entre las dos regiones variables. La longitud de la cadena puede determinarse empíricamente para proveer la afinidad óptima y otros propiedades, por ejemplo, en enlace a través de grupos mercapto, carboxi o amino, para la quelación, unión a la superficie u otra molécula o similar.

Las etiquetas o rótulos pueden unirse al gen que codifica el anticuerpo para proporcionar métodos del ambiente de afinidad específicos para el anticuerpo expresado, unirse a una superficie, etiquetas o rótulos para identificación, etc. Las etiquetas o rótulos pueden por el contrario mejorar la afinidad del gen del anticuerpo aislado. En algunas modalidades, las etiquetas o rótulos están asociados con anticuerpos a través de enlazadores, tales como brazos divisibles, ciclos de proteasa, etc. En algunas modalidades, las etiquetas o rótulos están directamente asociados (por ejemplo, covalente o no covalentemente) a un anticuerpo, un gen que codifica un anticuerpo, o sus fragmentos.

Las etiquetas pueden incluir enzimas, grupos quelantes, ligandos para la unión a proteínas de unión a ligandos, por ejemplo, biotina/estreptavidina, digoxigenina/antidigoxigenina, etc., proteína fluorescente verde, y similar. Las secuencias de biotinación de la proteína portadora de biotina carboxilasa de *E. coli* (BCCP) puede utilizarse para la biotinación *in vivo* de proteínas expresadas en *E. coli* o introducirse en un lisato de *E. coli*. Una secuencia de seis histidinas o una secuencia de histidinas alternantes y ácidos aspárticos que son adecuados para permitir la unión del anticuerpo a una columna que contiene cationes divalentes inmovilizados pueden utilizarse. Las secuencias que codifican epítopos de alta afinidad pueden utilizarse, tales como el epítipo DYKDDDDK FLAG (SEC ID NO: 1), la secuencia de etiqueta T7 MASMTGGQMG (SEC ID NO: 2), la secuencia de etiqueta S KETAAAKFERQHMDs (SEC ID NO: 3), o cualquier otra secuencia que confiere una alta afinidad de unión a su miembro de unión correlativo o un reactivo de proteína. Las proteínas de fusión, aparte de las indicadas anteriormente, incluyen glutational-S-transferasa, luciferasa, ligandos para los receptores de superficie celular encontrados en hepatocitos, células T, u otro objetivo celular deseado, y similar. Tales fusiones usualmente se unen a través de una secuencia enlazadora de 3-50 aminoácidos que promueven la bi-funcionalidad de la proteína.

En algunas modalidades, las etiquetas incluyen fracciones fluorescentes, radioactivas, luminiscentes y/o enzimáticamente detectables. Alternativamente, los anticuerpos pueden enlazarse a metales pesados tóxicos quelatados o isótopos radioactivos (por ejemplo, tecnecio, yodo radioactivo, etc.). Los anticuerpos pueden enlazarse químicamente a fluoróforos o moléculas quimioluminiscentes. El acoplamiento químico puede involucrar la biotinación utilizando el grupo de ácido carboxílico activado o éster de biotina C11-hidrosuccinimida, que reaccionará con cisteínas; acoplamiento a través del uso de la activación de CNBr de varios gránulos (sefarosa, agarosa, magnética, poliestireno, etc.) o superficies para unir los anticuerpos, y similares; cualquier número de otros métodos generalmente involucrando la combinación del anticuerpo a una fracción química útil, usualmente se logran a través de la modificación de lisina u otros residuos básicos o a través del uso de reactivos específicos para grupos sulfhidrilo libres.

En algunas modalidades, una etiqueta puede proveer cisteínas para formar tioéteres con grupos maleimida, polihistidina/cisteínas o polihistidinas/ácidos aspárticos para metales de quelatación, polilisinas para reaccionar con aldehídos en reacciones de aminación reductiva, etc.

En algunas modalidades, una etiqueta puede ser una toxina tal como una toxina de difteria, ricina, abrina,

proteínas que inactivan el ribosoma, proteínas de señalización de apoptosis, proteínas formadoras de poro (por ejemplo, perforina), etc.

Los genes para las regiones variables de cadena
5 pesada y ligera del anticuerpo (particularmente las regiones hipervariables de las regiones variables) pueden mutarse de acuerdo con formas conocidas para mejorar la afinidad de unión del anticuerpo o una reactividad más amplia. Se pueden utilizar la selección *in vitro* para identificar los
10 anticuerpos de unión óptimos utilizando metodologías de despliegue de fago, mutagénesis aleatoria o dirigida de secuencias, u otras metodologías similares. Alternativamente, se puede utilizar un desplazamiento de alanina o glicina de las regiones hipervariables para identificar aminoácidos
15 esenciales y después varían los aminoácidos a aquellos u otros sitios para identificar la unión mejorada del epítipo. Otras técnicas conocidas en la técnica pueden utilizarse para proporcionar anticuerpos mutagenizados. Ver, por ejemplo, Gram *et al.*, 1992, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 89:3576-80;
20 Griffiths *et al.*, 1993, *EMBO J.*, 12:725-34; de Kruif *et al.*, 1995, *J. Mol. Biol.*, 248:97-105; Low *et al.*, 1996, *J. Mol. Biol.*, 260:359-368; Hanes *et al.*, 2000, *Nat. Biotechnol.*, 18:1287-1292; Boder *et al.*, 2000, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 97:10701-10705; Graff *et al.*, 2004, *Protein Eng. Des. Sel.*, 17:293-304; Cumbers *et al.*, 2002, *Nat. Biotechnol.*,
25

20:1129-1134; Chowdhury and Pastan, 1999, *Nat. Biotechnol.*,
17:568-572; Neuberger and Milstein, 1995, *Curr. Opin.*
Immunol., 7:248-254; Jolly et al., 1996, *Semin. Immunol.*,
8:159-168; Neuberger et al., 1998, *Immunol. Rev.*, 162:107-
5 116; Neuberger, 2002, *Biochem. Soc. Trans.*, 30:341-350; Beers
et al., 2000, *Clin. Cancer Res.*, 6:2835-2843; y Salvatore et
al., 2002, *Clin. Cancer Res.*, 8:995-1002; todas las cuales se
incorporan aquí por referencia.

Las referencias que se refieren a la producción de
10 anticuerpos humanos incluyen Foug et al., 1990, *J. Immunol.*
Methods, 70:83-90; y Zimmermann et al., 1990, *J. Immunol.*
Methods, 134:43-50; ambas incorporadas por referencia en la
presente. Las referencias relacionadas con la producción de
anticuerpos modificados utilizando colecciones de
15 combinación, Burton and Barbas, Dixon, FJ (Ed.) *Advances in*
Immunology, Vol. 57, Vi+391 p. *Academic Press, Inc.*, San
Diego, CA, 191-280, 1994; Plaisant et al., 1997, *Res. Virol.*,
148-169; y Barbas and Burton, *Monoclonal Antibodies from*
Combinatorial Libraries. Cold Spring Harbor Laboratory Course
20 *Manual*, Cold Spring Harbor, NY, 1994; todas las cuales se
incorporan aquí por referencia. Los anticuerpos modificados
pueden producirse a través de mutagénesis seguida por la
selección *in vitro* de una propiedad deseable, tal como una
afinidad aumentada para un antígeno objetivo o una
25 especificidad más amplia o más estrecha. Los anticuerpos

también pueden modificarse a través de una toxina u otra molécula bioactiva. Un ensayo para unión de los anticuerpos a E2 de HCV se describe en Rosa et al. (1996, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 93:1759-1763; incorporada por referencia en la presente).

Epítomos Adaptativos

Caracterización de los Epítomos

Los anticuerpos pueden utilizarse para identificar los epítomos estructurales en la proteína E2 a la que se unen. Se pueden utilizar dos métodos básicos utilizando los anticuerpos monoclonales para identificar epítomos adaptativos. En el primer análisis de variantes naturales o mutaciones de aislados HCV puede utilizarse para identificar regiones, y finalmente aminoácidos individuales que están involucrados en los epítomos reconocidos por anticuerpos monoclonales (Schwartz et al., 1999, *J. Mol. Biol.*, 287:983-999; incorporada por referencia en la presente). Los anticuerpos se clasifican contra el número de diferentes aislados E2 de HCV, se identifican los aislados que son selectivamente no reactivos con anticuerpos individuales. Las proteínas de envoltura E2 "quiméricas" después se construyen en donde las proteínas de la quimera se derivan de la proteína E2 de un genotipo HCV y otras porciones se derivan de la proteína E2 de otro genotipo HCV. Las proteínas E2 quiméricas se construyen a través de fragmentos de traslape

de amplificación PCR, y/o a través del uso de sitios de restricción comunes a ambas proteínas E2. Un método alternativa es la estructuración de ADN como pionero, a través de la compañía biotecnológica MaxyGen (revisado en

5 Cohen, 2001, *Science*, 293:237; Locher et al., 2005, *DNA Cell Biol.*, 24: 256-263; Locher et al., 2004, *Expert Opin. Biol. Ther.*, 4:589-597; Locher et al., 2004, *Curr. Opin. Mol. Ther.*, 6:34-39; Kurtzman et al., 2001, *Curr. Opin. Biotech.*, 12:361-370; y Minshull and Stemmer, 1999, *Curr. Opin. Chem.*

10 *Biol.*, 3: 284-290; todas las cuales se incorporan aquí por referencia). Al examinar las reactividades de unión observadas de diferentes proteínas E2 quiméricas con diferentes anticuerpos monoclonales, las regiones de aminoácidos en las proteínas E2 involucradas en la formación

15 de epítomos adaptativos se identifican. Una vez que se identifican las regiones relevantes, los aminoácidos individuales que difieren entre los diferentes genotipos se mutan para componer una secuencia E2 reactiva. Los mutantes que restauran la completa reactividad identifican aminoácidos

20 que están involucrados en la formación del epítomo.

Un Segundo método básico para definir un epítomo adaptativo es sintetizar una serie de 10 - 15 residuos de péptidos traslapados en longitud que codifican la secuencia deseada de E2 de HCV (ver, por ejemplo, Petit et al., 2003,

25 *J. Biol. Chem.*, 278:44385-44392; Moskalenko et al., 2000, *J.*

Virol., 74:1761-1766; Pettersson, 1992, *Mol. Biol. Rep.*, 16:149-53; Gerlofs-Nijland *et al.*, 2003, *Nephron Exp. Nephrol.*, 94:e25-34; todas las cuales se incorporan aquí por referencia). Los péptidos después se clasifican contra los anticuerpos utilizando ambas concentraciones del anticuerpo (por lo general 100 µg/ml o mayor). Las regiones individuales que comprenden el epítipo adaptativo completo por lo general retienen actividad de unión residual con un anticuerpo que puede detectarse. Una vez que se identifican estas regiones, se puede confirmar utilizando estudios de mutación que involucran 10 - 15 residuos del péptido, ya sea en el contexto del péptido o a través de la sustitución en una proteína E2 de HCV conformacionalmente intacta. Una variación de esta tecnología se describe en Reineke *et al.* (1999, *Nat. Biotech.*, 17:271-275; incorporada por referencia en la presente).

En algunas modalidades, la presente invención proporciona la definición de epítopos adaptativos de la proteína E2 de HCV, y además proporciona composiciones y compuestos que contienen tales epítopos. Por ejemplo, la presente invención proporciona agentes imitadores (por ejemplo, proteínas, péptidos que tienen moléculas, carbohidratos, lípidos, nanopartículas, ácidos nucleicos, mimótopos, compuestos orgánicos, compuestos organometálicos, compuestos inorgánicos, etc.) que comprenden epítopos

adaptativos de la proteína E2 de HCV. Los agentes de péptido pueden contener uno o más epítomos reconocidos por los anticuerpos de la presente invención. En ciertas modalidades, las proteínas son cadenas de péptidos concatenados en donde por lo menos uno de los cuales contiene un epítomo adaptativo de E2 de HCV. Los péptidos de la cadena pueden contener diferentes epítomos adaptativos de HCV o los péptidos pueden contener el mismo epítomo. Los péptidos de la cadena preferiblemente deberán plegarse apropiadamente con el fin de desplegar el epítomo adaptativo sustancialmente como aparece en la naturaleza. Tales proteínas y péptidos pueden utilizarse en la formulación de vacunas o pueden utilizarse en pruebas de diagnóstico.

La presente invención proporciona un método para estratificar pacientes con base en su respuesta inmunológica HCV y para identificar aquellos pacientes que probablemente respondan bien a la inmunoterapia HCV. Por ejemplo, se puede utilizar el suero de un paciente para ensayar la presencia de anticuerpos dirigidos contra un epítomo particular de E2 de HCV. Si el paciente no tiene niveles adecuados de anticuerpos dirigidos a tal epítomo, los anticuerpos monoclonales humanos divididos contra el anticuerpo pueden administrarse al paciente.

En la formulación de las vacunas para HCV, cualquier agente que imita por lo menos un epítomo adaptativo

de la proteína E2 de HCV puede utilizarse. En algunas modalidades, los epítomos representados en la vacuna incluyen los que están conservados entre diferentes genotipos del virus o entre diferentes cepas del virus. En algunas
5 modalidades, los péptidos o proteínas que contienen los epítomos conformacionalmente definidos de E2 de HCV se utilizan en la formulación de una vacuna para evitar una infección a través de HCV o para tratar una infección HCV. En algunas modalidades, las imitaciones del péptido o proteína
10 pueden ser menores de 500, menores de 200, menores de 100, menores de 50, menores de 40, menores de 30, o menores de 20 aminoácidos en longitud. En algunas modalidades, los péptidos a ser utilizados en la formulación de una vacuna son fragmentos de péptido de la proteína E2 de HCV. En algunas
15 modalidades, un péptido se pliega en una forma similar a su pliegue en la proteína E2 nativa de esta forma conservando la estructura tridimensional de un epítomo adaptativo.

Una vacuna también puede contener proteínas que representan péptidos concatenados que tienen el epítomo
20 adaptativo el cual los anticuerpos desean. Varios diferentes péptidos que forman el multímero pueden utilizarse de tal forma que cada péptido contiene un epítomo diferente, o el mismo péptido puede utilizarse más de una vez en el multímero.

25 Los péptidos pueden sintetizarse utilizando cualquier

método conocido en la técnica incluyen química de fase sólida de Merrifield. Los péptidos también pueden obtenerse a través de la división de la proteína E1 o E2 y la purificación. Los péptidos pueden hacerse recombinantemente y producirse en *E. coli*,
5 levadura (por ejemplo, *S. cerevisiae*), células de insecto (por ejemplo, células Sf9), o células de mamífero (por ejemplo, células CHO) utilizando cualquier técnica disponible en la técnica (Sambrook et al.; Miller & Calos, eds., *Gene Transfer vectors for Mammalian Cells*, 1987; Ausubel et al., eds., *Current*
10 *Protocols in Molecular Biology*, 1987; cada una de las cuales se incorpora aquí por referencia). Los péptidos pueden modificarse para aumentar su inmunogenicidad, solubilidad en solución acuosa, o para aumentar su propensión a plegarse correctamente. Por ejemplo, los péptidos pueden ser glicosilados, farnesilados,
15 hidroxilados, reducidos, oxidados, etc..

En algunas modalidades, un péptido comprende los aminoácidos 657-698 de la proteína E2 de HCV. En algunas modalidades, el péptido comprende uno o más de los aminoácidos D658, F679, L692, I696, o D698 de la proteína E2
20 de HCV. Como se apreciará por un experto en la técnica, las secuencias de aminoácido análogas de las proteínas E2 de cualquier genotipo de HCV pueden utilizarse. Las secuencias análogas pueden determinarse a través de la alineación de múltiples secuencias de la proteína E2 en diferentes cepas o
25 genotipos de HCV. Las secuencias homólogas que conservan el

epítopo deseado también utilizarse en la formulación de vacunas. En algunas modalidades, las secuencias son al menos 50%, al menos 60%, al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90%, al menos 95%, al menos 98%, o más
5 homólogas a la secuencia nativa de la proteína E2 de HCV.

En algunas modalidades, las proteínas E2 HCV de longitud completa como se describen en la presente, pueden tener una secuencia que se deriva de una poliproteína HCV de tipo silvestre. En algunas modalidades, las proteínas E2 HCV
10 de longitud completa, como se describe en la presente, puede tener una secuencia que se deriva de una poliproteína HCV no de tipo silvestre. Las secuencias de aminoácido de una variedad de diferentes poliproteínas HCV (por ejemplo, de diferentes genotipos, subtipos, aislados, etc.) se conocen en
15 la técnica y están disponibles en bases de datos públicas tales como GenBank. Las secuencias de poliproteína HCV ilustrativas de múltiples genotipos, subtipos y/o aislados HCV, son provistos en la Tabla 1 siguiente.

Tabla 1: Secuencias de Poliproteína HCV Ilustrativas

20

25

Acceso a GenBank	Genotipo y Subtipo	Secuencia de Poliproteína HCV					
AAB67038	1a (H77)	MSTNPKPQRK	TKRNTNRRPQ	DVKFPGGGQI	VGGVYLLPRR	GPRLGVRATR	
		KTSEERSQPRG	RRQPIPKARR	PEGRTWAQPG	YPWPPLYGNEG	CGWAGWLLSP	
		RGSRPSWGPT	DPRRRSRNLG	KVIDTLTCGF	ADLMGY1PLV	GAPIGGAARA	
		LAHCVRVIED	GVNYATGNLP	GCSFSIFLLA	LLSCLTVPAS	AYQVRNSSGL	
		YHVTNDCPNS	STVYEAADAI	IHTPGCVPCV	REGNASRCWV	AVTPTVATRD	
		GKLPPTQLRR	HTDLLVGSAT	LCSALYVGDL	CGSVFLVGQL	FTFSPRRHWT	

5

10

15

20

25

Acceso a GenBank	Genotipo y Subtipo	Secuencia de Poliproteína HCV				
		TQDCNCSIYP	GHITGHRMAW	DMMMNWSPTA	ALVVAQLLRI	PQAIMDMTAG
		AHWGVLAGIA	YFSMVGNWAK	VLVVLLLFAG	VDAETHVTGG	NAGRITTAGLV
		GIITPGAKQN	IQIINTNGSW	HINSTALNCN	ESLNTGWLAG	LFYQHKFNSS
		GCPERLTSCR	RLTDFAQGWG	PISYANGSGL	DERPYCWHYP	PRPCGIVPAK
		SVCGPVYCFT	PSPVVVGTTD	RSGAPTYSWG	ANDTDVEVLN	NTRPPLGNWF
		GCTWMNSTGF	TKVCGAPPCV	IGGVGNNTLL	CPTDCFRKHP	EATYSRCGSG
		PWIT'FERCMVD	YPYRLWHYPC	TINYTIFKVR	MYVGGVEHRL	EAACNWT'RGE
		RCDIEDRDRS	ELSPLLLSTT	QWQVLP'CSFT	TLPALSTGLI	HLHQNI'VDVQ
		YLYGVGSSIA	SWAIKWEYVV	LLELLIADAR	VCSC'LMMLL	ISQAEAAI'EN
		LVILNAASIA	GTHGLVSFLV	EFCFAWYLKG	RWVPGAAYAF	YGMWPL'LLLL
		LALPQRAYAL	DTEVAASC'GG	VVLVGLMALT	LSPYYKRYIS	WCMWWLQYFL
		TRVEAQLH'VW	VEPLNVRGGR	DAVILLMCVV	HPTLVFDITK	LLLAIFG'PLW
		IIQASLLKVP	YFVRVQGLLR	ICALARKIAG	GHYVQMAI'IK	LGALTGT'YVY
		NHITPLRDWA	HNGIRDLAVA	VEPVVFSRME	TKLITWGADT	AACGDI'INCL
		PVSARRGQEI	LLG'PADGMVS	KGWRLQAPIT	AYTQQTRG'LL	GCIITS'LTGR
		DKNQVEGEVQ	IVSTATQ'TFI	ATCINGVCWT	VYHGAGTRTI	ASPKGPVIQ'M
		YTNVDQDLVG	WPAPQGSRS'L	APCTCGSSDL	YLVTRHADVI	PVRRRGDSRG
		SLLSPRPISY	LKGSSGGP'LL	CPAGHAVGLE	RAAVCTRGVA	KAVDFI'PVEN
		LGTTMRS'PVF	TDNSSPPAVP	QSFQVAHLHA	PTGSGKST'KV	PAAYAAQGYK
		VLVLNPSVAA	TLGFGAYMSK	AHGVDENIRT	GVRTIT'TGSP	ITYSTY'GKFL
		ADGGCSGGAY	DIIICDECHS	TDATSILGIG	TVLDQAE'TAG	ARLVVLATAT
		PPGSVTVSHP	NIEEVALSTT	GEIPFYGKAI	PLEVIKGGRI	LIFCHSKK'KC
		DELAAKLVAL	GINAVAYYRG	LDVSVIPTSG	DVVVVSTDAL	MTGFTGD'FDS
		VIDCNTCVTQ	TVDFSLDPTF	TIETTTLPQD	AVSRTQRRGR	TGRGKPGIYR
		FVAPGERPSG	ME'DSSVLCEC	YDAGCAWYEL	TPAET'TVRLR	AYMNT'PGLPV
		CQDHLEFWEG	VFTGLTHIDA	HFLSQTKQSG	ENFPYL'VAYQ	ATVCARAQAP
		PPSWDQMWKC	LIRLKPTLHG	PTPLLYRIGA	VQNEVT'LTHP	ITKYIMT'CMS
		ADLEVVTSTW	VLVGGVLAAL	AAYCLSTGCV	VIVGRIVLSG	KPAIIPDREV
		LYQEFDEMEE	CSQHLPYIEQ	GMMLAEQFKQ	KALGLLQ'TAS	RHAEVITPAV
		QTNWQKLEVF	WAKHMWNFIS	GIQYLAGLST	LPGNPAIASL	MAFTA'AVTSP
		LTTGQTLLFN	II.GGWVAAQL	AAPGAATAFV	GAGLAGAAIG	SVGLGKVLVD
		IIAGYGAGVA	GALVAFKIMS	GEVPSTEDIV	NILPAI'LSPG	ALVVG'VCAA
		ILRRHVGPGE	GAVQWMNRLI	AFASRGNHVS	PTHYVPESDA	AARV'TAILSS
		ITVTQLLRRL	HQWISSECTT	PCSGSWLRDI	WDWICEVLS'D	EKTLWLKAKIM
		PQLPGIPFVS	CQRGYRGVWR	GDCIMHTRCH	CGAEITGHVK	NGTMRIVGPR
		TCRNMWSGTF	PINAYTTGPC	TPLPAPNYKF	ALWRVSAE'Y	VEJRRVGDFH
		YVSGMTTDNI	KCPCQIPSPF	FFTELDG'VRL	HRFAPPCKPI	LREEV'SERVG
		LHEY'PVGSQL	PCEPEPDVAV	LTSMLTDPSH	ITAEAA'GRRI	ARGSP'PSMAS
		SSASQLSAPS	LKATCTANHD	SPDAELIEAN	LIWRQEMCGN	ITRVESENKV

5

10

15

20

25

Acceso a GenBank	Genotipo y Subtipo	Secuencia de Poliproteína HCV				
		VILDSEDFLV	AEDEREVS	PAEILRKSRR	FARALPWWAR	PDYNPPLVET
		WKKPDYEPPV	VHGCPLEPPR	SPPVPPPRKK	RTVVLTSTL	STALAEELATK
		SFGSSSTSGI	TGDNTTTSSE	PAPSGCPPDS	DVESYSSMPP	LEGEFGDFDL
		SDGSWSTVSS	GADTEDVVCC	SMSYSWTGAL	VTPCAAEEQK	LPINALSNSL
		LRHHNLVYST	TSRSACQRQK	KVTFDRLQVL	DSHYQDVLKE	VKAAASKVKA
		NLLSVEEACS	LTPPHSAKSK	FGYGAKDVRC	HARKAVAHIN	SVWKDILLED
		VTPLDTTIMA	KNEVFCVQPE	KGGRKPARLI	VFPDLGVRVC	EKMALYDVVS
		KLPLAVMGSS	YGEQYSPGQR	VEFLVQAWKS	KKTPMGFSYD	TRCFDSTVTE
		SDIRTEEAIY	QCCDLDPQAR	VAIKSLTERL	YVGGPIITNSR	GENCGYRRCR
		ASGVLTTSCG	NTLTCTYIKAR	AACRAAGLQD	CTMLVCGDDI	VVICESACVQ
		EDAANLRAFT	EAMTRYSAAP	GDPPQPEYDL	ELITSCSSNV	SVAHGACKR
		VYYLTRDPTT	PLARAAWETA	RHTPVNSWL	NIIMFAPTLW	ARMILMTHFF
		SVLIARDQLE	QALNCEIYGA	CYSTEPLDLP	PIIQRIMGLS	AFSLHSYSPG
		EINRVAACLR	KLGVPLRAW	RHRARSVRAR	LLSRGGRAAI	CGKYLENNAV
		RTKLKLTPTT	AAGRLDLGWS	ETAGYSGGDI	YHSVSHARER	WFWFCILLLA
		AGVGIIYLLPN	R (SEC ID NO: 4)			
AAK08509	1b	MSTNPKPQRK	TKRNTNRRPQ	DVKFPGGGQI	VGGVYILPRR	GPRLGVRATR
		KTSESRQPRG	RRQPIPKARR	PEGRTWAQPG	YPWPLYGNEG	MGWAGWILSP
		RGSRPSWGPT	DPRRRSRNLG	KVIDTLTCGF	ADLMGYIPLV	GAPLGGAARA
		LAHGVRVLED	GVNYATGNLP	GCSFSIFLLA	LLSCLTIPAS	AYEVRNVSGI
		YHVTNDCSNS	SIVYEADMI	MHTPGCVPCV	RESNFSRCWV	ALTPTPLAARN
		SSIPTTTIRR	HVDLIVGAAA	LCSAMYVGDI	CGSVFLVSQI	FTFSPPRYET
		VQDCNCSTYP	GHSVGHMAW	DMMMNWSPTT	ALVVSQILLRI	PQAVVDMVAG
		AHWGVLAGLA	YYSMVGNWAK	VLIVMLLEAG	VDGHTHTVGG	RVASSTQSLV
		SWLSQGPSQK	IQLVNTNGSW	HINRTALNCN	DSLQTGFIAA	LFYAHRENAS
		GCPERMASCR	PIDKFAQGWG	PITHVVPNIS	DQRPYCWIIYA	PQPCGIVPAS
		QVCGPVYCFE	PSPVVVGTTD	RSQVPTYSWG	ENETDVLLLN	NTRPPQGNWF
		GCTWMNSTGF	TKTCGGPPCN	IGGVGNNTLI	CPTDCFRKHP	EATYTKCGSG
		PWLTPRCLVD	YPYRLWHYPC	TINFTIFKVR	MYVGGVEHRL	NAACNWTRGE
		RCDLEDRDRS	ELSPLLLSTT	EWQVLPCSFT	TLPALSTGLI	HLHQNVVDVQ
		YLYCVGSVVV	SVVIKWEYVL	LLFLLLADAR	VCACLWMMLL	IAQAEATLEN
		LVVINAASVA	GAHGLLSFLV	FFCAAWYIKG	RLVPGAAYAL	YGVWPLLLLL
		LALPPRAYAM	DREMAASCGG	AVEVGLVILT	LSPYYKVFLA	RLIWWLQYFI
		TRAFHLQVW	VEPLNVRGGR	DAIILLTCAV	HPELIFDITK	ILLAILGSLM
		VLQAGITRVP	YEVRAQGLIH	ACMLVRKVAG	GHYVQMAFMK	LGALTGTIYI
		NIILTPLRDWA	HAGLRDLAVA	VEPVVFSOME	TKIITWGADT	AACGDILLGL
		PVSARRGKEI	LLGFADSLEG	RGWRLLAPIT	AYSQQTRGIL	GCITTSLTGR
		DKNQVEGEVQ	VVSTATQSFL	ATCVNGVCWT	VYHAGAGSKTL	AGPKGPITQM
		YTNVDQDLVG	WQAPFGARSL	TPCTCGSSDL	YLVTRIADVI	PVRRRCDSRG

5

10

15

20

25

Acceso a GenBank	Genotipo y Subtipo	Secuencia de Poliproteína HCV				
		SI.LSPRPVSY	LKGSSGGPLL	CPSGHAVGIF	RAAVCTRQVA	KAVDFVPVES
		METTMRSPVF	TDNSSPPAVP	QSEQVAHLHA	PTGSGKSTKV	PAAYAAQGYK
		VLVLNPSVAA	TLGFGAYMSK	AHGIDPNIRT	GVRTTTTGAP	VTYSTYGKFL
		ADGGCSCGAY	DIIICDECHS	TDSTTILGIG	TVLDQAETAG	ARLVVIATAT
		PPGSVTVPHP	NIEEVALSNT	GEIPFYGKAI	PJEAIRGGRH	LIFCHSKKKC
		DELAAKLSGL	GINAVAYYRG	LDVSVIPTIG	DVVVVATDAL	MTGYTGDFDS
		VIDCNTCVTQ	TVDFSLDPTF	TIETTTVPQD	AVSRSQRRGR	TGRGRRGIYR
		FVTPGERPSG	MEDSSVLCEC	YDAGCAWYEL	TPAETSVRLR	AYLNTPGIPV
		CQDHLEFWES	VFTGLTHIDA	HFLSQTKQAG	DNFPYLVAYQ	ATVCARAQAP
		PPSWDQMWC	LIRLKPTLHG	PTPLLYRLGA	VQNEVTLTHE	ITKYIMACMS
		ADLEVVTSTW	VLVGGVLAAL	AAYCLTTGSV	VIVGRIILSG	RPAIVPDREL
		LYQEFDEMEE	CATHLPYIEQ	GMQLAEQFKQ	KALGLLQTAT	KQAEAAAPVV
		ESKWRALETE	WAKHMWNFIS	GIQYIAGLST	LPGNPAIASL	MAFTASITSP
		LTQSTLLFN	ILGGWVAAQL	APPSAASAFV	GAGIAGAAVG	SIGLGKVLVD
		ILAGYGAGVA	GALVAFKVMS	GEMPSTEDLV	NLLPAILSPG	ALVGVVCAA
		ILRRHVGPGH	GAVQWMNRLI	AFASRGNHVS	PTHYVPESDA	AARVTQILSS
		LTITQILKRI	HOWINEDCST	PCSGSWLRDV	WDWICTVLTD	EKTWLQSKLL
		PQLPGVPFFS	CQRGYKGVWR	GDGIMQITCP	CGAQITGHVK	NGSMRIVGPK
		TCSNTWHGTF	PINAYTTGPC	TPSPAPNYSR	ALWRVAAEEY	VEVTRVGDFH
		YVTGMTTDNV	KCPCQVPAPF	FFSEVDGVRL	HRYAPACRPL	LREEVTFQVG
		LNQYLVGSQI	PCEPEPDVAV	LTSMLTDPSH	ITAETAKRRL	ARGSPPSLAS
		SSASQLSAPS	LKATCTTHHV	SPDADLIEAN	LLWRQFMGGN	ITRVESENKV
		VVLDSFDPLR	AEEDEREVSF	PAELLRKSKK	FPAAMPIWAR	PDYNPPILLES
		WKDPDYVPPV	VHGCPLPPIK	APPIDPPRRK	RTVVI.TESSV	SSALAEIATK
		TEGSSSESAV	DSGTATALPD	QASDDGDKGS	DVESYSSMPP	LEGEPGDPDL
		SDGSWSTVSE	EASEDVCCS	MSYTWTGALI	TPCAAEEESKL	PINALSNSLL
		RHHNMVYATT	SRSAGLRQKK	VTFDRLQVLD	DHYRDVLKEM	KAKASTVKAK
		LLSVEEACKL	TPPHSAKSKE	GYGAKDVARNL	SSKAVNHHHS	VWKDLIEDTV
		TPIDTITIMAK	NEVEFCVQPEK	GGRKPARLIV	FPDLGVRVCE	KMALYDVVST
		LPQVVMGSSY	GFQYSPGQRV	EFLVNTWWSK	KNPMGFSYDT	RCFDSTVTEN
		DIRVEESIYQ	CCDLAPEARQ	AIKSLTERLY	IGGPLTNSKG	QNCGYRRCRA
		SGVLTTS CGN	TLTCYLKASA	ACRAAKLQDC	TMLVNGDDL	VICESAGTQE
		DAASLRVFTE	AMTRYSAPPG	DPPQPEYDLE	LITSCSSNVS	VAHDASGKRV
		YYLTRDPTTP	LARAAWETAR	HTPVNSWLGN	IIIMYAPT LWA	RMILMTHFFS
		II.LAQEQLEK	ALDCQIYGAC	YSIEPLDLPQ	IIERLHGLSA	FSLHSYSPGE
		INRVASCLRK	LGVPPLRVWR	HRARSVRARL	LSQGGRAATC	GKYI.FNWAVK
		TKLKLTPIPA	ASQLDLSGWF	VAGYSGGDIY	HSLSRARPRW	FMLCLLLLSV
		CVGIYLLPNR	(SEC ID NO: 5)			
BAB32872	2a	MSTNPKPQRK	TKRNTNRRPE	DVKFPGGGQT	VCGVYLLPRR	GPRLGVRTTR

5

10

15

20

25

Acceso a GenBank	Genotipo y Subtipo	Secuencia de Poliproteína HCV					
	(JFH-1)	KTSESRQPRG	RRQPIPKDRR	STGKAWGKPG	RPWPLYGNEG	IGWAGWLLSP	
		RGSRPSWGPT	DPRIHRSRNVG	KVIDTLTCGF	ADLMGYIPVV	GAPLSGAARA	
		VAHGVRVLED	GVNYATGNLP	GFPFSIFLLA	LLSCITVPVS	AAQVKNTSSS	
		YMTNDCSND	SITWQLEAAV	LHVPGCVPC	RVGNTSRCWV	PVSPNMAVRQ	
		PGALTQGLRT	IIDMVVMSAT	ECSALYVGDL	CCGVMLAAQV	FIVSPQYHWF	
		VQECNCSTYP	GTITGHMAW	DMMNWSPTA	TMILAYVMRV	PEVIIDIVSG	
		AHWGVMFGLA	YFSMQGAWAK	VIVILLLAAG	VDAGTTTVGG	AVARSTNVIA	
		GVFSHGPPQN	IQLINTNGSW	HINRTALNCN	DSLNTGFIAA	LEYTNRFNSS	
		GCPGRLSACR	NTEAFRIGWG	TLQYEDNVTN	PEDMRPYCWH	YPPKPCGVVP	
		ARSVCGPVYC	FTSPVTVVGT	TDRRGVPTYT	WGENETDVFL	LNSTRPQGS	
		WFGCTWMNST	GFTKTCGAPP	CRTRADFNAS	TDLLCPTDCF	RKHPDATYIK	
		CGSGFWLTPK	CLVHYPYRLW	HYFCTVNFTI	EKIRMYVGGV	EHRLTAACNF	
		TRGDRCDL	RDRSQLSPLL	HSTTEWAILP	CTYSDLPALS	TGLLHLMQNI	
		VDVQMYGLS	PAITKYVVRW	EWVLLLELLI	ADARVCACIW	MLILLCQAEA	
		ALFKLVVLHA	ASAANCHGLI	YFAIFFVAAW	HIRGRVPLT	TYCLTGLWPF	
		CLLLMALPRQ	AYAYDAPVHG	QIGVGILLILI	TLFTLTTPGYK	TLLGQCLWWL	
		CYLLTLGEAM	IQEWVPPMQV	RGGRDGIWA	VTIFCPGVVF	DITKWIJALL	
		GPAYLLRAAL	THVPYFVRAH	ALIRVCALVK	QLAGGRYVQV	ALLAIGRWTG	
		TYIYDHLTPM	SDWAASGLRD	LAVAVEPIIF	SPMEKKVIVW	GAETAACGDI	
		LHGLPVSARI	GQEILLGPAD	GYTSKGWKIL	APITAYAQQT	RGLLGAIVVS	
		MTGRDRTEQA	GEVQILSTVS	QSFLGTTISG	VLWTVYHGAG	NKTLAIGLRGP	
		VTQMYSSAEG	DLVGWPSPPG	TKSLEPCKCG	AVDLYLVTRN	ADVIPARRRG	
		DKRGALLSPR	PISTIKGSSG	GFVLCPRGHV	VGLFRAAVCS	RGVAKSIDFI	
		PVETLDVVTR	SPTFSDNSTP	PAVPQTYQVG	YLHAPTSGSK	STKVPVAYAA	
		QGYKVLVLNP	SVAATLGFGA	YLSKAHGINP	NIRTVGRTVM	TGEAITYSTY	
		GKFLADGGCA	SGAYDIIICD	ECHAVDATSI	LGIGTVIDQA	ETAGVRLTVL	
		ATATPPGSVT	TPHPDIEEVG	IGREGEIPFY	GRAIPLSCIK	GGRHLIECHS	
		KKKCDLAAA	LRGMGLNAVA	YYRGLDVSII	PAQGDVVVVA	TDALMTGYTG	
		DFDSVIDCNV	AVTQAVDFSL	DPTFTITTQT	VFQDAVSRSQ	RRGRTRGRGQ	
		GTYRYVSTGE	RASGMFDSVV	LCECYDAGAA	WYDLTPAETT	VRLRAYFNTF	
		GLPVCQDHLE	FEWAVFTGLT	HIDAHFLSQT	KQAGENFAYL	VAYQATVCAR	
		AKAPPPSWDA	MWKCLARLKP	TLAGPTPLLY	RLGPITNEVT	LTHPGTKYIA	
		TCMQADLEVM	TSTWVLAGGV	LAAVAAYCLA	TGCVSIIGRL	HVNQRVVVAP	
		DKEVLYEAFD	EMEECASRAA	LIEEGQRIAE	MLKSKIQGLL	QQASKQAQDI	
		QPAMQASWPK	VEQFWARHWW	NFISGIQYIA	GLSTLPCNPA	VASMMAFSAA	
		ITSPLSTSTT	ILLNIMGGWL	ASQIAPPAGA	TGFVVSGLVG	AAVGSIGLGK	
		VLVDILAGYG	AGISGALVAF	KIMSGEKPSM	EDVINLLPGT	LSPGALVVGCV	
		ICAAILRRHV	CPGEGAVQWM	NRLIAFASRG	NHIVAPTHYVT	ESDASQRVTQ	
		LLGSLTITSL	LRRLHNWITE	DCPIPCSGSW	LRDVWDWVCT	TLTDFKNWLT	

5

10

15

20

25

Acceso a GenBank	Genotipo y Subtipo	Secuencia de Poliproteína HCV				
		SKLFPKLPGL	PFISCQKGYK	GVWAGTGIMT	TRCPGANIS	GNVRLGSMRI
		TGPKTCMNTW	QGTFFINCYT	EGQCAPKPPT	NYKTAIWRVA	ASEYAEVTQH
		GSYSYVTGLT	TDMLKIPCQL	PSPEFFSWVD	GVQIHREAPT	PKPFFRDEVS
		FCVGLNSYAV	GSQLPCEPEP	DADVLRSLMT	DPPHITAETA	ARRLARGSPP
		SEASSSVSQL	SAPSLRATCT	THSNTYDVDM	VDANLMEGG	VAQTEPESRV
		PVLDFLEPMA	EEESDLEPSI	PSECMLPRSG	FPRALPAWAR	PDYNPLIVES
		WRRPDYQPPT	VAGCALPPPK	KAPTPPPRRR	RTVGLSESTI	SEALQQLAIK
		TFGQPPSSGD	AGSSTGAGAA	ESGGPTSPGE	PAPSETGSAS	SMPPLEGEFG
		DPDLESDQVE	LQPPPQGGGV	APGSGSGSWS	TCSEEDDTTV	CCSMSYSWTG
		ALITPCSPEE	EKLEINPLSN	SLLRYHNKVY	CTTSKSASQR	AKKVTFDRTO
		VLDHYDSVL	KDIKLAASKV	SARLLTLEEA	CQLTPPHSAR	SKYGFGAKEV
		RSLSGRAVNH	IKSVWKDLLE	DPQTPIPTTI	MAKNEVFCVD	PAKGGKKPAR
		LIVYPDLGVR	VCEKMALYDI	TQKLPQAVMG	ASYGFQYSPA	QRVEYLLKAW
		AEKKDPMGFS	YDTRCFDSTV	TERDIRTEES	IYQACSLPEE	ARTATHSLTE
		RLYVGCPMFN	SKGQTCGYRR	CRASGVLTS	MGNTITCYVK	ALAACKAAGI
		VAPTMLVCGD	DLVVISQGC	TEEDERNLRA	FTEAMTRYSA	PPGDPRPEY
		DLELITSCSS	NVSVALGPRG	RRRYLTRDP	TTPLARAWE	TVRHSPINSW
		LGNIIQYAPT	IWVRMVLMTI	FFSILMVQDT	LDQNLNFEMY	GSVYSVNPLD
		LPALIERLHG	LDAFSMHTYS	HHELTRVASA	LRKLGAPPLR	VWKSRRARVR
		ASLISRGGKA	AVCGRYLENW	AVKTKIKLTP	LPEARLIDLS	SWFTVGAGGG
		DIFHSVSRAR	ERSLLFGLLL	LEVGVLFLLL	PAR (SEC ID NO: 6)	
BAB08107	2b (JF01971017)	MSTNPKPQRK	TKRNTNRRPQ	DVKFPGGGQI	VGGVYLLPRR	GPRLGVRATR
		KTSESRQPRG	RRQPIPKDRR	STGKSWGKPG	YPWPLYCNEG	CGWAGWLLSP
		RGSRPWGPS	DERHRSRNIG	RVIDTITCGF	ADLMGYIPVV	GAPVGVVARA
		LAHGVRVLED	GINYATRNL	GCSFSIFLLA	LLSCVTVPVS	SVEIRNISTS
		YYATNDCSNN	SITWQLTNAV	LHLPGCVPCE	NDNGTLRCWI	QVTENVAVKH
		RGALTHNLRA	HVDVIVMAAT	VCSALYVGDV	CGAVMIVSQA	LIVSPERINF
		TQECNCISIYQ	GHTTGQRMAY	DMMLNWSPTL	TMILAYAARV	PELVLEIVFG
		GHWGVVFGLA	YFSMQGAWAK	VIAILLVAG	VDATTYSTGA	TVGRTVGSFA
		GLEKLGAQQN	VQLINTNGSW	HINRTALNCN	DSLHTGFMAA	LFYANKFNSS
		GCPERLSSCR	GLDDFRIGWG	TLEYETNVTN	VEDMRPYCWH	YPPKECGIVP
		AQSVCGPVYC	ETPSPVVVGT	TDRQGVPTYN	WGDNETDVFL	LNSTRPPRGA
		WFGCTWMNGT	GFTKTCGAPP	CRIRKDFNST	LDLLCPTDCF	RKHPDATYVK
		CGAGPWLTPR	CLIDYPYRLW	HYPCTVNFTI	EKVRMYVGGV	EHRESAACNF
		TRGDRCRLED	RDRGQQSPLL	HSTTEWAVLP	CSFSDLPALS	TGLLHLHQNT
		VDVQYLYGLS	PAVTKYIVKW	EWVLLFLLL	ADARTCACLW	MLIILGQAEA
		ALFKLIILHS	ASAASANGPL	WEFIFETAAW	YLKGRVVPAA	TYSVLGLWSF
		LLLVLALPQQ	AYALDAEQG	ELGLVILMII	SIFTLTAYK	ILLSRSVWWL
		SYMLVLAEAQ	VQQWVPPLEA	RGGRDGIWV	AVILHPLHVF	EVTKWLLAIL

5

10

15

20

25

Acceso a GenBank	Genotipo y Subtipo	Secuencia de Poliproteína HCV				
		GSAYLLKASL	LRVPYFVRAH	ALLRVCTLVR	HLAGARYIQM	LLITMGRWTG
		TYIYDHLSPF	STWAAQGLRD	LAVAVEPVVE	SPMEKKVIVW	GAETVACGDI
		LHGLPV SARL	GREVLLG PAD	GYTSKGW KLL	APITAYTQQT	RGLLGAI VVS
		LTGRDKNEQA	GQVQVLSSVT	QSFLGTSISG	VLWTVYHGAG	NKTLASPRGP
		VTQMYTSAEG	DLVGWPSPPG	TKSLDPCTCG	AVDLYLVTNR	ADVTPVRRKD
		DRRGALLSPR	PLSTLKGSSG	GPVLCPRGHA	VGLFRAAVCA	RGVAKSIDFI
		PVESLDIARR	TPSFSDNSTP	PAVPQTYQVG	YLHAPTGS GK	STKVPAA YTS
		QGYKVLVLNP	SVAATLGFGA	YMSKANGINP	NIRTCV RVTVT	TGDSITYSTY
		GKFIADGGCS	AGAYDIIICD	ECHSV DATTI	LGIGTVLDQA	ETAGVRLVVL
		ATATFP GTVT	TPHANTEEVA	LGHEGEJPFY	GKAIPLASIK	GGRHLIECHS
		KKKCDEIAAA	LRGMGVNAVA	YYRGLDVSVI	PTQGDVVVVA	TDALMTGYTG
		DFDSVIDCNV	AVTQIVDFSL	DPTETLT TQT	VPQDAVSRSQ	RRGRTGRGRL
		GTYRYVSSGE	RPSGMFDSV	LCECYDAGAA	WYELTPAETT	VRLRAYFNTF
		GLPVCQDHLE	FWEAVFTGLT	HIDAHFLSQF	KQGGDNFAYL	TAYQATVCAR
		AKAPPPSWDV	MWKCLTRLKP	TLTGPTPLLY	RLGAVTNFET	LTHPVTKYIA
		TCMQADLEVM	TSTWVLAGGV	LAAVAAYCIA	TGCISIIGRI	HLNDQVVVAP
		DKEILYEAFD	EMEECASKAA	LIEEGQRM AE	MLKSKILG LL	QQATKQAQDI
		QPAMQSSWPK	IEQFWARH MW	NFISGIQYLA	GLSTLPGNPA	VASMMAFSAA
		LTSPLPTSTT	ILLNIMGGWL	ASQIAPPAGA	TGFVVSGLVG	AAVGSIGIGK
		ILVDVLAGYG	AGISGAIVAF	KIMSGEKPSV	EDVVNLLPAI	LSPGALVVG V
		ICAAILRRHV	CQGEGAVQWM	NRLIAFASRG	NHVAPTHYVA	ESDASLRVTQ
		VLSSLTITSL	LRRLLHAWITE	DCPVPCSGSW	LRDIWEWVCS	ILTDFKNWLS
		AKLLPKMPGL	PFISCQKGYR	GVWAGTGVMT	TRCSCGANIS	GHVRLGTMKI
		TGPKTCLNMW	QGTFFPINCYT	EGPCVPKPPP	NYKTAIWRVA	ASEYVEVTQH
		GSFSYVTGLT	SDNLKVPCQV	FAPEFFSWVD	GVQIHRFAPT	PGPFFRDEVT
		FTVGLNSLVV	GSQLPCDPEP	DTEVLASMLT	DPSHITAETA	ARRIARGSPP
		SQASSSASQL	SAPSLKATCT	THKTAYDCDM	VDANLFMGGD	VTRIESDSKV
		IVLDSLDSMT	EVEDDREPSV	PSEYLTRRRK	FPPALPPWAR	PDYNPPVIET
		WKRDPYEPP T	VLGCALPPTP	QAPVPPPRRR	RARVLTQDNV	EGVLREMA DK
		VLSPLQDTND	SGHSTGADTG	GDSVQQPSGE	TAASDAGSL S	SMPPLEGEPG
		DPDLEFEPAR	SAPPEGECE	VIDSDSKSWS	TVSDQEDSVI	CCSMSYSWTG
		ALITPCGP EE	EKLPI SPLSN	SLMRFHNKVY	STTSRSASLR	AKKVTFDRVQ
		VIDAHYDSVL	QDVKRAASKV	SARLLSVEEA	CALTPPHSAK	SRYGFGAKEV
		RSLSRGAVNH	IRSVWEDLLE	DQHTPIDTTA	MAKNEVFCID	PAKGGKKPAR
		LIVYPDLGVR	VCEKMALYDI	AQKLPKAIMG	PSYGFQYSPA	ERVDFLLKAW
		GSKKDPMGFS	YDTRCFDSTV	TERDIRTEES	IYQACSLPQE	ARTVIHSITE
		RLYVGGPMTN	SKGQSCGYRR	CRASGVFTTS	MGNTMTCYIK	ALAACKAAGI
		VDPIMLVCGD	DLVVIS ESQG	NEEDERNLRA	FTEAMTRYSA	PPGDLP RPEY
		DLELITSCSS	NVSVALDSRG	RRRYFLTRDP	TPPITRAAWE	TVRHSPVNSW

5

10

15

20

25

Acceso a GenBank	Genotipo y Subtipo	Secuencia de Poliproteína HCV				
		LGNI IQYAPT	IWVRMVTMTH	FFSILLAQDT	LNQNLNFEMY	GAVYSVNPLD
		LPATIERLHG	LDAFSLHTYS	PHELSRVAAT	LRKLGAPPIR	AWKSRARAVR
		ASII IQGGRA	ATCGRYLFNW	AVKTKLKLTP	LPEASRLDLS	GWFTVCAGGG
		DIFHSVSHAR	PRLLLLCLLL	LSVGVGIFIL	PAR (SEC ID NO: 7)	
CAA72338	4 (ED43)	MSTNPKPQRK	TKRNTNRRPM	DVKFPGGGQI	VGGVYILERR	GPRLGVRATR
		KTSESRQPRG	RRQPIPKARR	PEGRSWAQPG	YPWPYLGNEG	CGWAGWLLSP
		RGRSPSWGPN	DPRGRSRNLG	KVIDTLTCGF	ADLMGYIELV	GAPVGSVARA
		LAHGVRAL ED	GINYATGNLP	GCSFSIFLJA	LLSCLTVPAS	AVNYRNVSGI
		YHVTNDCPNS	SIVYEADHHI	MHLPGCVPCV	REGNQSRCWV	ALTPTVAAPY
		IGAPLESIRS	HVDLMVGAAT	VCSGLYIGDL	CGGLEFLVGOM	FSFRPRRHWT
		TQDCNCSIYT	GHITGHRMAW	DMMMNWSPTT	TLVLAQVMRI	PTTLVDLLSG
		GIHWGVLVGA	YFSMQANWAK	VILVLFLEFAG	VDAETHVSGA	AVGRSTAGLA
		NLFSSGSKQN	LQLINSNGSW	HINRTALNCN	DSINTGFIAS	LFYTHKFNSS
		GCSERLACCK	SLDSYQQGWG	PIGVANISGS	SDDRPYCWHY	APRPCGIVPA
		SSVCGPVYCF	TPSPVVVGTT	DHVGVPETYTW	GENETDVELL	NSTRPPHGAW
		EGCVWMNSTG	FTKTCGAPPC	EVNTNNGTWH	CPTDCFRKHP	ETTYAKCGSG
		PWITPRCLTD	YPYRLWHFPC	TANESVENIR	TEVGGIEHRM	QAACNWTRGE
		VCGLEHRDRV	EISPLLLTTT	AWQILPCSET	TLPALSTGLI	HLHQNVLDVQ
		YLYGVGSADV	SWALKWEYVV	LAFLLLADAR	VSAYLWMMEM	VSQVEAALSN
		LININAASAA	GAQGEWYAIL	FICIVWHVKG	RFPAAAAYAA	CGLWPCFLLL
		LMLPERAYAY	DQEVAGSLGG	AIVVMLTILT	LSPHYKLWLA	RGLWWIQQYFI
		ARTEAVLHVY	IPSFNVRGPR	DSVIVLAVLV	CPDLVFDITK	YLLAILGLPH
		ILQASLLRIP	YFVRAQALVK	ICSLLRGVVY	GKYFQMVVLK	SRGLTGTYYIY
		DHLTPMSDWP	PYGLRDLAVA	LEPVVETPME	KKVIVWGADT	AACGDIIRGL
		PVSARLGNEI	LLGPA DTETS	KGWRL LAPIT	AYAQQTRGLE	STIVTSITGR
		DTNENCGEVQ	VLSTATQSFL	GTAVNGVMWT	VYHGA GAKTI	SGPKGPVNQM
		YTNVDQDLVG	WPAPPGVRS L	APCTCGSADL	YLVTRHADVI	PVRRRGDTRG
		ALLSPRPISI	LKGSSGGPLL	CPMGHRAGIF	RAAVCTRGVA	KAVDFVPVES
		LETTMRSPVF	TDNSTPPAVP	QTYQVAHLHA	PTGSGKSTKV	PAAHAAQGYK
		VIVLNPSVAA	TLGFGVYMSK	AYGIDPNIRS	GVRTTTTGAP	ITYSTYCKFL
		ADGGCSCGAY	DIIICDECYS	TDSTTILGIG	TVLDQAETAG	VRLTVLATAT
		PPGSVTTPHS	NIEEVALPTT	GEIPFYGKAI	PLELIKGGRII	LIFCHSKKKC
		DELARQLTSL	GINAVAYYRG	LDVSVIPTSG	DVVVCATDAL	MTGFTGDFDS
		VIDCNTSVIQ	TVDFSLDPTF	SIEITTVPQD	AVSRSQRRGR	TGRGRLGTYR
		YVTFGERPSG	MEDTAELCEC	YDAGCAWYEL	TEAETTTRLK	AYFDTPLGPV
		CQDHLEFWES	VETGLTHIDG	HELSTKQSG	ENFPYLVAYQ	ATVSAKVWLA
		PPSWDTMWKC	LIRLKPTLHG	PTPLLYRLGS	VQNEVVLTHP	ITKYIMACMS
		ADLEVVTSTW	VLVGGVLAAL	AAYCLSVGSV	VIVGRVVLSG	QPAVIPDREV
		IYQQFDEEMEE	CSKHLPLVEH	GLQLAEQFKQ	KALGLLNFAG	KQAQEATPVI

5

10

15

20

25

Acceso a GenBank	Genotipo y Subtipo	Secuencia de Poliproteína HCV				
		QSNFAKLEQF	WANDMWNFIS	GIQYLAGLST	LPGNPAIASL	MSFTAAVTSP
		LTTQQTLLFN	ILGGWVASQI	RSDASTAFV	VSGLAGA AVG	SVGLGKILVD
		ILPGYGAGVR	GAVVTFKIMS	GEMPSTEDLV	NLLPAILSPG	ALVVEVVCPA
		ILRRHVGPGE	GAVQWMNRLI	AFASRCNHVS	PTHYVPESDA	ARRVTITLSS
		LTVTSLLRRL	HKWINE DCST	PCAESWLWEV	WDWVLHVLS D	EKTC LKAKFV
		PLMPGIPLLS	WPRGYKGEWR	GDGVMHTTCP	CGADLAGHIK	NGSMRITGPK
		TCSNTWHGTF	PINAYTTGPG	VP I PAPNYKE	ALWRVSAEDY	VEVRRVGDEN
		YVTGVTQDNI	KEPCQVPAP E	LFTEVDGIRI	HRHAPKCKPL	LRDEVSFSVG
		LNSEVVGSQ L	PCEPEPDVAV	LTSMLTDPSH	ITAESARRRL	ARGSRPSLAS
		SSASQLSPRI	LQATCTAPHD	SPGTDLLEAN	LLWGSTATRV	ETDEKVIILD
		SFESCVAEQN	DDREVSVAAE	ILRPTKKFPP	ALPIWARPDY	NPPI TETWKQ
		QDYQAPT VHG	CALEPPAKQPP	VESPRRKRTV	QLTESVVSTA	LAELAAKTFG
		QSEPSSDRDT	DLTTP TETTD	SGPIVDDAS	DDGSYSSMPP	LEGE PGDPDL
		TSDSWSTVSG	SEDEVCCSMS	YSWTGALVTP	CAAESKLP I	SPLSNSLLRH
		HNMVYATTT R	SAVTRQKKVT	EDRLQVVDST	YNEVLKEIKA	RASRVKPRLL
		TTEEACDLTP	PHSARSKFGY	GKKDVRSHSR	KAINHISSVW	KDLLDNNTP
		IPTTIMAKNE	VFAVNPAGG	RKPARLIVYP	DLGSRVCEKR	ALHDVIK KTA
		I AVMGAAYGE	QYSPAQRVEF	LLTAWKSKND	PMGFSYDTRC	EDSTVTEKDI
		RVEEEVYQCC	DLEPEARKVI	TALTDRLVYG	GPMHNSKGDI	CGYRRCRATG
		VYTTSEGN TL	TCYLKATAAI	RAAALRDCTM	LVCGBDLVVI	AESD GVEEDN
		RALRAFT EAM	TRYSA PPGDA	PQPAYDLELI	TSCSSNV SVA	HDVTGKKVYY
		LTRDPETPLA	RAVWETVRHT	PVNSWLGNI I	VYAPTIWVRM	IIMTHFFSIL
		QSQEAL EKAL	DEFMYGVTYS	ITPLDLPAII	ORLHGLSAFT	LHGYS PHEIN
		RVAGALRKL G	VEPLRAWRHR	ARAVRAKLIA	QGGRAKICGI	YLENWAVKTK
		LKLTPLPAAA	KLDLSGWFTV	GAGGGDIYHS	MSHARPRYLL	LCLLILTVGV
		GIFLLPAR (SEC ID NO: 8)				
ABE98159	6a	MSTLPKPQRK	TKRNTNRRPM	DVKFPGGGQI	VGGVYLLPRR	GPRLGVRATR
		KTSESRQPRG	RRQPIPKARQ	PQGRHWAQPG	YPWPLYGNEG	CGWAGWLLSP
		RGSRPHWGPN	DFRRRSRNIG	KVIDTLTCGE	ADLMGYIPVV	GAPLGGVAAA
		LAHGVR AIED	GINYATGNLP	GCSFSIFLLA	LLSCLTPPAS	ALTYGNSSGL
		YHLTND CPNS	SIVLEADAMI	LHLPGCLPCV	RVDNQSTCWH	AVSPTIATPN
		ASTSATGFRR	HVDLLAGAAV	VCSSLYIGDL	CGSLFLAGQL	FTFQPRRHWT
		VQDCNC SIYT	GHVTGHRMAW	DMMMNWSPTT	TLVLSSILRV	PEICASVIFG
		GHWGILIAVA	YFGMAGNWLK	VLAVLFLFAG	VEATTTIGRE	MGSTTAGLVR
		FLAPGPKQNL	QIJNTNGSWH	INRTALNCND	SLQTGFIA SL	FYAH T FNSSG
		CPERMAACRP	LADFRQGWGQ	ITYKDNISGP	SDDRPYCWHY	APRPCS VVPA
		STVCGPVYCF	TPSPVVVGTT	DRRGNPTYTW	GENETDVFMI	GSLRPPTGGW
		FGCTWMNSTG	FTKTCGAPPC	QIVPGDYNSS	ANELICPTDC	FRKHPEATYQ
		RCGSGPWLTP	RCLVHYPYRI	WHYPCTINFT	VHKVRMFVGG	IEHRFDAACN

5

10

15

20

25

Acceso a GenBank	Genotipo y Subtipo	Secuencia de Poliproteína HCV				
		WTRGERCELH	DRDRIEMSPL	LFSTTQLSIL	PCSFSTMPAL	STGLIHILIQN
		IVDVQYLYGV	SSSVTSWVVK	WEYIVLMFLV	LADARICTCL	WLMLLISNVE
		AAVERLVVLN	AASAAGTAGW	WWAVLFLCCV	WYVKGRIVPA	CTYTALGMWP
		LLLTILALPR	RAYAMDNEQA	ASLGAVGLLV	ITIFTITPMY	KKLLTCFIWW
		NQYFIARAEA	MIHEWVPDLR	VRGGRDSIIL	LTCLLHPQLG	FEVTKILLAI
		IAPLYILQYS	LLKVYPFVRA	HTLLRACLLV	RRLAGGKYVQ	ACLIKICAWT
		GTYYVDHLAP	LSDWASDGLR	DLAVAVEPVI	FSPMEKKIIT	WGADTAACGD
		JLSGLPV SAR	LGNLVLLGPA	DDMQRGGWKL	LAPTAYAAQQ	TRGLVGTIVT
		SLTGRDKNEV	EGEVQVVSTA	TQSFLATSIN	GVMWTVYHGA	GSKTLGAPKG
		PVCQMYTNVD	QDLVGWPSPP	GARSLTPCTC	GSNDLYLVTR	EADVIPARRR
		GDSRAALLSP	RPISTIKGSS	GGPIMCPSGH	VVGLFRAAVC	TRGVAKSLDF
		IPVENMETTM	RSPSFTDNST	PPAVPQTYQV	GYLHAPTGS	KSTRVPAAYA
		SQGYKVLVLN	PSVAATLSEF	SYMRQAYGVE	PNVRTGVRTI	TTGGATTYST
		YGKFLADGGC	SGGAYDIIC	DECHSTDPTT	VLGIGTVLDQ	AETAGVRLTV
		LATATPPGSV	TVPHPNITET	ALPTTGEIPF	YGKAIPEYI	KGGRHLIFCH
		SKKKCDEL AG	KLKSLGLNAV	AFYRGVDVSV	IPTSGDVVVC	ATDALMTGYT
		GDFDSVIDCN	VAVTQVVD FS	LDPTFSIETT	TVPQDAVSRS	QRRGRTGRGK
		PGVYRFVSQG	ERP SGMFDTV	VLCEAYDTGC	AWYELETSET	TVRLRAYLNT
		PGLPVCQDHL	EEWEGVFTGL	THIDAHFLSQ	TKQGGFNFAY	LVAYQATVCA
		RAKAPPPSWD	TMWKCLIRLK	PTLTGPTPLL	YRLGAVQNEI	ITTHPITKYI
		MTCMSADLEV	ITSTWVIVGG	VLAALAAYCL	SVGCVVICGR	ITLTGKPVVV
		PDREVLYQQF	DEMEECSRHI	PYLAEGQQIA	EQFRQKVLGL	LQASAKQAE
		LKPAVHSAMP	RVEEFWRKHM	WNEVSGIQYL	AGLSIWP GNP	AVASLMSFTA
		SLTSPLRTSQ	TLLLNLGCGW	IATQVAPPPA	STAFVVSGLA	GATVGSIGLG
		RVLVDVLAGY	GAGVSGALVA	EKIMSGECPS	TEDMVNLLPA	LLSPGALVVG
		VVCAAILRRH	VGPAEGANQW	MNRLIAFASR	GNHVSPTHYV	PETDASKNVT
		QILTSLTITS	LLRRLHQWVT	EDTATPCATS	WLRDWDWVC	TVLSDFKVLW
		KAKLLPRLPG	IPFLSCQTGY	RGVWAGDGVC	HTTCTPCGAVI	AGHVKN GSKM
		ITGPKTCSNT	WHGTFFINAT	TTGPSTPRPA	PNYQRALWRV	SAEDYVEVRR
		LGDCHYV VGA	TAEGLKPCPCQ	VPAPPEFFTEV	DGVRTHRYAP	PCKPLLRDEV
		TFSVGLSTYA	IGSQLPCEPE	PDVTVVTSML	TDPTHITAET	AARLRKRGSP
		PSLASSSASQ	LSAPSLKATC	TTSKDHPDME	LIEANLLWRQ	EMGGNITRVE
		SENKVVILDS	FEPLTADYDE	REISVSAECH	RPPRHKEFPA	LPIWARPDYN
		PPLIQAWQMP	GYEPPVVS GC	AVAPPKPAPI	PPPRRKRLVH	LDESTVSHAL
		AQLADKVFVE	SSDGFGPSSD	SGLSITSPVP	PTPTTPDDAC	SEAESYSSMP
		PLEGEPGD PD	LSSGSWSTVS	DQDDVVCCSM	SYSWTGALIT	PCAAEEFEKLP
		INPLSN SLTR	HHNMVYSTTS	RSASLRQKKV	TFDRVQVFDQ	HYQEV LKEIK
		LRASTVQAKL	LSIEEACDLT	PSHSARSKYG	YCAKDVRSHA	SKAVDHIRSV
		WEDLLEDSDT	PIPTTIMAKN	EVFCVDPSKG	GRKPARLIVE	PDLGVRVCEK

5

Acceso a GenBank	Genotipo y Subtipo	Secuencia de Poliproteína HCV				
		MALYDVTRKL	PQAVMGPAYG	FQYSPNQRVE	YLLKMWRSKK	VPMGFSYDTR
		CFDSTVTERD	IRTENEIYQS	CQLDPMARKA	VSSLTERLYV	GGPMVNSKGQ
		SCGYRRCRAS	GVLPTSMGNT	ITCYLKAQAA	CRAANIKDYD	MLVCGDDIVV
		ICESAGVQED	TASLRAFTDA	MTRYSAAPPD	APQPTYDLEL	ITSCSSNVSV
		AHDGNGKRY	YLTRDCTTPL	ARAAWETARH	TPVNSWLGNI	IMFAPTIWVR
		MVLMTHFFSI	IQSQEQLEKA	LDEDIYGVTY	SVSPLDLPAI	IQRIHGMAAF
		SLHGYSPEL	NRVGACLRKL	GAPPLRAWRI	RARAVRAKLI	AQGGKAAICG
		KYLENWAVKT	KLKLTPIASA	SKLDLSDWFV	AGYDGGDIYH	SVSLARPRLL
		LLGLLLLTVG	VGIFLLPAR	(SEC ID NO: 9)		

10

15

20

25

Aunque las secuencias de poliproteínas HCV ilustrativas son provistas en la presente, se apreciará que cualquier secuencia que tiene características de un epítopo de la proteína E2 puede utilizarse. En algunas modalidades, una poliproteína HCV para utilizarse de acuerdo con la presente invención tiene una secuencia de aminoácido que es de aproximadamente 60% idéntica, aproximadamente 70% idéntica, aproximadamente 80% idéntica, aproximadamente 85% idéntica, aproximadamente 90% idéntica, aproximadamente 91% idéntica, aproximadamente 92% idéntica, aproximadamente 93% idéntica, aproximadamente 94% idéntica, aproximadamente 95% idéntica, aproximadamente 96% idéntica, aproximadamente 97% idéntica, aproximadamente 98% idéntica, aproximadamente 99% idéntica, o 100% idéntica a una secuencia seleccionada del grupo que consiste de SEC ID NOs: 4-9. En algunas modalidades, tal poliproteína HCV comprende una secuencia que retiene la habilidad de unirse a uno o más anticuerpos E2 HCV.

En algunas modalidades, una proteína de una poliproteína HCV tiene una secuencia de aminoácido que comprende aproximadamente 50 aminoácidos contiguos de una secuencia seleccionada del grupo que consiste de SEC ID NOs:

5 4-9. En algunas modalidades, una porción de la poliproteína HCV tiene una secuencia de aminoácido que es aproximadamente 60% idéntica, aproximadamente 70% idéntica, aproximadamente 80% idéntica, aproximadamente 85% idéntica, aproximadamente 90% idéntica, aproximadamente 91% idéntica, aproximadamente

10 92% idéntica, aproximadamente 93% idéntica, aproximadamente 94% idéntica, aproximadamente 95% idéntica, aproximadamente 96% idéntica, aproximadamente 97% idéntica, aproximadamente 98% idéntica, aproximadamente 99% idéntica, o 100% idéntica a un alargamiento contiguo de aproximadamente 50 aminoácidos de

15 una secuencia seleccionada del grupo que consiste de SEC ID NOs: 4-9.

En algunas modalidades, una porción de la poliproteína HCV tiene una secuencia de aminoácido que comprende aproximadamente 42 aminoácidos contiguos de una

20 secuencia seleccionada del grupo que consiste de SEC ID NOs: 4-9. En algunas modalidades, una porción de la poliproteína HCV tiene una secuencia de aminoácido que es de aproximadamente 60% idéntica, aproximadamente 70% idéntica, aproximadamente 80% idéntica, aproximadamente 85% idéntica,

25 aproximadamente 90% idéntica, aproximadamente 91% idéntica,

aproximadamente 92% idéntica, aproximadamente 93% idéntica, aproximadamente 94% idéntica, aproximadamente 95% idéntica, aproximadamente 96% idéntica, aproximadamente 97% idéntica, aproximadamente 98% idéntica, aproximadamente 99% idéntica, o
5 100% idéntica a un alargamiento contiguo de aproximadamente 42 aminoácidos de de una secuencia seleccionada del grupo que consiste de SEC ID NOs: 4-9.

En algunas modalidades, una porción de la poliproteína HCV tiene una secuencia de aminoácido que
10 comprende aproximadamente 45, aproximadamente 40, aproximadamente 35, aproximadamente 30, aproximadamente 25, aproximadamente 20, aproximadamente 15, aproximadamente 10, o aproximadamente 5 aminoácidos contiguos de una secuencia seleccionada del grupo que consiste de SEC ID NOs: 4-9. En
15 algunas modalidades, una porción de la poliproteína HCV tiene una secuencia de aminoácido que es de aproximadamente 60% idéntica, aproximadamente 70% idéntica, aproximadamente 80% idéntica, aproximadamente 85% idéntica, aproximadamente 90% idéntica, aproximadamente 91% idéntica, aproximadamente 92%
20 idéntica, aproximadamente 93% idéntica, aproximadamente 94% idéntica, aproximadamente 95% idéntica, aproximadamente 96% idéntica, aproximadamente 97% idéntica, aproximadamente 98% idéntica, aproximadamente 99% idéntica, o 100% idéntica a un alargamiento contiguo de aproximadamente 45, aproximadamente
25 40, aproximadamente 35, aproximadamente 30, aproximadamente

25, aproximadamente 20, aproximadamente 15, aproximadamente 10, o aproximadamente 5 aminoácidos contiguos de una secuencia seleccionada del grupo que consiste de SEC ID NOs: 4-9.

5 Un experto en la técnica reconocerá que las poliproteínas HCV enumeradas en la Tabla 1 son meramente ejemplos representativos de poliproteínas HCV. Varios genotipos, subtipos y/o aislados de HCV existen y continúan siendo identificados. Se entenderá por un experto en la
10 técnica que los métodos y composición provistos en la presente pueden adaptarse para utilizar secuencias de genotipos, subtipos y/o aislados adicionales. Tal variación se contempla y está adaptada dentro de los métodos y composiciones provistos en la presente.

15 Mimótopos

 Un mimótopo en su sentido más amplio, se refiere a una macromolécula que imita la estructura de un epítipo. En algunas modalidades, un mimótopo provoca una respuesta de anticuerpo idéntica o similar a la provocada por su epítipo
20 correspondiente. En algunas modalidades, un anticuerpo que reconoce un epítipo también reconoce mimótopo que emite ese epítipo. En algunas modalidades, un mimótopo es un péptido. En algunas modalidades, un mimótopo es una molécula pequeña, carbohidrato, lípido o ácido nucleico.

25 Los anticuerpos de acuerdo con la invención pueden

utilizarse para clasificar mimótopos. Los mimótopos pueden prepararse utilizando despliegue de fago, y los péptidos clasificados con los anticuerpos en cuestión (Livnah et al., 1996, *Science*, 273:464; y Prezzi et al., 1996, *J. Immunol.*, 156:4504; ambas incorporadas por referencia en la presente).
5 En algunas modalidades, los mimótopos son mimótopos de péptido o no de péptido de epítomos HCV conformacionalmente conservados. Los anticuerpos que reconocen epítomos HCV conformacionalmente conservados pueden utilizarse como
10 plantillas para el diseño racional del péptido o imitaciones estructurales no de péptido del epítomo adaptativo o los mimótopos.

En algunas modalidades, al imitar la estructura de un epítomo viral conformacionalmente definido, un mimótopo
15 interfiere con la habilidad de las partículas virales HCV para unirse a sus asociados de unión naturales (por ejemplo, el receptor objetivo HCV), por ejemplo, a través de la unión del asociado de unión natural mismo. Por ejemplo, el análisis de una estructura de cristal resuelta que define la interfase
20 entre un anticuerpo monoclonal y el factor de necrosis tumoral (TNF) permitió el diseño racional de un mimético no de péptido capaz de antagonizar la función biológico de TNF a través de la unión al receptor TNF (Takasaki et al., 1997, *Nat. Biotech.*, 15:1266-1270; incorporada por referencia en la
25 presente). Las técnicas computacionales que pueden utilizarse

para racionalmente deducir el pliegue de la proteína de una
secuencia de aminoácido primaria para utilizarse en un diseño
de un mimético estructura de péptido son revisadas en
Teichmann et al. (1999, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 9:390-399;
5 incorporada por referencia en la presente). La aplicación
práctica de los programas de computadora para utilizarse en
la modelación estructural de epítomos conformacionalmente
conservados se describe en Schwartz et al. (1999, *J. Mol.*
Biol. 287:983; incorporada por referencia en la presente). Un
10 método alternativo para racionalmente crear un mímico
estructural de péptido de un epítomo de anticuerpo involucra
permutaciones sistemáticas de péptidos sintéticos diseñados
para hacer una representación lineal de un sitio de unión de
anticuerpo discontinuo (Reineke et al., 1999, *Nat. Biotech.*,
15 17:271; incorporada por referencia en la presente).

Los péptidos u otras moléculas pequeñas pueden
tener una afinidad específica para un anticuerpo monoclonal y
pueden ser competitivos con un epítomo de una proteína E2
conformacionalmente intacta. Alternativa o adicionalmente,
20 los péptidos u otras moléculas pequeñas pueden tener una
afinidad específica para un anticuerpo monoclonal y pueden
ser competitivas con un epítomo de E2 en complejo con E1.
Tales péptidos pueden utilizarse como vacunas, en ensayos de
diagnóstico, para inmunización para la producción de
25 anticuerpos para un epítomo HCV específico, en ensayos de

competencia para definir el genotipo y/o subtipo, y similar. Ver, por ejemplo, Puntoriero et al. (1998, *EMBO J.*, 17:3521-3533; incorporada por referencia en la presente), Meola et al. (1995, *J. Immunol.*, 154:3162-3172; incorporada por
5 referencia en la presente), y Tafi et al., (1997, *Biol. Chem.*, 378:495-502; incorporada por referencia en la presente).

Otro método para efectivamente crear miméticos estructurales de epítomos HCV conformacionalmente conservados
10 es producir anticuerpos anti-idiotípicos para anticuerpos HCV conformacionalmente dependientes. Los anti-idiotípicos pueden efectivamente bloquear la unión de un virus nativo con su receptor objetivo (Chanh et al., 1987, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 84:3891-3895; Kopecky et al., 1999, *Intervirology*,
15 42:9-16; y Xue et al., 1993, *J. Gen. Virol.*, 74:73-79; todas las cuales se incorporan aquí por referencia). Los anticuerpos anti-idiotípicos reconocen los sitios de unión adaptativos de cualquiera de los anticuerpos HCV HC-1, HC-3, HC-11, y CBH-23, que podrían evitar la inefectividad viral a
20 través de la interferencia con la unión de E2 a una proteína celular efectiva, o aún mediante la interferencia con la unión del virión a la célula objetivo.

En algunas modalidades, los mímicos del epítomo (por ejemplo, mimótopos) pueden servir como herramientas para
25 el descubrimiento de fármacos. Para dar un ejemplo, un mímico

de epítopo (por ejemplo, péptido, molécula pequeña, etc.) que imita la unión de la proteína E2 para un anticuerpo HCV podría utilizar para clasificar otros agentes (por ejemplo, péptidos, proteínas, anticuerpos, moléculas pequeñas, etc.)

5 que se unen al epítopo. En algunas modalidades, tales agentes identificados pueden exhibir similares especificidades de unión y/o afinidad para el epítopo E2 que un anticuerpo E" HCV no lo hace. En algunas modalidades, tales agentes identificados pueden exhibir una especificidad de unión

10 aumentada y/o afinidad para el epítopo E2 que un anticuerpo HCV E2 no lo hace.

Aplicaciones

En algunas modalidades, los anticuerpos HCV de acuerdo con la invención pueden utilizarse para propósitos

15 profilácticos, terapéuticos y/o diagnóstico. En algunas modalidades, los anticuerpos HCV de acuerdo con la invención pueden utilizar para tratar (por ejemplo, aliviar, mitigar, relevar, retrasar el inicio de, inhibir el avance de, reducir la severidad de, y/o reducir la incidencia de uno o más

20 síntomas o características de) infección HCV, enfermedad de hígado mediada por HCV, y/o cualquier otra afección asociada con HCV. En algunas modalidades, los anticuerpos HCV pueden utilizarse para una variedad de propósitos terapéuticos, por ejemplo, inmunoterapia. En algunas modalidades, los

25 anticuerpos HCV pueden utilizarse para una variedad de

propósitos profilácticos y/o inmunización pasiva, por ejemplo, para el desarrollo de vacunas para HCV. En algunas modalidades, los anticuerpos HCV pueden utilizarse para una variedad de propósitos de diagnóstico, por ejemplo, para
5 capturar y/o identificar viriones HCV y/o la proteína E2. Estos y otros usos para los anticuerpos HCV se describen con mayor detalle en las siguientes secciones. En algunas modalidades, las aplicaciones terapéutica, diagnóstica y/o profiláctica utilizan anticuerpos HCV y/o sus composiciones
10 farmacéuticas, como se describe en la presente. Se apreciará que los anticuerpos pueden dirigirse a epítomos adaptativos, como se describe en la presente.

En algunas modalidades, los anticuerpos E2 HCV pueden dirigirse a epítomos E2 de un solo genotipo HCV, dos
15 genotipos HCV, tres genotipos HCV, cuatro genotipos HCV, cinco genotipos HCV, seis genotipos HCV, siete genotipos HCV, ocho genotipos HCV, nueve genotipos HCV, diez genotipos HCV, once genotipos HCV, o más de once genotipos HCV, y deberán descubrirse nuevos genotipos HCV en el futuro.

20 En algunas modalidades, los anticuerpos E2 HCV pueden dirigirse a epítomos E2 de un solo subtipo HCV, dos subtipos HCV, tres subtipos HCV, cuatro subtipos HCV, cinco subtipos HCV, seis subtipos HCV, siete subtipos HCV, ocho subtipos HCV, nueve subtipos HCV, diez subtipos HCV, 11
25 subtipos HCV, 12 subtipos HCV, 13 subtipos HCV, 14 subtipos

HCV, 15 subtipos HCV, 16 subtipos HCV, 17 subtipos HCV, 18 subtipos HCV, 19 subtipos HCV, 20 subtipos HCV, 21 subtipos HCV, o más de 21 subtipos HCV, y deberán descubrirse en el futuro nuevos subtipos HCV.

5 En algunas modalidades, los anticuerpos E2 HCV pueden dirigirse epítomos E2 de una sola cepa HCV, dos cepas HCV, tres cepas HCV, cuatro cepas HCV, cinco cepas HCV, seis cepas HCV, siete cepas HCV, ocho cepas HCV, nueve cepas HCV, diez cepas HCV, 20 cepas HCV, 30 cepas HCV, 40 cepas HCV, 50
10 cepas HCV, 75 cepas HCV, 100 cepas HCV, o más de 100 cepas HCV, y deberán descubrirse nuevas cepas HCV en el futuro.

Aplicaciones Terapéuticas

La presente invención proporciona sistemas y métodos para tratar pacientes que sufren de, son susceptibles
15 a, y/o despliegan síntomas de infección HCV. En algunas modalidades, la invención proporciona sistemas y métodos útiles para estratificar pacientes que sufren de, son susceptibles a, y/o despliegan síntomas de infección HCV.

En algunas modalidades, las aplicaciones
20 terapéuticas comprenden la administración de una cantidad terapéuticamente efectiva de por lo menos un anticuerpos HCV de acuerdo con la invención a un sujeto en la necesidad del mismo. En algunas modalidades, la administración de los anticuerpos HCV a un sujeto pueden aliviar, mitigar, relevar,
25 retrasar el inicio de, inhibir el avance de, reducir la

severidad de, y/o reducir la incidencia de uno o más de los signos, síntomas, y/o características de la infección HCV.

En algunas modalidades, la administración de los anticuerpos HCV reduce el nivel de viriones HCV circulantes en un sujeto (por ejemplo, viriones HCV que son capaces de infectar nuevas células). En algunas modalidades, la administración de los anticuerpos HCV reduce el nivel de HCV viriones HCV circulantes en un sujeto en aproximadamente 10%, aproximadamente 20%, aproximadamente 30%, aproximadamente 40%, aproximadamente 50%, aproximadamente 60%, aproximadamente 70%, aproximadamente 80%, aproximadamente 90%, aproximadamente 95%, aproximadamente 99%, o aproximadamente 100% con relación a controles no tratados.

En algunas modalidades, los anticuerpos HCV pueden utilizarse *in vitro* para reducir la carga viral en un sujeto. Para reducir la carga viral de un componente corporal, particularmente un componente corporal de un paciente infectado con HCV, la sangre del paciente se hace pasar a través de un dispositivo que comprende anticuerpos unidos a una superficie de soporte sólido para capturar viriones HCV (ver, por ejemplo, Patentes de E. U. A. Nos. 5,698,390 y 4,692,411; ambas incorporadas por referencia en la presente). Varios otros dispositivos encontrados en la literatura pueden encontrarse con los anticuerpos en cuestión para lograr un resultado similar. Un componente corporal puede ser un fluido

biológico (por ejemplo, sangre, suero, etc.), un tejido, un órgano, tal como el hígado, y similar.

En algunas modalidades, el "nivel de viriones HCV circulantes en un sujeto" se refiere a un número absoluto de viriones que circulan en un sujeto. En algunas modalidades, el "nivel de viriones HCV circulantes en un sujeto" se refiere al número de viriones por volumen unitario (por ejemplo, mililitro, litro, etc.) de la sangre de un sujeto. En algunas modalidades, el "nivel de viriones HCV circulantes en un sujeto" se refiere a la carga viral y/o niveles de ARN HCV.

En algunas modalidades, la administración de los anticuerpos HCV inhibe la replicación de los viriones HCV en un sujeto, por ejemplo, mediante el bloqueo de la infección de células no infectadas. En algunas modalidades, la administración de los anticuerpos HCV inhiben la replicación de viriones HCV en un sujeto en aproximadamente 2-veces, aproximadamente 3-veces, aproximadamente 4-veces, aproximadamente 5-veces, aproximadamente 10-veces, aproximadamente 50-veces, aproximadamente 100-veces, aproximadamente 500-veces, aproximadamente 1000-veces, aproximadamente 10,000-veces, o más de aproximadamente 10,000-veces con relación a los controles no tratados.

En algunas modalidades, la administración de los anticuerpos HCV aniquila y/o inactiva los viriones HCV en un

sujeto. En algunas modalidades, la administración de los anticuerpos HCV aniquila y/o inactiva aproximadamente 10%, aproximadamente 20%, aproximadamente 30%, aproximadamente 40%, aproximadamente 50%, aproximadamente 60%,
5 aproximadamente 70%, aproximadamente 80%, aproximadamente 90%, aproximadamente 95%, aproximadamente 99%, o aproximadamente 100% de viriones HCV en un sujeto con relación a los controles no tratados.

En algunas modalidades, la administración de los
10 anticuerpos HCV inhibe la unión del virus a las proteínas objetivo celulares. En algunas modalidades, la administración de los anticuerpos HCV inhibe la unión del virus a por lo menos una proteína objetivo celular en aproximadamente 2-veces, aproximadamente 3-veces, aproximadamente 4-veces,
15 aproximadamente 5-veces, aproximadamente 10-veces, aproximadamente 50-veces, aproximadamente 100-veces, aproximadamente 500-veces, aproximadamente 1000-veces, aproximadamente 10,000-veces, o más de aproximadamente 10,000-veces con relación a los controles no tratados. Para
20 dar un ejemplo, la administración de los anticuerpos HCV puede inhibir la unión del virus HCV a CD81. En algunas modalidades, la administración de los anticuerpos HCV inhibe la unión de HCV a CD81 en aproximadamente 2-veces, aproximadamente 3-veces, aproximadamente 4-veces,
25 aproximadamente 5-veces, aproximadamente 10-veces,

aproximadamente 50-veces, aproximadamente 100-veces,
aproximadamente 500-veces, aproximadamente 1000-veces,
aproximadamente 10,000-veces, o más de aproximadamente
10,000-fold con relación a los controles no tratados.

5 En algunas modalidades, la administración de los
anticuerpos HCV inhibe la fusión mediada por el virus con una
célula objetivo. En algunas modalidades, la administración de
los anticuerpos HCV inhibe la fusión mediada por el virus con
una célula objetivo en aproximadamente 2-veces,
10 aproximadamente 3-veces, aproximadamente 4-veces,
aproximadamente 5-veces, aproximadamente 10-veces,
aproximadamente 50-veces, aproximadamente 100-veces,
aproximadamente 500-veces, aproximadamente 1000-veces,
aproximadamente 10,000-veces, o más de aproximadamente
15 10,000-veces con relación a los controles no tratados.

En algunas modalidades, la administración de los
anticuerpos HCV inhibe los cambios conformaciones de una o
más proteínas asociadas con la entrada del virus. En algunas
modalidades, la administración de los anticuerpos HCV inhibe
20 los cambios adaptativos de una o más proteínas asociadas con
la entrada del virus en aproximadamente 2-veces,
aproximadamente 3-veces, aproximadamente 4-veces,
aproximadamente 5-veces, aproximadamente 10-veces,
aproximadamente 50-veces, aproximadamente 100-veces,
25 aproximadamente 500-veces, aproximadamente 1000-veces,

aproximadamente 10,000-veces, o más de aproximadamente 10,000-veces con relación a los controles no tratados.

En algunas modalidades, la administración de los anticuerpos HCV promueve la activación del complemento
5 mediado por el anticuerpo. En algunas modalidades, la administración de los anticuerpos HCV promueve la activación del complemento mediado por el anticuerpos en aproximadamente 2-veces, aproximadamente 3-veces, aproximadamente 4-veces, aproximadamente 5-veces, aproximadamente 10-veces,
10 aproximadamente 50-veces, aproximadamente 100-veces, aproximadamente 500-veces, aproximadamente 1000-veces, aproximadamente 10,000-veces, o más de aproximadamente 10,000-veces con relación a los controles no tratados.

En algunas modalidades, la administración de los
15 anticuerpos HCV promueve la agregación mediada por los anticuerpos de los viriones, que conduce a la depuración a través de las células fagocíticas. En algunas modalidades, la administración de los anticuerpos HCV promueve la agregación mediada por el anticuerpo de los viriones en aproximadamente
20 2-veces, aproximadamente 3-veces, aproximadamente 4-veces, aproximadamente 5-veces, aproximadamente 10-veces, aproximadamente 50-veces, aproximadamente 100-veces, aproximadamente 500-veces, aproximadamente 1000-veces, aproximadamente 10,000-veces, o más de aproximadamente
25 10,000-veces con relación a los controles no tratados.

El chimpancé es un modelo de animal aceptado por la clasificación de vacunas HCV y terapéuticos (Ver, por ejemplo, Farci et al., 1996, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 93:15394-15399; Farci et al., 1994, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 91:7792-7796; Farci et al., 1992, *Science*, 258:135-140; 5 Krawczynski et al., 1996, *J. Infect. Dis.*, 173:822-828; y Bassett et al., 1998, *J. Virol.*, 72:2589-2599; todas las cuales se incorporan aquí por referencia). La efectividad del anticuerpo puede determinarse mediante el monitoreo de la presencia y la concentración del ARN HCV utilizando métodos 10 PCR cuantitativos. Una reducción exitosa de la carga viral, o la prevención de infección en un animal de prueba o sujeto se refleja como una reducción o eliminación del ARN HCV en suero. Las pruebas enzimáticas tales como la medición de la alanina aminotransferasa u otras enzimas del hígado y/o del 15 uso de biopsias del hígado con agujas perforadoras secuenciales también pueden utilizarse para probar la efectividad, en donde la mejora en la clasificación de cualquiera indicaría una reducción en el daño en el hígado 20 inducido por hígado.

En algunas modalidades, la administración de los anticuerpos HCV da como resultado una interferencia con cambios adaptativos en las proteínas de envolturas virales necesarias para la infectividad celular. Por ejemplo, los 25 anticuerpos HCV administrados pueden unirse a las proteínas

de envoltura virales, por lo tanto estéricamente bloqueando la habilidad de la proteína de envoltura para reconocer y/o interactuar con las superficies celulares (por ejemplo, con proteínas, por ejemplo CD81; lípidos; carbohidratos; 5 receptores; etc., en las superficies celulares). En algunas modalidades, los anticuerpos HCV administrados puede unirse a tales proteínas de envoltura virales, por lo tanto cambiando la conformación tridimensional de la proteína de envoltura en tal forma que la convierte en una proteína de envoltura 10 incapaz de reconocer y/o interactuar con las superficies celulares (por ejemplo, con proteínas, lípidos, carbohidratos, receptores, etc., en las superficies celulares).

En algunas modalidades, los regímenes de 15 tratamiento se adaptan particularmente para el individuo que se está tratando. En resumen, se proporciona el a ser tratado, y una muestra del suero se toma del paciente. La muestra del suero después se analiza para la presencia de anticuerpos particulares, para dar unos cuantos ejemplos, 20 anticuerpos neutralizantes, anticuerpos que se unen a una región o epítipo particular de una proteína de HCV, etc. Cualquier método conocido en la técnica, incluyendo pero no limitándose a los descritos en esta solicitud, puede utilizarse para determina la presencia de los anticuerpos a 25 ser detectados (por ejemplo, ELISA, ensayo de competencia,

neutralización de virus del ensayo de unión, etc.)). Con base en el nivel de anticuerpos en el suero de un paciente, el tratamiento puede diseñarse para el paciente. Por ejemplo, un paciente que no tiene anticuerpos que se sabe que interfieren con la unión de los viriones a su receptor natural puede tratarse con anticuerpos monoclonales de ese tipo. En algunas modalidades, el suero de un paciente (por ejemplo, paciente que sufre de, es susceptible a, está infectado con, y/o despliega síntomas de infección HCV, enfermedad de hígado mediada por HCV y/o cualquier otra afección asociada con HCV) se considera positivo para la presencia un anticuerpo de competencia si 50% o una inhibición mayor de la unión E2 se obtiene en una dilución del suero del paciente de 1/100 o mayor, 1/200 o mayor, 1/300 o mayor, 1/400 o mayor, 1/500 o mayor, 1/600 o mayor, 1/700 o mayor, 1/800 o mayor, 1/900 o mayor, o 1/1000 o mayor.

En algunas modalidades, los métodos tales como los descritos anteriormente pueden ser ventajosos debido a que el tratamiento de adapta al individuo particular que se está tratando, por ejemplo; solamente aquellos anticuerpos que son necesarios y no se producen naturalmente por el paciente se administran. Esto evita o reduce el riesgo de reacciones adversas de la administración de terapéuticos que nos necesarios. Tales métodos eliminan el gasto de tratar pacientes que no se beneficiarían de tal tratamiento. Por

ejemplo, si un paciente ya está produciendo niveles terapéuticos de un anticuerpo para un epítipo particular de E2, no hay necesidad de administrar un anticuerpo monoclonal humano dirigido contra el epítipo exógenamente.

5 El tratamiento de un sujeto con anticuerpos HCV puede darse solo, durante el curso de otro tratamiento, y/o durante el cese del tratamiento de otros compuestos antivirales. Alternativa o adicionalmente, los anticuerpos HCV pueden físicamente conjugarse (por ejemplo,
10 covalentemente o no covalentemente) para toxinas o proteínas conocidas capaces de inducir apoptosis y otros procesos de muerte celular. Los anticuerpos HCV modificados pueden administrarse a individuos que sufren de, son susceptibles a, están infectados con, y/o describen síntomas de infección
15 HCV, enfermedad de hígado mediada por HCV, y/o cualquier otra afección asociada con HCV como un medio para mitigar las células infectadas con HCV.

Aplicaciones Profilácticas

En algunas modalidades, los anticuerpos HCV de
20 acuerdo con la invención pueden utilizarse para aplicaciones profilácticas. En algunas modalidades, las aplicaciones profilácticas involucran sistemas y métodos para prevenir, inhiben la base, y/o retrasar el inicio de la infección HCV, enfermedad de hígado mediada por HCV, y/o cualquier otra
25 afección asociada con HCV en individuos susceptibles

susceptibles a y/o despliegan síntomas de infección HCV, enfermedad de hígado mediada por HCV, y/o cualquier otra afección asociada con HCV. En algunas modalidades, las aplicaciones profilácticas involucran sistemas y métodos para
5 prevenir, inhibir el avance de, y/o retrasar el inicio de una enfermedad de hígado crónica. En algunas modalidades, las aplicaciones profilácticas involucran sistemas y métodos para prevenir, inhibir el avance de, y/o retrasar el inicio de enfermedad del hígado. En algunas modalidades, las
10 aplicaciones profilácticas involucran sistemas y métodos para prevenir, inhibir el avance de, y/o retrasar el inicio de la falla hepática.

En algunas modalidades, las vacunas para HCV pueden utilizarse para inmunización pasiva (es decir, la
15 inmunización en los anticuerpos se administran a un sujeto). En algunas modalidades, las vacunas para HCV para inmunización pasiva pueden comprender anticuerpos HCV tales como cualquiera de las composiciones descritas en la presente. En algunas modalidades, la inmunización pasiva da
20 lugar cuando los anticuerpos se están transfiriendo de la madre al feto durante el embarazo. En algunas modalidades, los anticuerpos se administran directamente a un individuo (por ejemplo, a través de inyección, oralmente, etc.).

En algunas modalidades, las aplicaciones
25 profilácticas pueden incluir administrar vacunas. En algunas

modalidades, la vacunación se adapta al paciente individual. Por ejemplo, como se describe anteriormente, el suero puede recolectarse en un paciente y ensayarse para la presencia de anticuerpos HCV. En algunas modalidades, una vacuna puede
5 diseñarse para inducir la producción de anticuerpos que se ha encontrado que faltan en el paciente. En algunas modalidades, es deseable que las composiciones de vacuna comprendan antígenos para tener una conformación nativa, mediar una respuesta protectora (por ejemplo, activación de complemento,
10 neutralización de virus, etc.), y/o pueden inducir una fuerte respuesta al anticuerpos. En algunas modalidades, una vacuna contiene un epítipo o uno de sus mimótopos cuyos anticuerpos no están produciendo naturalmente en el individuo. Por ejemplo, los mimótopos de péptidos sintéticos aislados con
15 anticuerpos HCV (o ejemplo, anticuerpos HCV que reconocen múltiples genotipos y/o subtipos) tienen el potencial de reducir una respuesta inmunitaria potente similar al anticuerpo utilizado en el aislamiento original del mimótopo. La administración de tal vacuna puede inducir que un sistema
20 inmunitario del paciente inicia la producción de un grupo de anticuerpos dirigidos contra el epítipo administrado. Se apreciará que los mimótopos (o epítipos) de acuerdo con la invención pueden utilizarse solos o en combinación con proteínas recombinantes, virus HCV inactivado, virus HCV
25 aniquilado, y/o como un coctel de varios diferentes

mimótopos.

En algunas modalidades, las vacunas para HCV pueden utilizarse para la inmunización activa (es decir, la inmunización en donde los microbios, proteínas, péptidos, epítomos, mimótopos, etc., se administran a un sujeto). En algunas modalidades, las vacunas para HCV pueden comprender cualquier agente que imita por lo menos un epítomo adaptativo de la proteína E2 HCV puede utilizarse. Por ejemplo, el agente puede ser un péptido, proteína, glicopéptido, glicoproteína, molécula pequeña, mimótopo, compuesto orgánico, lípido, sacárido, compuesto organometálico, compuesto inorgánico, etc. En algunas modalidades, las epítomos representados en una vacuna incluyen aquellos contra los cuales están dirigidos los anticuerpos que se sabe que evitan la infección. En algunas modalidades, los epítomos representados en una vacuna de acuerdo con la invención incluyen los que se conservan entre diferentes genotipos y/o subtipos del virus o entre diferentes cepas del virus. En algunas modalidades, los péptidos de proteínas que contienen epítomos conformacionalmente definidos de E2 de HCV se utilizan en formulaciones de una vacuna para prevenir, retrasar el inicio de, tratar, mitigar los síntomas de, y/o reducir la severidad de la infección a través de HCV. En algunas modalidades, las epítomos E2 HCV pueden ser epítomos lineales. En algunas modalidades, los epítomos E2 pueden ser

una mezcla de epítomos lineales y adaptativos. En algunas modalidades, los epítomos E2 pueden ser epítomos adaptativos. En algunas modalidades, los péptidos epítomos son de menos de 100 aminoácidos en longitud. En ciertas modalidades, los
5 péptidos epítomos son menores de 50, 50, menores de 40, menores de 30, menores de 20, o menores de 10 aminoácidos en longitud. En algunas modalidades, los péptidos a ser utilizados en la formulación de una vacuna son fragmentos de péptido de la proteína E2 de HCV. Típicamente, un péptido se
10 utiliza que se pliegue en una forma similar a su pliegue tridimensional en la proteína E2 nativa, de esta evitando la estructura tridimensional del epítomo adaptativo.

En algunas modalidades, una vacuna puede contener proteínas que representan péptidos concatenados que tienen
15 uno o más epítomos adaptativos de los cuales se desean los anticuerpos. Varios diferentes péptidos que forman un multímero pueden utilizarse de tal forma que cada péptido contiene un epítomo diferente, o el mismo péptido puede utilizarse más de una vez en el multímero.

20 Los péptidos de acuerdo con la invención pueden sintetizarse utilizando cualquier método conocido en la técnica que incluyen, química de fase sólida de Merrifield (ver, por ejemplo, Atherton and Sheppard, 1989, *Solid Phase Peptide Synthesis: A Practical Approach*, ILR Press, Oxford,
25 Inglaterra; Stewart and Young, 1984, *Solid Phase Peptide*

Synthesis, 2ª ed., Pierce Chemical Company, Rockford; Merrifield, 1963, *J. Am. Chem. Soc.*, 85:2149-2154; todas las cuales se incorporan aquí por referencia). Alternativa o adicionalmente, los péptidos pueden obtenerse a través de la

5 división de la proteína E2 y la purificación opcional de los productos de la división. En algunas modalidades, los péptidos pueden hacerse recombinantemente y producirse en *E. coli*, levadura (por ejemplo, *S. cerevisiae*), células de insecto (por ejemplo, células Sf9), y/o células de mamífero

10 (por ejemplo, células CHO) utilizando cualquier técnica disponible en la técnica (por ejemplo, Sambrook et al.; Miller & Calos, eds., *Gene Transfer vectors for Mammalian Cells*, 1987; y Ausubel et al., eds., *Current Protocols in Molecular Biology*, 1987; ambas incorporadas por referencia en

15 la presente). En algunas modalidades, los péptidos pueden modificarse para aumentar su inmunogenicidad, solubilidad en solución acuosa, y/o aumentar su propensión a plegarse correctamente. Por ejemplo, los péptidos pueden estar glicosilados, farnesilados, hidroxilados, reducidos,

20 oxidados, metilados, etc.

En ciertas modalidades, un péptido es o comprende los aminoácidos 523 a 540 de la proteína E2 de los subtipos 1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 4, 5, y/o 6 de HCV. Como se apreciará por un experto en la técnica, las secuencias de aminoácido,

25 análogas, homólogas, similares y/o idénticas de las proteínas

E2 de otros subtipos de HCV pueden utilizarse. Las secuencias análogas pueden determinarse mediante la alineación de múltiples secuencias de la proteína E2 de diferentes cepas o subtipos de HCV. Las secuencias homólogas, similares y/o
5 idénticas que conservan el epítipo deseado también utilizarse en la formulación de vacunas.

En algunas modalidades, las secuencias son aproximadamente 50% homólogas a la secuencia nativa de la proteína E2 HCV 1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 4, 5, y/o 6 E2,
10 aproximadamente 60% homólogas, aproximadamente 70% homólogas, aproximadamente 80% homólogas, aproximadamente 90% homólogas, aproximadamente 95% homólogas, aproximadamente 99% homólogas, o más de alrededor de 99% homólogas. En algunas modalidades, las secuencias son aproximadamente 50% similares a la
15 secuencia nativa de la proteína E2 1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 4, 5, y/o 6 de HCV, aproximadamente 60% similares, aproximadamente 70% similares, aproximadamente 80% similares, aproximadamente 90% similares, aproximadamente 95% similares, aproximadamente 99% similares, o más de alrededor de 99% similares. En
20 algunas modalidades, las secuencias son aproximadamente 50% idénticas a la secuencia nativa de la proteína E2 1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 4, 5, y/o 6 HCV, aproximadamente 60% idéntica, aproximadamente 70% idéntica, aproximadamente 80% idéntica, aproximadamente 90% idéntica, aproximadamente 95% idéntica,
25 aproximadamente 99% idéntica, o más de alrededor de 99%

idéntica.

En algunas modalidades, las secuencias son al menos 50% homólogas a la secuencia nativa de la proteína E2 1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 4, 5, y/o 6 HCV, al menos 60% homólogas, al menos 70% homólogas, al menos 80% homólogas, al menos 90% homólogas, al menos 95% homólogas, al menos 99% homólogas, o sustancialmente homólogas. En algunas modalidades, las secuencias son al menos 50% similares a la secuencia nativa de la proteína E2 1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 4, 5, y/o 6 HCV, al menos 60% similar, al menos 70% similar, al menos 80% similar, al menos 90% similar, al menos 95% similar, al menos 99% similar, o sustancialmente 100% similar. En algunas modalidades, las secuencias son al menos 50% idénticas a la secuencia nativa de la proteína E2 HCV 1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 4, 5, y/o 6 HCV, al menos 60% idénticas, al menos 70% idénticas, al menos 80% idénticas, al menos 90% idénticas, al menos 95% idénticas, al menos 99% idénticas, o sustancialmente 100% idénticas.

En algunas modalidades, una composición de vacuna comprende por lo menos un adyuvante. Cualquier adyuvante puede utilizarse de acuerdo con la presente invención. Se conoce un gran número de adyuvantes; un compendio útil de varios de tales compuestos se prepara a través de los Institutos de Salud Nacionales y pueden encontrarse en el Internet

(www.niaid.nih.gov/daids/vaccine/pdf/compendium.pdf). Ver también Allison (1998, *Dev. Biol. Stand.*, 92:3-11; incorporada por referencia en la presente), Unkeless et al. (1998, *Annu. Rev. Immunol.*, 6:251-281; incorporada por
5 referencia en la presente), y Phillips et al. (1992, *Vaccine*, 10:151-158; incorporada por referencia en la presente). Se conocen en la técnica cientos de diferentes adyuvantes y pueden utilizarse en la práctica de la presente invención. Los adyuvantes ilustrativos que pueden utilizarse de acuerdo
10 con la invención incluyen, pero no se limitan a, citocinas, adyuvantes de tipo gel (por ejemplo, hidróxido de aluminio, fosfato de aluminio, fosfato de calcio, etc.); adyuvantes microbianos (por ejemplo, secuencias de ADN inmunomoduladoras que incluyen motivos CpG; endotoxinas tales como lípido
15 monofosforilo A; exotoxinas tales como la toxina del cólera, la toxina lábil por calor de *E. coli*, y la toxina de tosferina; dipéptido de uranilo, etc.); adyuvantes con base en emulsión en aceite o emulsionantes (por ejemplo, Adyuvante de Freund, MF59 [Novartis], SAF, etc.); adyuvantes en
20 partículas (por ejemplo, liposomas, microesferas biodegradables, saponinas, etc.); adyuvantes sintéticos (por ejemplo, copolímeros de bloque no iónicos, análogos de péptido de muranilo, polifosfaceno, polinucleótidos sintéticos, etc.); y/o combinaciones de los mismos. Otros
25 adyuvantes ilustrativos incluyen algunos polímeros (por

ejemplo, polifosfacenos; descritos en Patente de E. U. A. No. 5,500,161, que se incorpora por referencia en la presente), Q57, QS21, escualeno, tetraclorodecaóxido, etc.

Los excipientes farmacéuticamente aceptables se describen con mayor detalle a continuación en la sección titulada "*Composiciones Farmacéuticas*".

Aplicaciones de Diagnóstico

En algunas modalidades, los anticuerpos HCV de acuerdo con la invención se utilizan para aplicaciones de diagnóstico. Por ejemplo, en virtud de la variedad de perfiles de unión de los anticuerpos HCV, los ensayos de diagnóstico pueden utilizarse los cuales detectarán una pluralidad de genotipos y/o subtipos HCV, para así proporcionar un anticuerpo pan-HCV, mientras al mismo tiempo son capaces de estudiar genotipos y/o subtipos individuales a través de análisis de sustracción.

Para propósitos de diagnóstico, los anticuerpos pueden utilizarse en una amplia de formatos para detectar la proteína E2, diseñar los genotipos y/o subtipos HCV, detectar viriones y anticuerpos (ver, por ejemplo, Patente de E. U. A. No. 5,695,390; incorporada por referencia en la presente). Los anticuerpos pueden utilizar individualmente o en combinación con otros anticuerpos del grupo en cuestión u otros anticuerpos o con lectinas que se unen a grupos glicosilo presentes en las proteínas de envoltura HCV (es

decir, E1 o E2) y/u otras proteínas con las cuales se forman los complejos de E2 HCV (por ejemplo, el complejo E1:HCVE2 HCV). Para propósitos de diagnóstico, se puede utilizar una amplia variedad de etiquetas, las cuales en su mayor han sido
5 mencionadas previamente. Estas incluyen, pero no se limitan a, fluoróforos, fracciones quimioluminiscentes, radioisótopos, enzimas, partículas (por ejemplo, partículas de carbón coloidal, partículas de oro, partículas de látex, etc.) ligandos para los cuales existen receptores de alta
10 afinidad, y pro-etiquetas, que pueden activarse para proporcionar una señal detectable.

En algunas modalidades, una superficie se recubre con una proteína, que se une a los antígenos HCV como proteína libre (por ejemplo, proteína circulante) o como una
15 parte de un virión intacto o parcialmente intacto. Se pueden utilizar anticuerpos de la invención en cuestión que se unen a múltiples genotipos y/o subtipos HCV o a lectinas (por ejemplo, la lectina *Galanthus nivalis*; "GNA"). Se pueden utilizar anticuerpos de acuerdo con la invención que se unen
20 a los subtipos 1, 2, 3, 4, 5, y 6 HCV. En algunas modalidades, los anticuerpos de acuerdo con la invención se unen a por lo menos uno, dos, tres, cuatro, cinco, o más de cinco diferentes genotipos y/o subtipos.

En algunas modalidades, los ensayos pueden poner en
25 contacto una superficie con un medio, que puede contener

proteína(s) libre o asociada con HCV, en donde el medio puede ser una muestra o una solución E2 conocida de uno o más genotipos y/o subtipos. Después de la incubación y lavado para eliminar la proteína no específicamente unida, el ensayo
5 puede avanzar en varias formas dependiendo de que se esté ensayando. Cuando se sospecha que una muestra sanguínea es seropositiva y se está ensayando, la muestra puede aplicarse a la capa de proteína E2, incubarse, y lavarse, y determinarse la presencia de anticuerpos humanos unidos a la
10 capa de proteína. Se pueden utilizar anticuerpos alfa-humanos marcados (diferentes de los que están contra el isotipo de los anticuerpos en cuestión, en donde los anticuerpos en cuestión han sido inicialmente utilizados). En los ensayos para anticuerpos en sujetos seropositivos, los anticuerpos en
15 cuestión pueden utilizarse como controles con el mismo reactivo utilizado para detectar cualquier anticuerpo anti-HCV humano en el suero de tales sujetos. La especificidad de los anticuerpos en la muestra puede confirmarse mediante el uso de los anticuerpos en cuestión, que están
20 diferencialmente marcados de los anticuerpos anti-humanos y determinar si están bloqueados por los anticuerpos en la muestra.

Cuando la muestra se ensaya para la proteína E2 HCV, la detección utiliza los anticuerpos en cuestión
25 marcados, la selección depende de si está interesado en la

genotipificación o la detección de la proteína E2. Después del lavado el anticuerpo no específicamente unido, la presencia de los anticuerpos no marcados se determina mediante la detección de la presencia de la etiqueta de
5 acuerdo con técnicas conocidas. Alternativa o adicionalmente, cuando los anticuerpos en cuestión se unen a una superficie, una lectina marcada para E2 puede utilizarse para detectar la presencia de la proteína E2.

Los anticuerpos de acuerdo con la invención pueden
10 utilizarse para medir la reactividad de otros anticuerpos, incluyendo anticuerpos en suero, anticuerpos monoclonales, anticuerpos expresados con un resultado de la ingeniería genética, etc. En algunas modalidades, se utilizan viriones intactos. En algunas modalidades, las proteínas de envoltura
15 conformacionalmente conservadas se utilizan. Para la captura del virión ver, por ejemplo, Kimura et al., 1998, *J. Med. Virology*, 56:25-32; Morita et al., 1996, *Hepato-Gastroenterology*, 43:582-585; Sata et al., 1993, *Virology*, 196:354-357; y Hijikata et al., 1993, *J. Virol.*, 67:1953-
20 1958; todas las cuales se incorporan aquí por referencia. Un protocolo que involucra los pasos de recubrir un soporte sólido con una lectinas (por ejemplo, GNA), y después poner en contacto la superficie con un medio (por ejemplo, suero de un paciente seropositivo) comprende viriones HCV intactos.
25 Los aditivos que podrían destruir los viriones deberán

usualmente evitarse (por ejemplo, detergente). Después de
incubar el medio y lavar para remover los componentes no
específicamente unidos del medio, los viriones pueden ponerse
en contacto con los anticuerpos de acuerdo con la invención y
5 los anticuerpos de la muestra. Esto puede llevarse a cabo
concurrente o consecutivamente, en donde primero se agrega la
muestra. Una cantidad del anticuerpo en cuestión se utiliza
el cual es sensible al desplazamiento a través de otro
anticuerpo. Tal cantidad puede determinarse empíricamente, y
10 puede desearse utilizar diferentes cantidades del anticuerpo
en cuestión en una serie de pruebas. Al conocer la señal, que
se obtiene en la ausencia y la presencia de la muestra, se
puede determinar la reactividad o la afinidad de unión de los
anticuerpos en la muestra. Se pueden utilizar varias técnicas
15 para determinar la cantidad de un anticuerpo en cuestión
unido a los viriones. Cuando los anticuerpos en cuestión se
marcan, por ejemplo, con biotina o digoxigenina,
estreptavidina o anti-digoxigenina marcado con un fluoróforo
o enzima cuyos sustrato produce una señal detectable puede
20 servir para determinar la cantidad de los anticuerpos en
cuestión.

Los anticuerpos en cuestión marcados pueden
utilizarse en el ensayo para la presencia de HCV de material
de biopsia. El anticuerpo marcado puede incubarse con
25 material de biopsia inmovilizado, tal como una rebana de

hígado, como una solución de uno o más de los anticuerpos marcados en cuestión. Después del lavado de los anticuerpos no específicamente unidos, la presencia de los anticuerpos unidos a las células del tejido de biopsia puede detectarse
5 de acuerdo con la naturaleza de la etiqueta.

En algunas modalidades, los anticuerpos HCV de acuerdo con la invención pueden utilizarse para identificar receptores HCV. Los expertos en la técnica apreciarán de la multitud de formas en lo que esto puede lograrse (Sambrook
10 J., Fritsch E. and Maniatis T. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989; y Ausubel et al., eds., *Current Protocols in Molecular Biology*, 1987; ambas incorporadas por referencia en la presente). Típicamente, los receptores de proteína y
15 péptido pueden identificarse mediante la determinación de si un anticuerpo para E2 puede inhibir la unión de los viriones HCV a una célula susceptible a la infección HCV. De esta forma, los receptores para las proteínas y péptidos E2 HCV pueden identificarse en esta forma. Una célula susceptible
20 puede incubarse en la presencia HCV, y un anticuerpo E2 anti-HCV y un ensayo de unión de célula puede utilizarse para determinar si la unión disminuye en la presencia del anticuerpo.

Los receptores putativos que expresan las células
25 para HCV y/o colecciones de receptores putativos para HCV

pueden clasificarse por sus habilidades para unirse a HCV. Por ejemplo, las células que expresan un receptor HCV putativo (por ejemplo, un receptor para E2 HCV) pueden ponerse en contacto con una proteína o péptido HCV en la presencia de un anticuerpo durante un tiempo y bajo condiciones suficientes para permitir la unión de la proteína o péptido HCV al receptor putativo en la superficie de la célula. Alternativa o adicionalmente, las proteínas, péptidos o viriones HCV pueden pre-incubarse con el anticuerpo antes de poner en contacto el receptor putativo o la superficie celular. La unión puede detectar a través de cualquier medio conocido en la técnica, por ejemplo, citometría de flujo, etc. (Ver Ausubel et al. o Sambrook et al., *supra*). Una disminución en la unión a la superficie de la célula en la presencia del anticuerpo comparado con la unión en la ausencia de la célula es la ausencia del anticuerpo indica la identificación del receptor HCV.

En algunas modalidades, los métodos para identificar receptores HCV (por ejemplo, tales como los receptores E2) incluyen el uso de soportes sólidos, tales como gránulos, columnas y similares. Por ejemplo, los receptores para proteínas y péptidos HCV (por ejemplo, proteínas E2 y/o sus fragmentos) y/o viriones HCV pueden identificarse mediante la unión de un anticuerpo HCV a un soporte sólido y después poniendo en contacto el anticuerpo

con una proteína o péptido HCV durante un tiempo suficiente para que la proteína o péptido HCV se una al anticuerpo. Esto proporciona el ligando de proteína HCV para receptores HCV putativos que ponerse en contacto con el complejo de anticuerpo: ligando en el soporte sólido durante un tiempo bajo condiciones suficientes para permitir la unión de un receptor a la proteína o péptido HCV. Las proteínas pueden expresarse de una colección o proporcionarse como un extracto celular o preparación de proteína purificada de células naturales o recombinantes. Una vez que se forman los complejos de unión específicos entre la proteína péptido HCV, las proteínas o péptidos HCV sin unir, por ejemplo, la colección de proteínas o péptidos que no se unió específicamente a las proteínas o péptidos HCV, se eliminan, por ejemplo, a través de pasos de lavado externo. Las proteínas unidas después se eluyen e identifican, por ejemplo, a través de electroforesis en gel.

Administración

Los anticuerpos HCV de acuerdo con la invención y las composiciones farmacéuticas de las mismas de acuerdo con la invención pueden administrarse utilizando cualquier cantidad y cualquier ruta de administración efectiva para el tratamiento.

La cantidad exacta requerida variará de sujeto a sujeto, dependiendo de la especie, la edad, y la condición

general del sujeto, la severidad de la infección, la composición particular, su modo de administración, su modo de actividad, y similar. Los anticuerpos HCV se formulan típicamente en forma de dosificación unitaria para facilitar la administración y la uniformidad de la dosificación. Se entenderá, sin embargo, que el uso diario total de las composiciones de la presente invención lo decidirá el médico que atiende dentro del alcance del sonido del juicio médico. El nivel de dosis terapéuticamente efectivo específico para cualquier sujeto u organismo particular dependerá de la variedad de factores que incluyen el trastorno que se está tratando y la severidad del trastorno; la actividad del anticuerpo HCV específico utilizado; la composición farmacéutica específica administrada; la vida útil de la composición después de la administración; edad, el peso corporal, la salud general, el sexo, y la dieta del sujeto; el tiempo de administración, la ruta de administración, y grado de excreción del compuesto específico utilizado; la duración del tratamiento; los fármacos utilizados en combinación o que coinciden con el compuesto específico utilizado; y factores similares, bien conocidos en las técnicas médicas.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden administrarse a través de cualquier ruta. En algunas modalidades, las composiciones farmacéuticas de la

presente invención se administran a través de una variedad de rutas, que incluyen incluyen oral (PO), intravenosa (IV), intramuscular (IM), intra-arterial, intramedularmente, intratecal, subcutánea (SQ), intraventricular, transdérmica, interdérmica, intradérmica, rectal (PR), vaginal, intraperitoneal (IP), intragástrica (IG), típica (por ejemplo, mediante polvos, ungüentos, cremas, geles, lociones y/o gotas), mucosal, intranasal, bucal, enteral, vítrea, sublingual; a través de instilación intratraqueal, instilación bronquial, y/o inhalación; como una aspersión oral, aspersión nasal, y/o aerosol, y/o a través de un catéter de la vena portal.

En general, la ruta más apropiada de administración dependerá de una variedad de factores que incluyen la naturaleza del agente que se está tratando (por ejemplo, su estabilidad en el entorno del tracto gastrointestinal), la condición del sujeto (por ejemplo, si el sujeto es capaz de tolerar un modo de administración particular), etc. En modalidades específicas, los anticuerpos HCV de acuerdo con la presente invención y/o con sus composiciones farmacéuticas pueden administrarse intravenosamente, por ejemplo, a través de infusión intravenosa. En modalidades específicas, los anticuerpos HCV de acuerdo con la presente invención y/o composiciones farmacéuticas del mismo pueden administrarse a través de la inyección intramuscular. En modalidades

específicas, los anticuerpos HCV de acuerdo con la presente invención y/o sus composiciones farmacéuticas pueden administrarse a través de inyección subcutánea. En modalidades específicas, los anticuerpos HCV de acuerdo con la presente invención y/o sus composiciones farmacéuticas pueden administrarse a través de un catéter en la vena porta. Sin embargo, la invención abarca la distribución de los anticuerpos HCV de acuerdo con la presente invención y/o sus composiciones farmacéuticas a través de cualquier ruta apropiada tomando en consideración y posibles avances en las ciencias de la distribución de fármacos.

En ciertas modalidades, Los anticuerpos HCV de acuerdo con la presente invención y/o sus composiciones farmacéuticas de acuerdo con la invención puede administrarse a niveles de dosis suficientes para suministrar de aproximadamente 0.001 mg/kg a aproximadamente 100 mg/kg, de aproximadamente 0.01 mg/kg a aproximadamente 50 mg/kg, de aproximadamente 0.1 mg/kg a aproximadamente 40 mg/kg, de aproximadamente 0.5 mg/kg a aproximadamente 30 mg/kg, de aproximadamente 0.01 mg/kg a aproximadamente 10 mg/kg, de aproximadamente 0.1 mg/kg a aproximadamente 10 mg/kg, o de aproximadamente 1 mg/kg a aproximadamente 25 mg/kg del peso corporal del sujeto por día para obtener el efecto terapéutico deseado. La dosificación deseada puede administrarse más de tres veces por día, tres veces por día,

dos veces por día, una vez por día, un día sí y un día no, cada tercer día, cada semana, cada dos semanas, cada tres semanas, cada cuatro semanas, cada dos meses, cada seis meses, o cada doce meses. En ciertas modalidades, la dosis deseada puede suministrarse utilizando múltiples administraciones (por ejemplo, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, once, doce, trece, catorce o más administraciones).

Se apreciará que los anticuerpos HCV de acuerdo con la presente invención y/o sus composiciones farmacéuticas pueden utilizarse en terapias de combinación. La combinación particular de terapias (por ejemplo, terapéuticos o procedimientos) para utilizarse en un régimen de combinación que tomará en cuenta la compatibilidad de los terapéuticos y/o procedimientos deseados y el efecto terapéutico deseado a ser logrado. Se apreciará que las terapias utilizadas pueden lograr un efecto deseado para el mismo propósito (por ejemplo, anticuerpos HCV útiles para tratar, prevenir y/o retrasar el inicio de la infección HCV pueden administrarse concurrentemente con otro agente útil para tratar, prevenir y/o retrasar el inicio de la infección HCB), o pueden activar diferentes efectos (por ejemplo, el control de cualquier efecto adverso). La invención abarca la distribución de composiciones farmacéuticas en combinación con agentes que pueden mejorar su biodisponibilidad, reducir y/o modificar su

metabolismo, inhibir su excreción, y/o modificar su distribución dentro del cuerpo.

Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la presente invención pueden administrarse ya sea solas o
5 en combinación con uno o más de otros agentes terapéuticos. Por "en combinación con" no pretende implicar que los agentes deben administrarse al mismo tiempo y/o formularse para la distribución juntos, aunque estos métodos de distribución están dentro del alcance de
10 la invención. Las composiciones pueden administrarse concurrentemente con, antes de, o posterior a, uno o más de los terapéuticos o procedimientos médicos deseados. Se apreciará que los agentes terapéuticamente activos utilizados en combinación pueden administrarse juntos en
15 una sola composición o administrarse de forma separada en diferentes composiciones. En general cada agente se administrará a una dosis y/o un programa de tiempo determinado para ese agente.

En general, se espera que los agentes utilizados
20 en combinación se utilicen a niveles que no excedan los niveles a los cuales se utilizan individualmente. En algunas modalidades, los niveles utilizados en combinación serán menores que los utilizados individualmente.

25 En algunas modalidades, los anticuerpos E2 HCV

de acuerdo con la invención (por ejemplo, HC-1, HC-3, HC-11, y CBH-23) pueden administrarse con interferón, con ribavirina, o con ambos interferón y ribavirina.

En algunas modalidades, las composiciones para
5 terapia de combinación pueden comprender una pluralidad de anticuerpos dirigidos contra un solo epítipo adaptativo. En algunas modalidades, las composiciones para terapia de combinación pueden comprender una pluralidad de anticuerpos que reconocen diferentes
10 epítipos adaptativos (por ejemplo, en la misma proteína de envoltura viral o en diferentes proteínas de envoltura viral), por lo tanto simultáneamente interfiriendo con múltiples mecanismos en el proceso infeccioso.

En ciertas modalidades, las composiciones de
15 acuerdo con la invención comprenden exactamente un anticuerpo para E2 (por ejemplo, HC-1, HC-3, HC-11, y CBH-23). En ciertas modalidades, las composiciones incluyen exactamente dos, exactamente tres, exactamente cuatro, exactamente cinco, exactamente seis, o más de
20 seis anticuerpos E2 HCV. En algunas modalidades, las composiciones comprenden todas las posibles permutaciones y combinaciones de HC-1, HC-3, HC-11, y CBH-23. Las composiciones ilustrativas que comprenden 1, 2, 3, ó 4 anticuerpos seleccionados del grupo que consiste de HC-1,
25 HC-3, HC-11, y CBH-23 se muestran en la Tabla 2:

Tabla 2: Composiciones Ilustrativas que Comprenden Anticuerpos HCV

5	Un	Dos	Tres	Cuatro
	Anticuerpo	Anticuerpos	Anticuerpos	Anticuerpos
10	HC-1	HC-1 y HC-3	HC-1, HC-3, y HC-11	HC-1, HC-3, HC-11, y CBH-23
	HC-2	HC-1 y HC-11	HC-1, HC-3, y CBH-23	
	HC-11	HC-1 y CBH-23	HC-1, HC-11, y CBH-23	
	CBH-23	HC-3 y HC-11	HC-3, HC-11, y CBH-23	
15		HC-3 y CBH-23		
		HC-11 y CBH-23		

En algunas modalidades, las líneas celulares de hibridoma que secretan anticuerpos E2 anti-HCV han sido depositadas en la Colección de Cultivo de Tipo Americano (ATCC). Por ejemplo, las líneas celulares de hibridoma que secretan el anticuerpo monoclonal humano HC-1 han sido depositadas bajo el número de PTA-9416; el anticuerpo monoclonal humano HC-3 secretado por la línea celular y de hibridoma ha sido depositado en el ATCC con el número de Acceso PTA-9417; el anticuerpo monoclonal HC-11 secretado por

la línea celular de hibridoma ha sido depositado en el ATCC con el número de Acceso PTA-9418; y el anticuerpo monoclonal humano CBH-23 secretado por la línea celular de hibridoma ha sido depositado en el ATCC con el número de Acceso PTA-9419.

5 SE apreciará por un experto en la técnica con cualquier permutación combinación de HC-1, HC-3, HC-11, y CBH-23 puede combinarse con cualquier otro anticuerpo (por ejemplo, anticuerpos que reconocen E1, E2 y/u otras proteínas de envoltura) para formular composiciones que comprenden una
10 pluralidad de diferentes anticuerpos. En ciertas modalidades, HC-1, HC-3, HC-11, y/o CBH-23 se pueden combinar con cualquiera de los siguientes anticuerpos previamente descritos E2: CBH-2, CBH-4G, CBH-5, CBH-7, CBH-8C, CBH-8E, CBH-9, CBH-11, sus fragmentos, y/o sus combinaciones (ver,
15 la Patente de E. U. A. No. 6, 692,908; y Las Publicaciones de Patente de E. U. A. No. 2006/0104980 y 2006/0188511; todas las cuales se incorporan aquí por referencia). En ciertas modalidades, HC-1, HC-3, HC-11, y/o CBH-23 pueden combinarse con H-111, H-114 (ambos son anticuerpos previamente descritos
20 contra E2), sus fragmentos y/o sus combinaciones (ver Publicación de Patente de E. U. A. No. 2003/180284; incorporada por referencia en la presente). En ciertas modalidades, HC-1, HC-3, HC-11, y/o CBH-23 pueden combinarse con AP33 humanizado (Owsianka et al., 2005, *J. Virol.*,
25 79:11095-104; incorporada por referencia en la presente); Fab

el37 (Perotti et al., 2008, *J. Virol.*, 82:1047-52; incorporada por referencia en la presente, 2008); mAbs 1:7 and A8 (Johansson et al., 2007, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 104:16269-74; incorporada por referencia en la presente);
5 MAbs AR3 humanos (Law et al., 2008, *Nat. Med.*, 14:25-27; incorporada por referencia en la presente); sus fragmentos; y/o combinaciones de los mismos.

Composiciones Farmacéuticas

La presente invención proporciona anticuerpos HCV y
10 composiciones farmacéuticas que comprenden por lo menos un anticuerpo HCV y por lo menos un excipiente farmacéuticamente aceptable. Tales composiciones farmacéuticas pueden opcionalmente comprender una o más sustancias terapéuticamente activas adicionales. De acuerdo con algunas
15 modalidades, los métodos para administrar una composición farmacéutica que comprenden administrar anticuerpos HCV a un sujeto en la necesidad del mismo son provistos. En algunas modalidades, las composiciones farmacéuticas se administran humanos. Para los propósitos de la presente descripción la
20 frase "ingrediente activo" generalmente se refiere a un anticuerpo HCV de acuerdo con la invención. En ciertas modalidades, un anticuerpo HCV es un anticuerpo que reconoce la proteína de envoltura E2. En ciertas modalidades, un anticuerpo HCV es un anticuerpo que reconoce un epítipo
25 adaptativo de la proteína de envoltura E2.

Las composiciones farmacéuticas para administración de anticuerpos E2 HCV pueden proporcionarse en una forma inyectable estéril (por ejemplo, en una forma que es adecuada para la inyección subcutánea o infusión intravenosa). Por ejemplo, en algunas modalidades, los anticuerpos son provistos en una forma de dosificación líquida que es adecuada para inyección. En algunas modalidades, los anticuerpos son provistos como polvos estériles liofilizados, opcionalmente bajo vacío, que se reconstituyen con un diluyente acuoso (por ejemplo, agua, regulador de pH, solución salina, etc.), antes de la inyección. En algunas modalidades, los anticuerpos se diluyen y/o reconstituyen en agua, solución de cloruro de sodio, solución de acetato de sodio, solución de alcohol bencílico, salina regulada en su pH con fosfato, etc. En algunas modalidades, el polvo deberá mezclarse ligeramente con un diluyente acuoso (por ejemplo, sin agitación).

En algunas modalidades, las formulaciones del anticuerpo comprenden uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables (por ejemplo, un agente conservantes, un diluyente inerte, un agente dispersante, un agente activo en la superficie y/o emulsionante, agente regulador de pH, etc.). En algunas modalidades, la formulación del anticuerpo comprende uno o más conservantes. En algunas modalidades, las formulaciones del anticuerpo no comprenden conservantes.

En algunas modalidades, los anticuerpos son provistos en la forma que pueden refrigerarse y/o congelarse. En algunas modalidades, los anticuerpos son provistos en una forma que no pueden refrigerarse y/o congelarse. En algunas
5 modalidades, las soluciones del anticuerpo reconstituidas y/o las formas de dosificación líquidas del anticuerpo pueden almacenarse durante un cierto periodo de tiempo después de la reconstitución (por ejemplo, 2 horas, 12 horas, 24 horas, 2 días, 5 días, 7 días, 10 días, 2 semanas, un mes, dos meses,
10 o más). En algunas modalidades, el almacenamiento de las formulaciones del anticuerpo durante más tiempo que el tiempo especificado da como resultado la depredación del anticuerpo.

Las formas de dosificación líquida y/o las soluciones de anticuerpo reconstituidas pueden comprender
15 material en partículas y/o decoloración antes de la administración. En general, una solución no deberá utilizarse si está decolorada y/o nebulosa y/o si la materia en partículas permanece después de la filtración.

Las formulaciones de las composiciones
20 farmacéuticas descritas en la presente pueden prepararse a través de cualquier método conocido o desarrollarse después en la técnica de la farmacología. En general, tales métodos de preparación incluyen el paso de poner el ingrediente activo en asociación con el excipiente y/o uno o más
25 ingredientes accesorio, y después, si es necesario y/o

deseable, moldear y/o empacar el producto en una unidad individual o multidosis deseada.

Una composición farmacéutica de acuerdo con la invención puede prepararse, empacarse, y/o venderse en
5 volumen, como una dosis unitaria individual, y/o como una pluralidad de dosis unitarias individuales. Como se utiliza en la presente, una "dosis unitaria" es una cantidad discreta de la composición farmacéutica que comprende una cantidad predeterminada del ingrediente activo. La cantidad del
10 ingrediente activo generalmente es igual a la dosis del ingrediente activo que se administraría a un sujeto y/o una fracción conveniente de tal dosificación tal como, por ejemplo, la mitad, o un tercio de tal dosis.

Las cantidades relativas del ingrediente activo, el
15 excipiente farmacéuticamente aceptable, y/o cualquier ingrediente adicional en una composición farmacéutica de acuerdo con la invención variarán, dependiendo de la identidad, el tamaño, y/o la afección del sujeto tratado y además depende de la ruta a través de la cual la composición
20 se va utilizar. A manera de ejemplo, la composición puede comprender entre 0.1% y 100% (v/v) del ingrediente activo.

Las formulaciones farmacéuticas de la presente invención pueden adicionalmente comprender un excipiente farmacéuticamente aceptable, el cual, como se utiliza en la
25 presente, incluye cualquiera y todos los solventes, medios de

dispersión, diluyentes, u otros vehículos líquidos, auxiliares de dispersión o suspensión, agentes activos en la superficie, agentes isotónicos, agentes espesantes o emulsionantes, conservantes, aglutinantes sólidos, lubricantes y similares, según sea adecuado para la forma de dosificación particular deseada. Remington's *The Science and Practice of Pharmacy*, 21ª Edición, A. R. Gennaro, (Lippincott, Williams & Wilkins, Baltimore, MD, 2006) describe varios excipientes utilizados en la formulación de composiciones farmacéuticas y técnicas conocidas para su preparación. Excepto hasta ahora como cualquier medio excipiente convencional es incompatible con una sustancia o sus derivados, tales como a través de la producción de cualquier efecto biológico indeseado o por el contrario la interacción en una forma perjudicial con cualquier otro componente(s) de la composición farmacéutica, su uso se contempla como estando dentro del alcance de esta invención

En algunas modalidades, el excipiente farmacéuticamente aceptable es al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99%, o 100% puro. En algunas modalidades, el excipiente se aprueba para uso en humanos y para uso veterinario. En algunas modalidades, el excipiente está aprobado por la Administración de Alimentos y Fármacos de los Estados Unidos. En algunas modalidades, el excipiente es de grado farmacéutico. En algunas modalidades,

el excipiente cumple con los estándares de la Farmacopea de los Estados Unidos (USP), la Farmacopea Europea (EP), La Farmacopea Inglesa y/o la Farmacopea Internacional.

Los excipientes farmacéuticamente aceptables
5 utilizados en la fabricación de composiciones farmacéuticas incluyen, pero no se limitan a, diluyentes inertes, agentes de dispersión y/o granulación, agentes activos en la superficie y/o emulsionantes, agentes disgregantes, agentes de unión, conservantes, agentes reguladores de pH, agentes
10 lubricantes y/o aceites. Tales excipientes pueden opcionalmente incluirse en las formulaciones. Los excipientes tales como mantequilla de cacao y ceras para supositorio, agentes de coloración, agentes de recubrimiento, edulcorantes, saborizantes y agentes de perfume pueden estar
15 presentes en la composición, de acuerdo con el juicio del formulador.

Los diluyentes ilustrativos incluyen, pero no se limitan a, carbonato de calcio, carbonato de sodio, fosfato de calcio, fosfato dicálcico, sulfato de calcio, fosfato
20 ácido ácido de calcio, lactosa de fosfato sódico, sacarosa, celulosa, celulosa microcristalina, caolín, manitol, sorbitol, inositol, cloruro de sodio, almidón seco, almidón de maíz, azúcar en polvo, et., y/o cloruro de sodio, almidón seco, almidón de maíz, azúcar en polvo, etc., y/o
25 combinaciones de los mismos

Los agentes de granulación y/o dispersión ilustrativos incluyen, pero no se limitan a, almidón de papa, almidón de maíz, almidón de tapioca, glicolato de almidón de sodio, arcillas, ácido algínico, goma guar, pulpa de cítrico, agar, bentonita, productos de celulosa y madera, esponja natural, resinas de intercambio de catión, carbonato de calcio, silicatos, carbonato de sodio, poli(vinilpirrolidona) entrelazada (crospovidona), almidón de carboximetil sódico (glicolato de almidón de sodio), carboximetil celulosa, carboximetil celulosa de sodio entrelazada (croscarmelosa), metilcelulosa, almidón pregelatinizado (almidón 1500), almidón microcristalino, almidón insoluble en agua, carboximetil celulosa de calcio, silicato de magnesio-aluminio (VEEGUM®), lauril sulfato de sodio, compuestos de amonio cuaternario, etc., y/o combinaciones de los mismos.

Los agentes activos en la superficie y/o emulsionantes ilustrativos incluyen, pero no se limitan a, emulsionantes naturales (por ejemplo, acacia, agar, ácido algínico, alginato de sodio, traganto, condruex, colesterol, xantana, pectina, gelatina, yema de huevo, caseína, grasa de lana, colesterol, cera y lecitina), arcillas coloidales (por ejemplo, bentonita [silicato de aluminio] y VEEGUM® [silicato de magnesio-aluminio]), derivados de aminoácido de cadena larga, alcoholes de alto peso molecular (por ejemplo, alcohol

estearílico, alcohol cetílico, alcohol oleílico, monoesterato de triacetina, diestearato de etilenglicol, monoestearato de glicerilo y monoestearato de propilenglicol, alcohol polivinílico), carbómeros (por ejemplo, carboxi polimetileno, ácido poliacrílico, polímero de ácido acrílico y polímero de carbovinilo), carragenano, derivados celulósicos (por ejemplo, carboximetil celulosa de sodio, celulosa en polvo, hidroximetil celulosa, hidroxipropil celulosa, hidroxipropilmetil celulosa, metilcelulosa), ésteres de ácido graso de sorbitán (por ejemplo, monolaureato de polioxietilen sorbitán [TWEEN®20], polioxietilen sorbitán [TWEEN ®60], monooleato de polioxietilen sorbitan [TWEEN ®80], monopalmitato de sorbitán [SPAN ®40], monoestearato de sorbitán [SPAN®60], triestearato de sorbitán [SPAN ®65], monooleato de glicerilo, monooleato de sorbitán [SPAN ®80]), ésteres de polioxietileno (por ejemplo, monoestearato de polioxietileno [MYRJ®45], aceite de ricino de polioxietileno hidrogenado, aceite de ricino polioxietilado, estearato de polioximetileno, y SOLUTOL®), ésteres de ácido graso de sacarosa, ésteres de ácido graso de polietilenglicol (por ejemplo, CREMOPHOR®), éteres de polioxietileno, (por ejemplo, lauril éter de polioxietileno [BRIJ®30]), poli(vinilpirrolidona), monolaureato de dietilenglicol, oleato de trietanolamina, oleato de sodio, oleato de potasio, oleato de etilo, ácido oleico, etil laureato, lauril sulfato de sodio,

PLURONIC®F 68, POLOXAMER®188, bromuro de cetrimonio, cloruro de célula piridinio, cloruro de benzalconio, docusato sódico, etc. y/o combinaciones de los mismos.

Los agentes de unión ilustrativos incluyen, pero no se limitan a, almidón (por ejemplo, almidón de maíz, pasta de almidón, etc.); gelatina; azúcares (por ejemplo, sacarosa, glucosa, dextrosa, dextrina, melazas, lactosa, lactitol, manitol, etc.); gomas naturales y sintéticas (por ejemplo, acacia, alginato de sodio, extracto de musgo de Irlanda, goma panwar, goma ghatti, mucílago de cáscara de isapol, carboximetilcelulosa, metilcelulosa, etilcelulosa, hidroxietilcelulosa, hidroxipropil celulosa, hidroxipropil metilcelulosa, celulosa microcristalina, acetato de celulosa, poli(vinil-pirrolidona), silicato de magnesio-aluminio [VEEGUM®], arabogalactana de alerce, etc.); alginatos; óxido de polietileno; polietilenglicol; sales de calcio inorgánico; ácido salicílico; polimetacrilatos; ceras; agua; alcohol; etc.; y combinaciones de los mismos.

Los conservantes ilustrativos pueden incluir, pero no se limitan a, antioxidantes, agentes de quelatación, conservantes antimicrobianos, conservantes antifúngicos, conservantes de alcohol, conservantes ácidos, y/u otros conservantes. Los antioxidantes ilustrativos incluyen, pero no se limitan a, tocoferol alfa, ácido ascórbico, palmitato de ascorbilo, hidroxianil butilado, hidroxitolueno butilado,

monotioglicerol, metabisulfito de potasio, ácido propiónico, propil galato, ascorbato de sodio, bisulfito de sodio, metabisulfito de sodio, y/o sulfito de sodio. Los agentes quelatadores ilustrativos incluyen ácido etilenodiamina

5 tetraacético (EDTA), ácido cítrico monohidratado, edetato disódico, edetato dipotásico, ácido edético, ácido fumárico, ácido málico, ácido fosfórico, edetato sódico, ácido tartárico y/o edetato trisódico. Los conservantes antimicrobianos ilustrativos incluyen, pero no se limitan a,

10 cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio, alcohol bencílico, bronopol, cetrimida, cloruro cetilpiridinio, clorhexidina, clorobutanol, clorocresol, cloroxilenol, cresol, alcohol etílico, glicerina, hexetidina, imidurea, fenol, fenoxietanol, alcohol feniletílico, nitrato

15 fenilmercúrico, propilenglicol, y/o timerosal. Los conservantes antifúngicos ilustrativos incluyen, pero no se limitan a, butil parabeno, metil parabeno, etil parabeno, propil parabeno, ácido benzoico, ácido hidroxibenzoico, benzoato potásico, sorbato potásico, benzoato sódico,

20 propionato sódico, y/o ácido ascórbico. Los conservantes de alcohol ilustrativos incluyen, pero no se limitan a, etanol, polietilenglicol, fenol, compuestos fenólicos, bisfenol, clorobutanol, hidroxibenzoato, y/o alcohol feniletílico. Los conservantes ácidos ilustrativos incluyen, pero no se limitan

25 a, vitamina A, vitamina C, vitamina E, beta-caroteno, ácido

cítrico, ácido acético, ácido deshidroacético, ácido
ascórbico, ácido sódico y/o ácido fítico. Otros conservantes
incluyen, pero no se limitan a, tocoferol, acetato de
tocoferol, mesilato de deteroxima, cetrimida, hidroxianisol
5 butilado (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT),
etilenodiamina, lauril sulfato de sodio (SLS), sodio lauril
éter sulfato (SLES), bisulfito de sodio, metabisulfito de
sodio, sulfito de potasio, metabisulfito de potasio, GLYDANT
PLUS®, PHENONIP®, metilparabeno, GERMALL®115, GERMABEN®II,
10 NEOLONE™, KATHON™, y/o EUXYL®.

Los agentes reguladores de pH ilustrativos
incluyen, pero no se limitan a, soluciones reguladoras de pH
de citrato, soluciones reguladoras de pH de acetato,
soluciones reguladoras de pH de fosfato, cloruro de amonio,
15 carbonato de calcio, cloruro de calcio, citrato de calcio,
glubionato de calcio, gluceptato de calcio, gluconato de
calcio, ácido D-glucónico, glicerofosfato de calcio, lactato
de calcio, ácido propanoico, levulinato de calcio, ácido
pentanoico, fosfato dibásico de calcio, ácido fosfórico,
20 fosfato tribásico de calcio, fosfato ácido de calcio, acetato
de potasio, cloruro de potasio, gluconato de potasio, mezclas
de potasio, fosfato dibásico de potasio, fosfato monobásico
de potasio, mezclas de fosfato de potasio, acetato de sodio,
bicarbonato de sodio, cloruro de sodio, citrato de sodio,
25 lactato de sodio, fosfato dibásico de sodio, fosfato

monobásico de sodio, mezclas de fosfato de sodio, trometamina, hidróxido de magnesio, hidróxido de aluminio, ácido algínico, agua sin pirógeno, salina isotónica, solución de Ringer, alcohol etílico, etc., y/o combinaciones de los
5 mismos.

Los ejemplos lubricantes ilustrativos incluyen, pero no se limitan, estearato de magnesio, estearato de calcio, ácido esteárico, sílice, talco, malta, gliceril behanato, aceite vegetales hidrogenados, polietilenglicol,
10 benzoato de sodio, citrato de sodio, cloruro de sodio, leucina, lauril sulfato de magnesio, lauril sulfato de sodio, etc., y sus combinaciones.

Los aceites ilustrativos incluyen, pero no se limitan a, aceite de almendra, de centro de durazno, de
15 aguacate, babassu, bergamot, semilla de grosella negra, borraja, junípero, manzanilla, canola, alcarabea, carnauba, ricino, canela, mantequilla de cacao, coco, hígado de bacalao, café, maíz, semilla de algodón, emú, eucalipto, primavera nocturna, pescado, semilla de lino, geranio,
20 calabaza, semilla de uva, avellana, hisopo, isopropil miristato, jojoba, nuez de kukui, lavandina, lavanda, limón, litsea cubeba, nuez de macadamia, malva, semilla de mango, semilla de espuma de la pradera, visón, nuez moscada, olivo, naranja, naranja burda, palma, centro de palma, centro de
25 durazno, cacahuete, semilla de amapola, semilla de calabaza,

se milla de colza, salvado, romero, cártamo, madera de sándalo, sasquana, ajedrea, espino cervical del mar, ajonjolí, mantequilla shea, silicón, frijol de soya, girasol, árbol de té, cardo, tsubaki, vetiver, nogal, y de germen de trigo. Los
5 aceites ilustrativos incluyen, pero no se limitan a, butil estearato, triglicérido caprílico, triglicérido cáprico, ciclometicona, dietil sebacato, dimeticona 360, isopropilo miristato, aceite mineral, octildodecanol, alcohol oleílico, aceite de silicón, y/o combinaciones de los mismos.

10 Las formas de dosificación líquidas para administración oral y parenteral incluyen, pero no se limitan a, emulsiones, microemulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y/o elixires farmacéuticamente aceptables. Además de los ingredientes activos, las formas de dosificación líquida
15 pueden comprender diluyentes inertes comúnmente utilizados en la técnica tales como, por ejemplo, agua u otros solventes, agentes solubilizantes y emulsionantes tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, etil carbonato, etil acetato, alcohol bencílico, benzoato bencílico, propilenglicol, 1,3-
20 butilenglicol, dimetilformamida, aceites (en particular, semilla de algodón, nuez molida, maíz, germen, olivo, ricino y aceite de ajonjolí), glicerol, alcohol tetrahidrofurfurílico, polietilenglicoles y ésteres de ácido graso de sorbitán, y sus mezclas. Aparte de los diluyentes
25 inertes, las composiciones orales pueden incluir adyuvantes

tales como agentes de humectación, agentes emulsionantes y de suspensión, agentes edulcorantes, saborizantes y/o de perfume. En ciertas modalidades para administración parenteral, las composiciones se mezclan con agentes solubilizantes tales como CREMOPHOR[®], alcoholes, aceites, aceites modificados, glicoles, polisorbatos, ciclodextrinas, polímeros, y/o combinaciones de los mismos.

Las preparaciones inyectables, por ejemplo, las suspensiones acuosas u oleaginosas inyectables estériles pueden formularse de acuerdo con la técnica conocida utilizando agentes de dispersión adecuados, agentes de humectación y/o agentes de suspensión. Las preparaciones inyectables estériles pueden ser soluciones, suspensiones y/o emulsiones inyectables estériles en diluyentes y/o solventes parenteralmente aceptables no tóxicos, por ejemplo, como una solución en 1,3-butandiol. Entre los vehículos y solventes aceptables que pueden utilizarse están el agua, la solución de Ringer, U.S.P., y solución de cloruro de sodio isotónica. Los aceites fijos, estériles se utilizan convencionalmente como el solvente o medio de suspensión. Para este propósito cualquier aceite fijo blando puede utilizarse incluyendo mono- o diglicéridos sintéticos. Los ácidos grasos tales como ácido oleico pueden utilizarse en la preparación de inyectables.

Las formulaciones que pueden esterilizarse, por

ejemplo, a través de filtración a través de un filtro que retiene las bacterias, y/o a través de la incorporación de agentes esterilizantes en la forma de composiciones sólidas estériles que pueden disolverse o dispersarse en agua estéril
5 u otro medio inyectable estéril antes de uso.

Con el fin de prolongar el efecto de un ingrediente activo, por lo general se desea alentar la absorción del ingrediente activo de la inyección subcutánea o intramuscular. Esto puede lograrse a través del uso de una
10 suspensión líquida de material cristalino o amorfo con pobre solubilidad en el agua. El grado de absorción del fármaco después depende de su velocidad de disolución la cual, a su vez, puede depender del tamaño del cristal y la forma cristalina. Alternativamente, la absorción retrasada de una
15 forma de fármaco parenteralmente administrada se logra disolviendo o suspendiendo el fármaco en un vehículo oleoso. Las formas de depósito inyectables se hacen formando matrices de microcápsulas de fármaco en polímeros biodegradables tales como polilactida-poliglicolida. Dependiendo de la proporción
20 del fármaco al polímero y la naturaleza del polímero particular utilizado, la velocidad de la liberación del fármaco puede controlarse. Los ejemplos de otros polímeros biodegradables incluyen poli(ortoésteres) y poli(anhídridos). Las formulaciones inyectables de depósitos se preparan
25 atrapando el fármaco en liposomas o microemulsiones que son

compatibles con los tejidos corporales.

Las composiciones para administración rectal o vaginal son típicamente supositorios que pueden prepararse mezclando composiciones con excipientes no irritantes
5 adecuados tales como mantequilla de cacao, polietilenglicol o cera de supositorio que son sólidos a temperatura ambiente pero líquidos a la temperatura corporal y por consiguiente se funden en el recto y la cavidad vaginal y llevarán el ingrediente activo.

10 Las formas de dosificación sólidas para administración oral incluyen cápsulas, tabletas, píldora, polvos, y gránulos. En tales formas de dosificación sólida, el ingrediente activo se mezcla con por lo menos un excipiente farmacéuticamente aceptable, inerte tal como
15 citrato de calcio o difosfato dicálcico y/o rellenos o extendedores (por ejemplo, almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol y ácido silícico), aglutinantes (por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidinona, sacarosa y acacia), humectantes (por
20 ejemplo, glicerol), agentes discrepantes (por ejemplo, agar, carbonato cálcico, almidón de papa, almidón de tapioca, ácido algínico, ciertos silicatos, y carbonato de sodio), agentes que retardan la solución (por ejemplo, parafina), aceleradores de la absorción (por ejemplo, compuestos de
25 amonio cuaternario), agentes de humectación (por ejemplo,

alcohol cetílico y monoestearato de glicerol), absorbentes (por ejemplo, caolín y arcilla de bentonita), y lubricantes (por ejemplo, talco, estearato cálcico, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, lauril sulfato de sodio) y sus mezclas. En el caso de cápsulas, tabletas y píldoras, la forma de dosificación puede comprender agentes reguladores del pH.

Las composiciones sólidas de un tipo similar pueden utilizarse como rellenos en cápsulas de gelatina rellenas suaves y duras utilizando tales excipientes tales como lactosa y azúcar de leche así como polietilenglicoles de alto peso molecular y similares. Las formas de dosificación sólidas de tabletas, grajeas, cápsulas, píldoras y gránulos pueden prepararse con recubrimiento y corazas tales como recubrimientos entéricos y otros recubrimientos bien conocidos en la técnica de formulación farmacéutica. Pueden opcionalmente comprender agentes opacadores y pueden ser de una composición que liberan el ingrediente(s) activo solamente, o preferencialmente, en una cierta parte del tracto gastrointestinal, opcionalmente, en una forma retrasada. Los ejemplos de composiciones embebidas que pueden utilizarse incluyen sustancias poliméricas y ceras. Las composiciones sólidas de un tipo similar pueden utilizarse como rellenos en cápsulas de gelatina rellenas suaves y duras utilizando tales excipientes como lactosa o azúcar de leche así como

polietilenglicoles de alto peso molecular y similares.

Las formas de dosificación para administración
tópica y/o transdérmica de un compuesto de acuerdo con esta
invención pueden incluir ungüentos, pastas, cremas, lociones,
5 geles, polvos, soluciones, aspersiones, inhalantes y/o
parches. Generalmente, el ingrediente activo se mezcla bajo
condiciones estériles con un excipiente farmacéuticamente
aceptable y/o cualquier conservante y/o regulador de pH
necesario según sea requerido. Adicionalmente, la presente
10 invención contempla el uso de parches transdérmicos, que por
lo general tienen la ventaja adicionada de proporcionar la
distribución controlada de un compuesto al cuerpo. Tales
formas de dosificación pueden prepararse, por ejemplo,
mediante la disolución y/o dispersión del compuesto en un medio
15 apropiado. Alternativa o adicionalmente, la velocidad puede
controlarse ya sea a través de la provisión de una membrana de
control de velocidad y/o a través de la dispersión del compuesto
en una matriz de polímero y/o un gel.

Los dispositivos adecuados para utilizarse en la
20 distribución de composiciones farmacéuticas intradérmicas
descritas en la presente incluyen dispositivos de aguja corta
tales como los descritos en Patentes de E. U. A. Nos.
4,886,499; 5,190,521; 5,328,483; 5,527,288; 4,270,537;
5,015,235; 5,141,496; y 5,417,662. Las composiciones
25 intradérmicas pueden administrarse a través de dispositivos

que limitan la efectiva longitud de penetración de una guja en la piel, tales como los descritos en las publicaciones PCT WO 99/34850 y sus equivalentes funcionales. Los dispositivos de inyección por chorro que distribuyen vacunas líquidas a la dermis a través de un inyector en chorro líquido y/o a través de una aguja que perfora el estrato córneo y produce un chorro que llega a la dermis son adecuadas. Los dispositivos de inyección por chorro se describen, por ejemplo, en Patentes de E. U. A. Nos. 5,480,381; 5,599,302; 5,334,144; 5,993,412; 5,649,912; 5,569,189; 5,704,911; 5,383,851; 5,893,397; 5,466,220; 5,339,163; 5,312,335; 5,503,627; 5,064,413; 5,520,639; 4,596,556; 4,790,824; 4,941,880; 4,940,460; y publicaciones de PCT WO 97/37705 y WO 97/13537. Los dispositivos de distribución de polvo/partículas balísticos que utilizan gas comprimido para acelerar la vacuna en forma de polvo a través de las capas exteriores de la piel hacia a dermis son adecuados. Alternativa o adicionalmente, las jeringas convencionales pueden utilizarse en el método mantoux clásico de administración intradérmica.

Las formulaciones adecuadas para administración tópica incluyen, pero no se limitan a, preparaciones líquidas y/o semilíquidas tales como ungüentos, lociones, emulsiones de aceite en agua y/o de agua en aceite, tales como cremas, ungüentos y/o pastas, y/o soluciones y/o suspensiones. Las formulaciones tópicamente administrables pueden, por ejemplo,

comprender de 1% a 10% (v/v) del ingrediente activo, aunque la concentración del ingrediente activo puede ser tal alta como el límite de solubilidad del ingrediente activo y el solvente. Las formulaciones para administración tópica además
5 pueden comprender uno o más niveles adicionales descritos en la presente.

Una composición farmacéutica de acuerdo con la invención puede prepararse, empacarse y/o venderse en una formulación adecuada para administración pulmonar a través de
10 la cavidad bucal. Tal formulación puede comprender partículas secas que comprenden el ingrediente activo y que tienen un diámetro en el intervalo de aproximadamente 0.5 nm a aproximadamente 7 nm o de aproximadamente 1 nm a aproximadamente 6 nm. Tales composiciones están
15 convenientemente en la forma de polvos secos para administración utilizando un dispositivo que comprende un depósito del polvo seco al cual una corriente de propulsor puede dirigirse para dispersar el polvo y/o utilizar un contenedor de distribución de solvente/polvo auto-de
20 propulsión tal como un dispositivo que comprende el ingrediente activo disuelto y/o suspendido en un propulsor con un bajo punto de ebullición en un contenedor sellado. Tales polvos comprenden partículas en donde por lo menos 98% de las partículas en peso tienen un diámetro mayor de 0.5 nm
25 y por lo menos 95% de las partículas a través de un número

que tiene un diámetro menor de 7 nm. Alternativamente, por menos el 95% de las partículas en peso tienen un diámetro mayor de 1 nm y por lo menos 90% de las partículas en número tienen un diámetro menor de 6 nm. Las composiciones de polvo seco pueden incluir un diluyente de polvo fino sólido tal como azúcar y se proporcionan convenientemente en una forma de dosis unitaria.

Los propulsores con baja ebullición generalmente incluyen propulsores líquidos que tienen un punto de ebullición por debajo de 18.33°C (65°F) a presión atmosférica. Generalmente el propulsor puede incluir constituir del 50% al 99.9% (v/v) de la composición, y el ingrediente activo puede constituir del 0.1% al 20% (v/v) de la composición. El propulsor además puede comprender ingredientes adicionales tales como un agente tensioactivo líquido no iónico y/o sólido aniónico y/o un diluyente sólido (el cual puede tener un tamaño de partícula en mismo orden de las partículas que comprenden el ingrediente activo).

Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la invención, formuladas para la distribución pulmonar puede proporcionar el ingrediente activo en la forma de gotículas de una solución y/o suspensión. Tales formulaciones pueden prepararse, empacarse y/o venderse como soluciones y/o suspensiones alcohólicas acuosas y/o diluidas, opcionalmente estériles, que comprenden el ingrediente activo, y pueden

convenientemente administrarse utilizando cualquier dispositivo de nebulización y/o atomización. Tales formulaciones además pueden comprender uno o más ingredientes adicionales que incluye, pero no se limitan a, un agente
5 saborizante tal como sacarina de sodio, un aceite volátil, un agente regulador de pH, un agente activo en la superficie, y/o un conservante tal como metilhidroxibenzoato. Las gotículas provistas por esta ruta de administración pueden tener un diámetro promedio en el intervalo de aproximadamente
10 0.1 nm a aproximadamente 200 nm.

Las formulaciones descritas en la presente ya que son útiles para la distribución pulmonar son útiles para la distribución intranasal de una composición farmacéutica. Otra formulación adecuada para administración intranasal es un
15 polvo burdo que comprende el ingrediente activo y que tiene un tamaño de partícula de aproximadamente 0.2 μm a 500 μm . Tal formulación se administra a una forma en la cual se toma una aspiración, es decir, a través de la rápida inhalación a través de un pasaje nasal desde un contenedor del polvo
20 mantenido cerrado cerca de la nariz.

Las formulaciones adecuadas para administración nasal pueden, por ejemplo, comprender tan poco como 0.1% (v/v) y tan mucho como 100% (v/v) del ingrediente activo, y pueden comprender uno o más de los ingredientes adicionales
25 descritos en la presente. Una composición farmacéutica de

acuerdo con la invención puede prepararse, empacarse y/o venderse en una formulación adecuada para administración bucal. Tales formulaciones pueden, por ejemplo, estar en la forma de tabletas y/o pastillas y utilizar medios
5 convencionales, y pueden, por ejemplo, tener 0.1% a 20% (v/v) del ingrediente activo, el balance comprende una composición disoluble y/o degradable oralmente y, opcionalmente, uno o más de los ingredientes adicionales descritos en la presente. Alternativamente, las formulaciones adecuadas para
10 administración bucal pueden comprender un polvo y/o una solución en aerosol y/o atomizada y/o suspensión que comprende el ingrediente activo. Tales formulaciones en polvo, en aerosol, y/o en aerosol, cuando se dispersan pueden tener un tamaño de partícula promedio y/o tamaño de gotícula
15 en el intervalo de aproximadamente 0.1 nm a aproximadamente 200 nm, y además pueden comprender uno o más ingredientes adicionales descritos en la presente.

Una composición farmacéutica de acuerdo con la invención puede prepararse, empacarse y/o venderse en una
20 formulación adecuada para administración oftálmica. Tales formulaciones pueden, por ejemplo, estar en la forma de gotas para los ojos que incluyen, por ejemplo, una solución de 0.1/1.0% (v/v) y/o suspensión del ingrediente activo en un excipiente líquido acuoso u oleoso. Tales gotas además pueden
25 comprender agentes reguladores del pH, sales y/o uno o más de

los ingredientes adicionales descritos en la presente. Otras formulaciones oftálmicamente administrables que son útiles incluyen las que comprenden el ingrediente activo en forma microcristalina y/o en preparación de liposoma. Las gotas
5 para los oídos y las gotas para los ojos, se contemplan como estando dentro del alcance de esta invención.

Se pueden encontrar consideraciones generales en la formulación y/o fabricación de agentes farmacéuticos, en, por ejemplo, en *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*
10 21^a ed., Lippincott Williams & Wilkins, 2005.

Kits

La invención proporciona una variedad de kits para convenientemente y/o eficientemente llevar a cabo los métodos de acuerdo con la presente invención. Los kits típicamente
15 comprenden uno o más anticuerpos HCV de acuerdo con la invención (por ejemplo, HC-1, HC-3, HC-11, y CBH-23). En algunas modalidades, los kits comprenden una colección de diferentes anticuerpos HCV a ser utilizados para diferentes propósitos (por ejemplo, diagnósticos, tratamiento, y/o
20 profilaxis). Típicamente los kits comprenderán suficientes cantidades de anticuerpos HCV para permitir a un usuario llevar a cabo múltiples administraciones a un sujeto(s) y/o llevar a cabo múltiples experimentos. En algunas modalidades, los kits se suministran con e incluyen uno o más anticuerpos
25 HCV que han sido especificados por el comprador.

En ciertas modalidades, los kits para utilizarse de acuerdo con la presente invención pueden incluir una o más muestras referencia; instrucciones (por ejemplo, para el procesamiento de muestras, para llevar a cabo las pruebas, para interpretar los resultados, para solubilizar los anticuerpos HCV, para almacenar los anticuerpos HCV, etc.); reguladores de pH; y/u otros agentes necesarios para llevar a cabo las pruebas. En ciertas modalidades, los kits pueden comprender paneles de anticuerpo. Otros componentes de kits pueden incluir células, medios de cultivo celular, tejidos y/o medios de cultivo tisular.

Los kits pueden comprender instrucciones para uso. Por ejemplo, las instrucciones pueden informar al usuario el procedimiento adecuado a través del cual reparar una composición farmacéutica que comprende anticuerpos HCV y/o el procedimiento apropiado para administrar las composiciones farmacéuticas a un sujeto.

En algunas modalidades, los kits incluyen un número de dosis unitarias de una composición farmacéutica que comprende los anticuerpos HCV. Un auxiliar de memoria puede ser provisto, por ejemplo, en la forma de números, letras y/u otras marcas y/o con un inserto de calendario, designando los días/tiempos en el programa de tratamiento en el cual deben administrarse las dosis. Las dosificaciones de placebo, y/o los complementos dietéticos de calcio, ya sea en una forma

similar a o diferente de las dosis de las compasiones farmacéuticas, pueden incluirse para proporcionar un kit en el cual la dosis se toma cada día.

Los kits pueden comprender uno o más recipientes o
5 contenedores de tal forma que ciertos de los componentes individuales o reactivos pueden alojarse separadamente. Los kits pueden comprender un medio para incluir los contenedores individuales en un confinamiento relativamente cerrado para venta comercial, por ejemplo, una caja de plástico, en donde
10 las instrucciones, los materiales de empaque tales como poliestireno, etc., pueden anexarse.

En algunas modalidades, los kits se utilizan en el tratamiento, diagnóstico y/o profilaxis de un sujeto que sufre de y/o es susceptible a HCV. En algunas modalidades,
15 tales kits comprenden (i) por lo menos un anticuerpo HCV; (ii) una jeringa, aguja, aplicador, etc., para la administración de por lo menos un anticuerpo HCV a un sujeto; y (iii) instrucciones de uso.

En algunas modalidades, los kits se utilizan en el
20 tratamiento, diagnóstico y/o profilaxis de un sujeto que sufre de y/o es susceptible de HCV. En algunas modalidades, tales kits comprenden (i) por lo menos un anticuerpo HCV provisto como un polvo liofilizado; y (ii) un diluyente para reconstituir el polvo liofilizado. Tales kits pueden
25 opcionalmente comprender una jeringa, aguja, aplicador, etc.,

para la administración de por lo menos un anticuerpo HCV a un sujeto; y/o instrucciones de uso.

La presente invención proporciona kits que contienen reactivos para generación de vacunas que comprenden por lo menos un anticuerpo HCV. En algunas modalidades, tales kits pueden incluir células que expresan anticuerpos HCV, sus porciones características y/o sus porciones biológicamente activas; (ii) medios para cultivar las células; y (iii) columnas, resinas, reguladores de pH, tubos y otras herramientas útiles para la purificación del anticuerpo. En algunas modalidades, tales kits pueden incluir (i) plásmidos que contienen nucleótidos que codifican anticuerpos HCV, sus porciones características, y/o sus porciones biológicamente activas; (ii) células capaces de transformarse con los plásmidos, tales como líneas celulares de mamífero, que incluye pero no se limitan a, líneas celulares Vero y MDCK; (iii) medios para cultivar las células; (iv) plásmidos de expresión que no contienen nucleótidos que codifican anticuerpos HCV como controles negativos; (v) columnas, resina, reguladores de pH, tubos y otras herramientas útiles para la purificación del anticuerpo; y (vi) instrucciones de uso.

En algunas modalidades, los kits se utilizan para detectar la presencia de HCV en una o más de las muestras. Tales muestras pueden ser muestras patológicas, que incluyen, pero no se limitan a, sangre, suero/plasma, células

mononucleares de sangre periférica/linfocitos de sangre periférica (PBMC/PBL), esputo, orina, heces, muestras de garganta, muestra de lesión dérmica, fluidos cerebroespinales, frotis cervical, muestras de pus, matrices alimenticias, y tejidos de varias del cuerpo tales como el cerebro, el bazo y el hígado. Tales muestras pueden ser muestras ambientales, que incluyen, pero no se limitan a, tierra, agua, y flora. Otras muestras que no han enumeradas también pueden ser aplicadas. En algunas modalidades, tales kits comprenden (i) por lo menos un anticuerpo HCV; (ii) una muestra que se sabe que contiene HCV, como un control positivo; y (iii) una muestra que se sabe que no contiene HCV, como un control negativo; y (iv) instrucciones de uso.

En algunas modalidades, los kits se utilizan para neutralizar HCV en una o más muestras. Tales kits pueden proporcionar materiales necesarios para tratar una muestra que contiene HCV con por lo menos un anticuerpo HCV y probar la habilidad de las muestras tratadas para infectar células cultivadas con relación a la muestra no tratada. Tales kits pueden incluir (i) por lo menos un anticuerpos HCV; (ii) células capaces de cultivarse e infectarse con HCV; (iii) un anticuerpo que es capaz de unirse a neutralizar HCV, como un control negativo; (iv) un anticuerpo que es capaz de unirse a y neutralizar HCV como un control positive; (v) una muestra que se sabe que no contiene HCV, como un control negativo;

(vi) una muestra que se sabe que se sabe que contiene HCV, como un control positivo; y (vii) instrucciones de uso.

Estos y otros aspectos de la presente invención además se apreciarán después de la consideración de los siguientes Ejemplos, en donde se pretenden ilustrar ciertas modalidades particulares de la invención pero no pretenden limitar su alcance, como se define en las reivindicaciones.

Ejemplos

Ejemplo 1: Definición de un Dominio Inmunodominante

10 **Conservado en Glicoproteína E2 HCV mediante Neutralización de Anticuerpos Monoclonales Humanos.**

Materiales y Métodos

Células y condiciones de cultivo

Las células 293T y CHO-K1 se obtuvieron de ATCC.
15 Las células Huh7 se obtuvieron del Dr. Michael Lai (University of Southern California) y las células Huh7.5 se obtuvieron del Dr. Charles Rice (Rockefeller University). Las células se cultivaron en medio esencial mínimo modificado de Dulbecco (DMEM, Invitrogen, Carlsbad, CA) suplementado con
20 10% de suero de becerro fetal (FCS, Sigma-Aldrich Co. St. Louis, MO) y 2 mM de glutamina. Las células CHO-K1 se cultivaron en medio F-12 de Kaighn (Invitrogen 21127-022) conteniendo L-glutamina y suplementado con 10% de FCS.

Virus y modelos de virus

25 La producción y purificación de HCVpp (genotipo 1a)

ha sido previamente descrita (Bartosch et al., 2003, J. Exp. Med., 197:633-42; y Keck et al., 2005, J. Virol., 79:13199-208; ambas de las cuales se incorporan aquí por referencia). En breve, las células se transfectaron con plásmidos HCVpp
5 utilizando el método de calcio-fosfato. Después de 48 horas de cultivo, se recolectó el sobrenadante libre de células mediante filtración utilizando un filtro de tamaño de poro de 0.45 µm.

Para la producción del virus JFH-1 del genotipo 2
10 infeccioso, HCVcc (Wakita et al., 2005, Nat. Med., 11:791-96; incorporado en la presente por referencia), el plásmido pJFH-1 linearizado XbaI se transcribió *in vitro* (MEGAscript; Ambion, Austin, TX) y se electroporó en células Huh7.5. En resumen, 10 µg de ARN JFH-1 transcrito *in vitro* se mezcló con 0.4×10^6
15 células Huh7.5 en un tubo de 4-mm en PBS sin calcio conteniendo 10 µg de ARNt de hígado de becerro y se pulsó a 0.27 kV y 960 µF utilizando un sistema Pulsador de Gen Bio-Rad. Las células electroporadas se sembraron en platos de cultivo celular de 10 cm con 10 ml de DMEM completo
20 conteniendo 10% de FCS. La expresión de E2 HCV se confirmó mediante el ensayo inmunofluorescente indirecto (IFA) a cada pasada de las de células. Para la producción de JFH-1, las células transfectadas se hicieron pasar a intervalos de 4 a 5 días con una división de 1:4 a 1:5 en matraces de cultivo
25 frescos. Las cosechas del virus colocadas en pequeñas

alícuotas se almacenaron a -80 °C. La producción de la HJ3-5 HCVcc ha sido descrita previamente (Yi et al., 2006, Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 103:2310-15; y Yi et al., 2007, J. Virol., 81:629-38; ambas de las cuales se incorporan aquí por
5 referencia).

Anticuerpos y reactivos

CBH-4G, un anticuerpo para HCV E2 ha sido descrito previamente (Hadlock et al., 2000, J. Virol., 74:10407; y Keck et al., 2005, J. Virol., 79:13199; ambos de los cuales
10 se incorporan aquí por referencia). EL MAb de murino para c-myc se compró de Santa Cruz Biotechnology (Santa Cruz, CA). CD81 LEL se obtuvo del Dr. Shoshana Levy (Stanford University). El IgG anti-humano conjugado con FITC, el fragmento Fc y específico y el IgG anti-ratón de cabra del
15 fragmento F(ab')₂ (H+L) se obtuvo de Jackson Immuno Research (West Grove, PA). El IgG anti-humano de cabra conjugado con fosfatasa alcalina (H+L) y el IgG anti-ratón de cabra conjugado con fosfatasa alcalina (H+L) se compró de Promega (Madison, WI). La lectina *Galanthus nivalis* (GNA) y p-nitrofenil fosfato disódico hexahidratado (sustrato de
20 fosfatasa) se compraron de Sigma (St. Louis, MO).

Producción y Purificación del anticuerpo monoclonal

La generación de nuevos anticuerpos HCV de células B de sangre periférica se llevó a cabo esencialmente como se
25 describe en Hadlock et al. (2000, J. Virol., 74:10407;

incorporada en la presente por referencia). Los anticuerpos HCV específicos se seleccionaron mediante el ensayo inmunofluorescente indirecto (IFA) utilizando lisados celulares infectados HCVpp de tipo 1a o 1b como un antígeno
5 objetivo (No. de acceso GenBank AF348705). La monoclonalidad se logró mediante la clonación de dilución limitante y se confirmó por secuenciación de ADN (Sequetech, Mountain View, CA) de los genes IgG. La clonación y el análisis de los dominios V_L y V_H de los genes IgG se llevaron a cabo como se
10 describe previamente (Keck *et al.*, 2004, *J. Virol.*, 78:7257; incorporada en la presente por referencia). La producción y purificación del anticuerpo HCV se realizó esencialmente como se describe en Hadlock *et al.* (2000, *J. Virol.*, 74:10407; incorporada en la presente por referencia) y la biotinación
15 de los anticuerpos se llevó a cabo de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Pierce Biotechnology, Inc, Rockford, IL).

Tipificación de la subclase IgG

La tipificación de la subclase IgG se condujo
20 utilizando el kit Combi BINDARDID de la Subclase SD de IgG HUMANO (The Binding Site Inc., San Diego, CA) de acuerdo con el protocolo del fabricante.

Ensayo inmunofluorescente directo

Se transfectaron células 293T con los constructos
25 que llevan secuencias E1E2 de los genotipos 1 a 6, 40-48

horas después de la transfección las células se fijaron sobre portaobjetos de 24 puntos HTC Super Cured (Cel-Line Associates, Newfield, N.J.) con 100% de acetona por 10 minutos a temperatura ambiente. Las células fijas se
5 incubaron con anticuerpos como se indica por 30 minutos a 37°C y se lavaron por 5 minutos con PBS, pH 7.4. Los portaobjetos después se incubaron por 30 minutos a 37°C con una solución de 0.001% de contra-coloración azul de Evan e IgG anti-humano de cabra conjugado con isotiocianato de
10 fluoresceína (FITC) (Jackson ImmunoResearch Laboratories, West Grove, PA). El anticuerpo unido a las células fijas se reveló por microscopía de fluorescencia como se describe (Hadlock et al., 1997, *J. Virol.*, 71:5828-40; incorporada en la presente por referencia).

15 *Secuenciación del anticuerpo*

Las secuencias CDR de los dominios V_L y V_H de los anticuerpos monoclonales humanos se llevaron a cabo como se describe (Keck et al., 2004, *J. Virol.*, 78:7257-63; incorporada en la presente por referencia). Esencialmente,
20 las regiones variables completas de la cadena pesada y ligera de H-111 se secuenciaron para identificar los FR y CDR, las contrapartes del gen de la línea germinal V, y para determinar el estado de maduración de los dominios V. Los dominios V_L y V_H de HC-1, HC-3, HC-11 y CBH-23 se amplificaron
25 mediante RT-PCR del ARN celular total aislado de las células

de hibridoma correspondientes (el min kit RNeasy, Qiagen, Valencia, CA) utilizando los iniciadores líder de la familia específica V 5' e iniciadores de la región J 3', como se describe previamente (Campbell et al., 1992, *Mol. Immunol.*, 29:193-203; y Chan et al., 2001, *Blood*, 97:1023-26; ambos de los cuales se incorporan aquí por referencia). Las secuencias se analizaron utilizando el Vector NTI (Invitrogen, San Diego, CA) y se alinearon con las secuencias de la línea germinal utilizando las bases de datos V-QUEST y VBASE (Cook y Tomlinson, 1995, *Immuno. Today*, 16:237-42; incorporada en la presente por referencia).

Ensayo de Competencia

Los estudios de competencia recíproca del anticuerpo se llevaron a cabo como se describe previamente (Keck et al., 2004, *J. Virol.*, 78:9224; incorporada en la presente por referencia). Brevemente, el lisado celular 1b HCVpp se capturó en placas de 96 cavidades recubiertas con GNA en PBS durante 1 hora a 37°C. Después del bloqueo y el lavado, se agregaron los anticuerpos de competencia a 20 µg/ml en cada cavidad y se incubaron por 30 minutos a temperatura ambiente, seguido por la adición del anticuerpo de prueba biotinado a 2 µg/ml. Después de 1.5 horas de incubación a temperatura ambiente, el anticuerpo de prueba se detectó utilizando estreptavidina conjugada con fosfatasa alcalina (R & D Systems, Minneapolis, MN), seguido por

incubación de *p*-nitrofenil fosfato para el desarrollo del color. La absorbencia se midió con un lector de placas multicavidad (Molecular Devices, Sunnyvale, CA) a 405 nm y restando la lectura de fondo a 570 nm. Los valores de la DO
5 medios, según medidos con el anticuerpo HCV de prueba biotinado para E2 en la presencia del anticuerpo de competencia, se dividieron entre las señales medidas de los anticuerpos HCV de prueba biotinados para E2 sin el anticuerpo de competencia seguido por la multiplicación por
10 100 para obtener el porcentaje del anticuerpo de prueba unido a E2. La relevancia de los nuevos anticuerpos para otros anticuerpos se determinó mediante un método modificado de método de grupos por pares no ponderados utilizando promedios aritméticos, como se describe previamente (Keck et al., 2004,
15 *J. Virol.*, 78:9224; incorporada en la presente por referencia). Este método asume el grado de inhibición bidireccional como el grado del traslape del epítipo mediante los anticuerpos de competencia. La inhibición o mejoramiento unidireccional se interpreta como epítipos próximos pero no
20 traslapados.

Inmunoprecipitación

Las células 293T que producen 1b HCVpp se lisaron con un regulador de pH que contiene 10 mM de Tris-HCl, pH 7.5, 150 mM de NaCl, 1% de NP-40, 20 mM de α -yodoacetamida, e
25 inhibidores de proteasa. Estas se utilizaron como la fuente

de antígeno, y aproximadamente 225 ng/ml de E2 se utilizaron por inmunoprecipitación. Se incubaron 2 µg/ml de anticuerpos HCV con antígeno durante 1.5 horas a 4°C, seguido por incubación con la proteína A inmovilizada (Pierce, Rockford, IL) durante 1.5 horas adicionales a 4°C. Entre cada paso, los gránulos se lavaron una vez con regulador de pH de lisis IP. Después del último paso, se lavaron 3 veces con regulador de pH de lisis IP y una vez con agua destilada. Los precipitados se lavaron a 70°C por 5 minutos en regulador de pH de muestra SDS-PAGE, se corrieron en gel de poliacrilamida SDS al 10%, y se transfirieron a una membrana de nitrocelulosa. La membrana de inmunotizó con MAb AP33 de murino (Owsianka et al., 2005, *J. Virol.*, 79:11095; incorporada en la presente por referencia), seguido por incubación con el anticuerpo secundario conjugado con HRP (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA) y detección utilizando el sistema de detección de tinción ECL Plus Western de GE Healthcare.

Medición de afinidad del anticuerpo

Las mediciones de la afinidad del anticuerpo se realizaron con lisado celular HCVpp la conteniendo 1 µg/ml de glicoproteínas E2. Las placas de microtitulación se prepararon cubriendo cada cavidad con 500 ng de GNA seguido por el bloqueo de las cavidades con BLOTTO consistiendo de 2.5% de leche seca sin grasa y 2.5% de suero de cabra normal en TBST (20 mM de Tris-HCl, pH 7.5, 150 mM de NaCl, 0.1% de

Tween-20). Después del bloqueo, se capturó la E2 en el lisado celular mediante GNA en la placa y la unión posterior en un intervalo de 0.01 $\mu\text{g/ml}$ - 200 $\mu\text{g/ml}$ de anticuerpos HCV. Los anticuerpos HCV unidos se incubaron con IgG anti-humano de
5 cabra conjugado con fosfatasa alcalina (Promega, Madison, WI), seguido por incubación de *p*-nitrofenil fosfato para el desarrollo del color. La absorbencia se midió a 405 nm y 570 nm. Los datos se analizaron por regresión no lineal para medir la constante de disociación del anticuerpo, K_d , y la
10 unión máxima, B_{max} (DO), utilizando el software Prism (GraphPad).

Transfección de ARN HCV y producción del virus

El plásmido pJFH-1 linearizado *XbaI* se transcribió *in vitro* (MEGAscript; Ambion, Austin, TX) y se electroporó en
15 células Huh7.5. Brevemente, se mezclaron 10 μg del ARN JFH-1 transcrito *in vitro* con 0.4×10^6 células Huh7.5 en un tubo de 4-mm en PBS sin calcio conteniendo 10 μg de ARNt de hígado de becerro y se pulsaron a 0.27 kV y a 960 μF utilizando el sistema Pulsador de Gen de Bio-Rad. Las células
20 electroporadas se sembraron en platos de cultivo celular de 10 cm con 10 ml de DMEM completo conteniendo 10% de FCS. La expresión de E2 HCV se confirmó por IFA en cada pasada de las células. Para la producción del virus JFH-1, las células transfectadas se hicieron pasar a intervalos de 4- a 5- días
25 con una división de 1:4 A 1:5 matraces de cultivo fresco. La

concentración del virus del medio agrupado se midió como el foco formando unidades (FFU) como se describe más adelante, se colocó en pequeñas alícuotas y se mantuvieron a -80°C.

Un segundo virus HCV infeccioso es un virus quimérico inter-genotípico producido mediante el reemplazo del segmento núcleo-NS2 del genoma del virus JFH-1 con el segmento comparable del virus del subtipo 1a H77 (Yi et al., 2007, *J. Virol.*, 81:629; incorporada en la presente por referencia). Este virus quimérico, H-[NS2/NS3]-J/Y361H/Q1251L (en lo sucesivo referido como "HJ3-5" contiene dos mutaciones compensadoras que promueven su crecimiento en el cultivo celular, una de las cuales está dentro de la secuencia El (residuo de poliadenilación 361) como se muestra (Yi et al., 2007, *J. Virol.*, 81:629; incorporada en la presente por referencia). Las existencias del virus se produjeron en células FT3-7 (Blight et al., 2002, *J. Virol.*, 76:13001; incorporada en la presente por referencia).

Ensayo de Neutralización HCVpp

La neutralización de HCVpp se llevó a cabo como se describe previamente (Keck et al., 2007, *J. Virol.*, 81:1043-47; y Keck et al., 2005, *J. Virol.*, 79:13199-208; ambos de los cuales se incorporan aquí por referencia). Brevemente, se sembraron células Huh-7 a 8×10^3 células por cavidad en una placa de 96 cavidades no transparente blanca 24 horas antes de la infección. El medio de infección se incubó con

varias concentraciones de anticuerpos por 60 minutos a 37°C antes de agregar a las células Huh-7 utilizando PBS como un control no de anticuerpo. Después de 15 horas de incubación, el medio HCVpp se reemplazó con medio completo fresco y se incubó por 72 horas más. La actividad de neutralización del anticuerpo se determinó mediante el porcentaje de reducción de la actividad de luciferasa comparado con el medio de infección conteniendo PBS.

Ensayo de ineffectividad de HCVcc

La neutralización de HCVcc se evaluó mediante la reducción de la expresión de NS3 según monitoreado por inmunotinción. Se incubaron 350 µl de la alícuota del virus 2a JFH-1 (10^5 FFU/ml) o sobrenadantes de cultivo celular infectados con la HJ3-5 con anticuerpos a 20 µg/ml por 1 hora a 37°C antes de la inoculación en células Huh 7.5 inexpertas sembradas 24 horas previamente en placas de 24 cavidades a una densidad celular de 32,000 por cavidad. A 3 horas después de la infección (hpi), el medio conteniendo el anticuerpo HCV se removió, y las células se lavaron con PBS y se reemplazó con DMEM completo fresco. Las células se cosecharon para análisis de Western Blot a 72 hpi. Las muestras se calentaron a 70°C por 5 minutos en regulador de pH de SDS-PAGE y se corrieron en un gel de poliacrilamida SDS al 10% y se transfirieron a una membrana de nitrocelulosa. Las membranas se inmunotñeron con anticuerpo anti-NS3,

seguido por incubación con anticuerpo secundario conjugado con HRP (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA) y detección utilizando el sistema de detección de tinción ECL Plus Western de GE Healthcare. Las imágenes se capturaron con un sistema doc de gel Bio-Rad. El porcentaje de la neutralización se comparó con el control no de anticuerpo. RO4 es un anticuerpo monoclonal comparado con isotipo para HCMV y se utilizó como un control negativo.

Ensayo de reducción de unidad formadora de foco (FFU)

Se mezclaron 60 µl de alícuotas de existencias del virus HJ3-5 o JFH-1 (aproximadamente 100 FFU) con un volumen igual de anticuerpo diluido y se incubaron a 37°C por 1 hora antes de la inoculación de 100 µl de la mezcla de virus/anticuerpo en células Huh7.5 sembradas 24 horas previamente en portaobjetos de cámara de 8 cavidades (Nalge Nunc Rochester, NY). Los cultivos se colocaron en un ambiente de 5% de CO₂ a 37°C por 24 horas, se alimentaron con 200 µl de medio adicionales, y después se volvieron a incubar durante 48 horas más. Los fluidos del sobrenadante se removieron, las células se lavaron una vez con PBS, y las células se fijaron con 1:1 de metanol-acetona antes de la marcación con 1:300 de MAb C7-50 específico para la proteína central (Affinity BioReagents, Golden, CO) como se describe (Yi et al., 2007, *J. Virol.*, 81:629; incorporada en la

presente por referencia). Después del lavado extenso, la
marcación secundaria con IgG de anti-ratón de cabra conjugado
con FITC (1010-02, Southern Biotech, Birmingham, AL) a una
dilución de 1:100, el núcleo de contra-tiñó con Bisbenzimida
5 H (Hoechst, Frankfurt am Main, Alemania), y los portaobjetos
se montaron y examinaron bajo un microscopio fluorescente
Zeiss UV. El foco de las células positivas de antígeno se
contaron en cada portaobjetos individual, con cada clúster de
células infectadas que se tiñeron positivamente para el
10 antígeno central considerado para constituir un unidad
formadora de foco infeccioso individual (FFU), como se
describe (Yi et al., 2007, *J. Virol.*, 81:629; y Yi et al.,
2006, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 103:2310; ambos de los
cuales se incorporan aquí por referencia). El porcentaje de
15 neutralización se calculó como la reducción en FFU comparado
con el virus incubado con un anticuerpo de control
irrelevante, RO4.

Bloqueo de la unión de E2 a CD81

La E1E2 del genotipo 1b expresada en 293T
20 conteniendo 1 µg/ml de E2 se incubó con cada anticuerpo HCV
como se indica a 10 µg/ml por 1 hora a temperatura ambiente,
y el complejo de anticuerpo-antígeno después se agregó sobre
las cavidades pre-cubiertas con CD81. Las cavidades se
lavarón e incubaron con 5 µg/ml de CBH-4D biotinado por 1
25 hora. La CBH-4D unida se detectó con estreptavidina

conjugada con fosfatasa alcalina (R&D Systems; Minneapolis, MN), seguido por incubación de *p*-nitrofenil fosfato para el desarrollo del color. La absorbencia se midió a 405 nm utilizando un lector de placas Spectra Max 190 de Molecular
5 Devices (Sunnyvale, CA). CBH-5 se utilizó como un control positivo y R04 como un control negativo.

Mapeo de epítipo mediante mutagénesis dirigida al sitio

La mutagénesis de exploración de alanina se condujo
10 utilizando el Kit de Mutagénesis Dirigida al Sitio QuickChange II (Stratagen, La Jolla, CA) de acuerdo con el protocolo provisto. Las mutaciones se introdujeron en E2 de la cepa H77c del genotipo *la* (Número de acceso a GenBank AF009606). Todos los mutantes se secuenciaron (Sequetech,
15 Mountain View, CA) para asegurar que los clones poseyeran solamente la mutación esperada. Las proteínas E2 mutadas se expresaron en células 293T y analizaron por ELISA. Brevemente, las placas de microtitulación se recubrieron con 500 ng por cavidad de lectina *Galanthus nivalis* (GNA),
20 seguido por bloqueo con BLOTTO, consistiendo de 2.5% de leche en polvo sin grasa y 2.5% de suero de cabra normal en TBST (20 mM de Tris-HCl, pH 7.5, 150 mM de NaCl, 0.1% de Tween-20). Después del bloqueo, los lisados celulares transfectados diluidos en BLOTTO se agregaron a la placa.
25 Las proteínas E2 mutantes unidas después se incubaron con HC-

1 o HC-11, seguido por IgG anti-humano conjugado con
fosfatasa alcalina. Las muestras después se visualizaron por
la adición de p-nitrofenil fosfato disódico hexahidratado y
la lectura de la absorbencia a 405 nm. Los resultados se
5 muestran en las Figuras 7A y 7B. Los valores derivados para
las proteínas E2 mutantes después se desplegaron como un
porcentaje del observado para la E2 H77c wt. Los aminoácidos
mutados se describen en el eje y. El número entre los dos
aminoácidos sustituidos corresponde a la posición en la
10 poliproteína de la cepa de referencia H (Número de acceso a
GenBank AF009606). Los anticuerpos HCV, HC-1 y HC-11 que se
unen a cada mutante se expresan como el porcentaje del valor
de unión normalizado por la unión de CBH-17, un anticuerpo
para un epítipo lineal en E2, y se divide por la unión del
15 anticuerpo HC para el tipo silvestre en el eje x.

*Unión de Anticuerpos HCV a mutantes E2 a través de
ELISA*

ELISA se llevó a cabo para medir la unión del
anticuerpo a las glicoproteínas E2 mutantes. Las placas de
20 microtitulación se cubrieron con con 500 ng de GNA por
cavidad, seguido por bloqueo con BLOTTO (2.5% de leche en
polvo sin grasa y 2.5% de suero de cabra normal en TBST [20
mM de Tris-HCl, pH 7.5, 150 mM de NaCl, 0.1% de Tween-20])
por 1 hora. Las glicoproteínas E2 de tipo silvestre y
25 mutadas expresadas en lisados de células 293T se capturaron

en placas cubiertas con GNA. La E2 unida se detectó a través de cada anticuerpo con la cantidad de E2 en cada cavidad normalizada utilizando un MAb de ratón anti-c-myc. Los anticuerpos unidos se incubaron con IgG anti-humano conjugado
5 con fosfatasa alcalina y seguida por incubación de p-nitrofenil fosfato para el desarrollo del color. La absorbencia se midió a 405 nm y 570 nm. Los valores derivados para las proteínas E2 mutantes después se desplegaron como un porcentaje de los observados para E2 de
10 tipo silvestre.

Evolución de la neutralización de HCVpp

La neutralización mediada por el anticuerpo de la infección HCVpp a diferentes intervalos de tiempo después de la unión se realizó esencialmente como se describe (Evans et
15 al., 2007, *Nature*, 446:801-5; incorporada en la presente por referencia) con modificaciones. Los sobrenadantes de cultivo recolectados de las células 293T conteniendo HCVpp se filtraron utilizando un filtro de 0.45 μm y se enfriaron a 4°C. Las células Huh 7.5 se sembraron a 3.2×10^4 por cavidad
20 en placas de cultivo tisular de 24 cavidades recubiertas con poli-L-Lisina 24 horas antes de la infección. Después del pre-enfriamiento de las células Huh 7.5 a 4°C y a $t = -120$ minutos, el medio se reemplazó con 200 μl de sobrenadante HCVpp conteniendo 4 $\mu\text{g/ml}$ de polibreno y 50 mM de Hepes, con
25 o sin anticuerpo como se indica. Las placas se centrifugaron

a 2100 rpm por 120 minutos a 4°C. A t = 0 minutos, las placas se lavaron dos veces con 1 ml de PBS frío y después medio fresco 37°C conteniendo 4 µg/ml de polibreno, con o sin anticuerpos, se agregó y seguido por la colocación de las
5 placas en una incubadora de CO₂ a 37°C. A diferentes intervalos de tiempo, los anticuerpos se agregaron al medio a concentraciones indicadas. A las 18 horas después de la infección, el medio de cultivo se cambió a medio fresco sin anticuerpos. Las células se cosecharon 3 días después de la
10 infección en 100 µl de regulador de pH de lisis de cultivo y la expresión del reportero de luciferasa se midió con la adición de 100 µl del reactivo Bright Glo de Promega (Madison, WI).

Ensayo de virus en gránulos de apoyo

15 Las pseudopartículas HCV (HCVpp) se produjeron como se describe (Bartosch et al., 2003, *J. Exp. Med.*, 197:633-42; y Keck et al., 2005, *J. Virol.*, 79:13199-208; ambos de los cuales se incorporan aquí por referencia) por co-transfección de células 293T con plásmidos conteniendo el genoma proviral
20 defectuoso en env y un plásmido de expresión que codifica las glicoproteínas HCV (gps). Aquí, HCVpp lleva cada uno de los seis residuos mutados (R657A, D658a, F679A, L692A, I696A, D698A) involucrados en la unión del epítipo HC-3. H77c de tipo silvestre y/o E431A (un residuo localizado fuera del
25 epítipo HC-3) son controles positivos. Las células que

expresan E1E2 HCV y el virus conteniendo medio extracelular se recolectaron de forma separada 48 horas después de la transfección. El lisado celular se preparó volviendo a suspender las células que expresan E1E2 HCV utilizando
5 regulador de pH de lisis (150 mM de NaCl, 20 mM de Tris [pH 7.5], 0.5% de deoxicolato, 1.0% de Nonidet-P40, 1 mM de EDTA, 0.5 mg/ml de Pefabloc, 2 µg/ml de aprotinina, 2 µg/ml de leupeptina, 1 µg/ml de pepstatina). El núcleo se granuló por centrifugación a $18,000 \times g$ a 4°C por 10 minutos, y los
10 extractos citoplásmicos resultantes se recolectaron para el análisis de Western Blot. El medio extracelular conteniendo el virus primero se separó de los restos celulares haciéndolo pasar a través de un filtro de 0.45 µm u además se concentró procesando 30 ml del sobrenadante filtrado a través de una
15 almohadilla de 20% de sacarosa por ultracentrifugación utilizando un rotor Beckman Coulter SW 28 (25,000 rpm, 2 horas a 4°C). El virus granulado de soporte se volvió a suspender en 150 µl de regulador de pH NTE (150 mM de NaCl, 1 mM de EDTA, 10 mM de Tris-HCl, pH 7.4). Para la Western Blot,
20 se mezclaron volúmenes iguales de 20% de suspensión granulada de soporte de sacarosa o lisados de células 293T con un volumen igual de 2x de regulador de pH de muestra SDS y se desnaturalizaron por calentamiento a 95°C por 5 minutos. Todas las muestras se resolvieron mediante 10% de SDS-PAGE
25 utilizando geles Tris-HCl Criterion (Bio-Rad Laboratories,

Hercules, CA). Las proteínas en el gel se transfirieron sobre un filtro de nitrocelulosa. El filtro se bloqueó con 5% de leche seca en 0.1% de T-TBS (20 mM de Tris-HCl, pH 7.5, conteniendo 150 mM de NaCl y 0.1% de Tween-20).

5 Se utilizaron los siguientes pares de anticuerpos primario y secundario para detectar la cantidad de proteínas en las muestras: para la detección de E1, H111 (Keck et al., 2004, *J. Virol.*, 78:7257-63; incorporada en la presente por referencia) a 2 µg/ml y HRP de IgG anti-humano (1:5000, GE Healthcare); para la detección de E2, AP33 (Owsianka et al., 10 2005, *J. Virol.*, 79:11095-104; incorporada en la presente por referencia) a 2 µg e IgG anti-ratón de cabra (1:2000, Santa Cruz Biotechnologies); p24 anti-HIV de cabra (1:2500, ViroStat, Portland, OR) y HRP de IgG anti-cabra de bovino 15 (1:5000, Santa Cruz Biotechnologies). Las proteínas GAPDH y P24 se utilizaron como controles internos para la producción de proteína celular y partículas HCV, respectivamente, y se detectaron a través de HRP IgG anti-GAPDH de ratón y anti-ratón de cabra (Santa Cruz Biotechnologies). El filtro se 20 incubó con ECL plus y las imágenes quimioluminiscentes se capturaron utilizando un sistema de imágenes chemi-doc de Bio-Rad.

Ensayo de ineffectividad de HCVpp

La cantidad de virus en medio conteniendo virus 25 primero se normalizó mediante la expresión de p24 utilizando

el kit de concentración de lentivirus QuickTiter (Cell Biolabs Lab, San Diego, CA) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Posteriormente, se agregó una cantidad igual de células Huh-7.5 pre-sembradas (8×10^3 células/cavidad) en una placa de 96 cavidades no transparente blanca y las infecciones se centrifugaron a $730 \times g$ por 2 horas a temperatura ambiente antes de colocarlas en una cámara de cultivo celular humidificada conteniendo 5% de CO_2 a 37°C . El virus sin unir se reemplazó con medio completo fresco incubado durante un total de 72 horas. Después de agregar 100 μl de Bright-Glo reconstituido (Promega) a cada cavidad seguido por mezclado por 2 minutos a temperatura ambiente, se midió la actividad de luciferasa por medio de un luminómetro de microplaca Veritas (Turner Biosystems). La inefectividad del Virus se muestra como la actividad de luciferasa (RLU).

Resultados

Aislamiento de los nuevos Anticuerpos HCV del dominio B para la glicoproteína E2 HCV

E2 HCV contiene al menos tres dominios adaptativos inmunogénicos con diferentes propiedades y funciones biológicas (Keck et al., 2007, *J. Virol.*, 81:1043; Keck et al., 2005, *J. Virol.*, 79:13199; y Keck et al., 2004, *J. Virol.*, 78:9224; todos los cuales se incorporan en la presente por referencia). Cada dominio contiene múltiples epítomos traslapados que tiene similares propiedades y

funciones. Para expandir el panel de los anticuerpos neutralizantes, se produjo y caracterizó un grupo de anticuerpos monoclonales humanos de células B periféricas de tres individuos infectados con HCV que tiene altas concentraciones de neutralización en suero. Las células B periféricas de individuos con ya sea infección HCV 1a o 1b y actividades con alta neutralización de anticuerpo en suero se utilizaron para producir y caracterizar un panel de anticuerpos monoclonales humanos.

La clasificación inicial hizo uso de una proteína E2 de genotipo 1b para un donador infectado 1a, o la proteína E2 1a para un donador infectado 1b. Las células B se activaron mediante el virus Epstein-Barr y se utilizaron para producir hibridomas humanos como se describe (Hadlock et al., 2000, *J. Virol.*, 74:10407; incorporada en la presente por referencia). Se seleccionaron cuatro hibridomas, marcados como HC-1, HC-3, HC-11, y CBH-23, que secretan anticuerpos que se unen HCVpp subtipo 1a y E2 1B pero no glicoproteínas E1 1b a través del ensayo inmunofluorescente indirecto (IFA; Figura 1). Esta clasificación enfatiza la selección de los anticuerpos HCV para epítomos conservados como se muestra previamente y muestra que estos anticuerpos son para E2 (Keck et al., 2004, *J. Virol.*, 78:9224; incorporada en la presente por referencia).

Dos rondas de clonación de células individuales

estableció la monoclonalidad de los hibridomas que se confirmó mediante secuenciación de los genes IgG como se describe (Keck et al., 2004, *J. Virol.*, 78:7257; incorporada en la presente por referencia). Además, los cuatro anticuerpos se secuenciaron, se determinaron las regiones determinantes de complementariedad (CDR) de cada cadena pesada y ligera del anticuerpo (Figura 2). Además se determinaron las subclases IgG de cada uno de los cuatro anticuerpos (Figura 3).

10 Para encontrar el grado de conservación del epítipo entre diferentes genotipos y/o subtipos HCV, se ensayaron HC-1, HC-3, HC-11, y CBH-23 por IFA contra células Huh7.5 infectadas con los subtipos 1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 4, 5 y 6 de HCVpp (Owsianka et al., 2008, *J. Gen. Virol.*, 89:653-9; incorporada en la presente por referencia; Figura 4).

 Como se resume en la Figura 4, los anticuerpos HCV HC-1 y HC-11 fueron capaces de neutralizar todos los genotipos HCVpp excepto para el genotipo 4 para HC-1 y el genotipo 5 para HC-11. Ambos HC-1 y HC-11 neutralizan HCVcc 1a y 2a. CBH-23 fue capaz de neutralizar la infección por HCVpp 1a y 1b, así como infección HCVcc 2a. HC-3 fue capaz de neutralizar HCVpp 1a y HCVcc 2a. En contraste, el control RO4 comparado con el isotipo, un anticuerpo para la proteína específica CMV, fue incapaz de unirse a cualquiera de los genotipos HCVpp. Los cuatro anticuerpos fueron capaces de

inmunoprecipitar E2 (Figura 1) pero no detectaron E2 bajo condiciones de reducción ya sea mediante ELISA o análisis de Western Blot, lo que indica que los anticuerpos HCV son para epítomos adaptativos en la glicoproteína E2 HCV. Los
5 hibridomas humanos HC-3, HC-11 y CBH-23 secretan anticuerpos IgG₁, y HC-1 secreta IgG₂ (Figura 3). La producción del anticuerpo estuvo entre 20 µg/ml - 60 µg/ml en el sobrenadante consumido. El análisis de secuencia de sus genes Ig (V_L y V_H) demostró que HC-1, HC-3, HC-11, y CBH-23 se
10 derivaron de células B independientes que expresan combinaciones únicas de las regiones de CDR1, 2 y 3 de la cadena pesada y ligera (Figura 2).

Para definir la relación de estos nuevos anticuerpos con el panel anterior, se realizó el análisis de
15 competencia con anticuerpos HCV de los dominios A marcados con biotina representativos (CBH-4D), B (CBH-5), y C (CBH-7) (Figura 5). HC-1 y HC-11 mostraron una competencia mínima o nada de competencia con los anticuerpos de los dominios A y C, y 60% - 80% de competencia con CBH-5 (Figura 5), lo que
20 sugiere que los epítomos reconocidos por estos nuevos anticuerpos se localizan dentro del dominio B. CBH-23 mostró una competencia mínima o nada de competencia con los anticuerpos de los dominios A y B, y >90% de competencia con CBH-7 lo que sugiere que este epítomo se localiza dentro del
25 dominio C. HC-3 mostró una competencia mínima o nada de

competencia con los anticuerpos de los dominios A, B, y C, lo que sugiere que este anticuerpo reconoce un nuevo dominio diferente.

Anticuerpos neutralizantes que producen epítomos
5 *del dominio B*

Si el modelo de epítomos de traslape dentro de un dominio es tener propiedades y funciones similares (Keck et al., 2004, *J. Virol.*, 78:9224; incorporada en la presente por referencia), HC-1, HC-11, y CBH-23 también deberían
10 neutralizar HCV como se observa con los anticuerpos HCV de los dominios B y C anteriores. Las actividades de neutralización a 20 µg/ml del anticuerpo primero se midieron utilizando infección HCVpp 1a y 1b con cada anticuerpo HCV que neutraliza ambos aislados. La neutralización promedio de
15 los anticuerpos HCV contra HCVpp 1b fue comparable con CBH-5, a 64%. En contraste, un promedio de 80% de neutralización para todos los anticuerpos HCV se observó en la infección HCVpp 1a, comparado con 60% con CBH-5. Ciertamente, el análisis de neutralización más detallado con HC-11 mostró que
20 este anticuerpo tiene IC_{50} de 0.9 µg/ml. Este valor es aproximadamente 5 veces más alto en la potencia de neutralización HCVpp 1a que CBH-5 a 4.0 µg/ml. Esto puede reflejar diferencias en sus epítomos entre los subtipos ya que CBH-5 se aisló de un paciente infectado con 1b y los
25 nuevos anticuerpos HCV se asilaron de un paciente infectado

con 1a. La neutralización además se ensayó con HCVCC del tipo 1a y 2a infeccioso (Figura 4). Para HCVcc 2a, la actividad neutralizante se midió mediante dos ensayos, inhibición de la expresión de proteína NS3 en células infectadas Huh7.5 por análisis de Western Blot y por reducción FFU. El efecto de cada anticuerpo en la inefectividad de HCVcc 1a se determinó mediante la reducción FFU. Como se muestra en la Figura 4, la neutralización para HCVcc 2a se completó con HC-1, HC-3, y HC-11 con cada anticuerpo HCV a 10 µg/ml según medido por la expresión de NS3 HCV. En contraste, la inefectividad con HCVcc 2a no se afectó por los controles negativos (es decir, el anticuerpo RO4 o sin controles de anticuerpo (PBS)). Los niveles de proteína β-actina utilizados como un control interno fueron comparables entre las diferentes muestras. Estos resultados juntos son consistentes con el modelo de epítomos adaptativos de traslape dentro de un dominio inmunogénico diferente en la glicoproteína E2 que tiene funciones similares. El aislamiento exitoso de HC-1 y HC-11 para el dominio B confirma que los epítomos del dominio B son altamente inmunogénicos y producen anticuerpos neutralizantes potentes.

Los anticuerpos del dominio B inhiben la unión de E2 a CD81

El mecanismo de neutralización con los anticuerpos HCV del dominio B y C anteriores es a través de la inhibición

de la unión de E2 a CD81. Esto se estudió con HC-1, HC-3, HC-11, y CBH-23 en un ensayo de captura CD81. Como se muestra en la Figura 6, la pre-incubación de Glicoproteínas E2 en la presente de 15 µg/ml de anticuerpos HCV HC-1, HC-11, 5 CBH-23, o CBH-5 redujo en 90% la unión de E2 a CD81 comparado con el control negativo RO4. Similar a los otros anticuerpos HCV del dominio B o C, estos anticuerpos HCV neutralizan HCV mediante el bloqueo de la unión de E2 a CD81. En contraste, la pre-incubación de las glicoproteínas E2 en la presencia de 10 HC-3 no reduce la unión de E2 a CD81.

Mapeo de epítipo de HC-1 y HC-12 mediante mutagénesis dirigida a sitio

La mutagénesis de exploración de alanina se llevó a cabo para definir los residuos dentro de los epítipos de 15 anticuerpos HCV que se acoplan en las interacciones E2-CD81. Se obtuvo una serie de proteínas mutadas en sitios de aminoácidos en el intervalo de 523 y 540 a través de mutagénesis dirigida al sitio. Esta región contiene Tyr527, Trp529, Gly530, y Asp535 que son residuos de punto de 20 contacto para la unión de E2 a CD81 (Owsianka et al., 2006, *J. Virol.*, 80:8695; incorporada en la presente por referencia). Además, los residuos Gly523, Pro525, Gly530, Asp535 y Asn540 están involucrados en el epítipo CBH-5 (Owsianka et al., 2008, *J. Gen. Virol.*, 89:653-9; incorporada 25 en la presente por referencia). Para estos mutantes, el

efecto de la unión de HC-1 se analizó por medio del uso de células transfectadas con plásmidos mutantes que codifican la proteína de fusión E2-*c-myc*. Las proteínas E2 mutantes se evaluaron para su reactividad para HC-1 a través de ELISA
5 (Figuras 7A y 7B). Esta evaluación se confirmó mediante análisis de flujo. Ya que *c-myc* es una etiqueta C-terminal, la cantidad de *c-myc* detectada por PE-anti-*c-myc*, se utilizó como un control interno para normalizar el nivel de expresión de E2. Para evaluar el porcentaje de unión de HC-1 a las
10 proteínas mutantes E2, se calculó la proporción de E2/*c-myc* para cada mutante y se comparó con la proporción obtenida con la proteína de tipo silvestre. CBH-4G, un anticuerpo neutralizante, se utilizó como un control para identificar residuos que son específicos para HC-1. La falta de unión en
15 los sitios de sustitución con ambos CBH-4G y un anticuerpo HCV sugiere que ya sea un cambio global en la conformación de E2 o algún grado de traslape entre un epítipo neutralizante y uno no neutralizante. Se observó previamente algún grado de competencia recíproca entre los anticuerpos HCV neutralizante
20 y no neutralizante para E2 lo que sugiere la proximidad espacial de sus dominios inmunogénicos en E2 (Keck et al., 2004, *J. Virol.*, 78:9224; incorporada en la presente por referencia).

Se observó una disminución significativa comparada
25 con el tipo silvestre en la unión HC-1 a 10% o menos cuando

Trp529 (fila 3), Gly530 (fila 4), y Asn540 (fila 12) fueron reemplazados por alanina, como se muestra en la Figura 7A. Debido a que el mutante Asn540 también afectó la unión de CBH-4G, no es claro si este residuo participa en el epítopo
5 HC-1. Una mutación en la posición Asp535 (fila 9) disminuyó la unión de HC-1 en >80%. Para HC-11, una disminución significativa de la unión se observó cuando Gly530 y Asp535 fueron reemplazados por alanina, como se muestra en la Figura 7B.

10 Una mutación Gly530 (fila 4) disminuyó la unión de HC-1 en >80%. En contraste a HC-1, una mutación en Trp529 (fila 3) redujo la unión de HC-11 en solamente 44%, cuando se compara con el tipo silvestre. Para ambos anticuerpos (Figuras 7A y 7B), la sustitución en Gly523 (fila 1)
15 disminuyó en 60%. Las sustituciones en Pro525 (fila 2), Ala531 (fila 5), Asn532 (fila 6), Asp533 (fila 7), Thr534 (fila 8) no tuvieron o tuvieron un ligero efecto con +/- 20% en la unión de HC-1 y HC-12. Las sustituciones en Val536 (fila 10), Phe537 (fila 11) y Asn540 (fila 12) redujeron la
20 unión de HC-1 y HC-11 en 75-95%, pero también redujeron la unión de CBH-4G en 70-95%. Colectivamente, estos resultados indican que Trp529, Gly530 y Asp535 son residuos de contacto para HC-1, y Gly530 y Asp535 son residuos de contacto para HC-11. De esta forma, la presente invención abarca el
25 reconocimiento de que los anticuerpos HCV HC-1 y HC-11

neutralizan las infecciones HCVpp y HCVcc mediante el bloque directo de los residuos que también son puntos de contacto para la unión de E2 a CD81. El hecho de que ninguna sustitución individual derribó la unión al 100% es
5 consistente con la unión de los anticuerpos HCV HC-1 y -11 a epítomos discontinuos con otros puntos de contacto a ser definidos que pueden o no pueden estar directamente involucrados en la unión de E2 a CD81.

El mapeo del epítopo de HC-3 no mostró ninguna
10 participación de los residuos entre 530-535, pero mostró más del 90% de disminución en la unión en los residuos R657, D658, F679, L692, I696, y D698 (Figura 8).

Para aproximar el paso de que HC-3 se inhibe durante la trayectoria de entrada, se realizó un estudio de
15 evolución comparado con el dominio B y un un anticuerpo para CD81. HCVcc infecciosa se incubó con células Huh-7.5 pre-enfriadas a 4°C para permitir la unión del virus pero no la entrada. El anticuerpo de prueba después se agregó a intervalos de 15 minutos después de la colocación del
20 complejo de virus-célula en una incubadora a 37°C. Como se muestra en la Figura 9, existen patrones de avance similares perdidos en el bloqueo de la entrada del virus con ambos anticuerpos HCV anti-CD81 y del dominio B, HC-11. Esto se espera como los anticuerpos HCV del dominio B que inhiben la
25 entrada del virus mediante el bloqueo de la unión de E2 a

CD81. Esta similitud en los patrones con HC-3 con estos dos anticuerpos sugiere que HC-3 inhibe la entrada del virus en un paso temporal cerca de la interacción del virus con CD81. Esto incluye la posible inhibición de la interacción de E2 con un co-receptor HCV diferente, tal como SR-B1 o un paso inmediatamente después de la conexión de CD81. La identificación de los residuos de contacto para HC-3 en R657, D658, F679, L692, I696, y D698, y la falta de residuos de contacto entre 530-535, son consistentes con estos hallazgos de que HC-3 inhibe la entrada del virus en un paso diferente al bloqueo de la unión de E2 a CD81.

Los aminoácidos involucrados en la unión de HC-3 a E2 se ensayaron en un ensayo de gránulos de soporte para ver si también están involucrados en la mediación de la dimerización de E2. En este ensayo, HCVpp lleva cada uno de los seis residuos mutados (R657A, D658A y F679A, L692A, I696A, o D698A) que son parte del epítipo E2 HC-3. Alternativamente, HCVpp lleva la mutación H77c de tipo silvestre o E431A (un residuo localizado fuera del epítipo HC-3), como un control positivo. Las células que expresan HCV E1E2 se separaron del medio extracelular (conteniendo virus). Los lisados celulares y los gránulos del virus de soporte se prepararon y cargaron en un gel para la Western Blot.

Comparado con H77c, los mutantes HCVpp R657A y

D658A (y a un menor grado, F679A) mostraron una reducción significativa en E1 (Figura 10). Esto sugiere que estos residuos están involucrados en la formación de heterodímeros entre E1 y E2. Estos residuos aún no han sido identificados como estando involucrados en la dimerización de E1E2. Se observaron similares observaciones con E1E2 de lisados celulares (Figura 10). El mutante E431A sirve como un control de una mutación que no afecta la formación del heterodímero.

La inefectividad del virus que tiene mutaciones en un punto de contacto para HC-3 (es decir, inefectividad del virus con una mutación en R657A, D658A y F679A, L692A, I696A, o D698A) se determinó. Los resultados de estos experimentos (Figura 11) indican que cada mutación es letal para el virus. La mutación de control en E431A no mostró ningún cambio. Junto con los hallazgos en la Figura 10, estos datos sugieren que HC-3 media la neutralización afectando la transición de un heterodímero E1E2 a un estado que es necesario para la internalización y la posterior liberación del virus en el citosol. La presente invención abarca el reconocimiento de que uno o más de estos residuos de aminoácido podría ser un objetivo para moléculas pequeñas que podrían imitar el efecto de HC-3 para afectar este paso de transición.

Explicación

HCV tiene una capacidad extraordinaria para generar

cuasiespecies que conducen al escape de mutantes virales que son patogénicos. A pesar de esta habilidad para evadir la contención inmunitaria, la demostración de la protección del animal con inmunoterapia pasiva y los hallazgos de que anticuerpos neutralizantes se encuentran ampliamente en individuos infectados proporciona soporte para un método de vacuna que incluye la capacidad de inducir estos anticuerpos. El desarrollo de una vacuna exitosa requerirá la caracterización de epítomos inmunodominantes que median la neutralización del virus que está ampliamente conservado entre diferentes genotipos, subtipos, y/o cepas. En este ejemplo, los HCV (es decir, HC-1, HC-3, HC-11, y CBH-23) se derivan de un donador de célula B infectado con cualquier subtipo 1a o 1b. Los anticuerpos se clasificaron por IFA utilizando el subtipo 1a o 1b E2 expresado en células 293T para enfatizar la selección de los anticuerpos HCV para los epítomos conservados. Tres de los cuatro anticuerpos HCV son IgG₁, que es consistente con los previos hallazgos de la respuesta del anticuerpo a la infección HCV como en la mayoría de la subclase IgG₁ (Chen et al., 1999, *Gastroenterology*, 116:135; y Hadlock et al., 2000, *J. Virol.*, 74:10407; ambos de los cuales se incorporan aquí por referencia). Los cuatro anticuerpos HCV se unen a epítomos conservados a través de los subtipos 1-6 como se detecta por IFA y son epítomos adaptativos como se muestra mediante su

habilidad para inmunoprecipitar HCVpp pero no para detectar E2 mediante análisis de Western Blot. La eliminación de la unión a antígenos desnaturalizados además probó que los anticuerpos son para epítomos adaptativos. Los estudios de

5 competencia recíproca colocaron estos anticuerpos dentro de un grupo anterior de anticuerpos HCV relacionados, marcados como dominio B conteniendo a clúster de epítomos herméticamente traslapados. Dentro del grupo anterior de anticuerpos HCV del dominio B, algunos representados por la

10 unión de CBH-5 y todos los subtipos neutralizados y subtipos HCVpp mientras otros representados por CBH-8C están más restringidos en la no unión o neutralización de algunos subtipos/subtipos (Keck *et al.*, 2004, *J. Virol.*, 78:9224; y Owsianka *et al.*, 2008, *J. Gen. Virol.*, 89:653-9; ambos de los

15 cuales se incorporan aquí por referencia). Similar a CBH-5, HC-1 y HC-11 se neutralizan ampliamente como se ensaya con HCVpp 1a y 1b, y HCVcc 1a y 2a. Ya que el grado de neutralización obtenido fue similar para CBH-5 con HCVpp 1b, la potencia de la neutralización contra 1a con algunos de los

20 anticuerpos HCV fue mucho mayor que con CBH-5. Esto sugiere algunas diferencias en sus residuos de contacto y es consistente con el hecho de que el donador de las células B se infectó con un aislado HCV 1a. Entre el panel expandido de los anticuerpos HVC del dominio B, la potencia de la

25 neutralización estuvo correlacionada con la afinidad de unión

del anticuerpo. Con el subtipo 1a, CBH-5 tiene una afinidad de unión menor de 2.2×10^{-7} M K_d (Keck et al., 2004, *J. Virol.*, 78:9224; incorporada en la presente por referencia) comparado con las afinidades de los anticuerpos HCV entre
5 $2.4-6.6 \times 10^{-9}$ M K_d .

En general, el mecanismo primario de la neutralización del virus mediada por el anticuerpo es a través de la inhibición de un paso temprano de la entrada del virus y parece estar en su mayor parte dirigido a la
10 glicoproteína E2. La convincente evidencia mostró que las interacciones de E2 con glucosaminoglicanos, el receptor depurador del receptor de la lipoproteína de clase B tipo 1, SR-B1, y CD81 están involucrados en la entrada de HCVpp y HCVcc [revisado en Moradpour et al., 2007, *Nat. Rev.*
15 *Microbiol.*, 5:453; incorporada en la presente por referencia)]. Si E2 también es pivotal en los pasos anteriores permanece siendo determinada, tal como la interacción con claudina-1, un miembro en una gran familia de moléculas de adhesión intracelular y recientemente mostró ser
20 un paso esencial en la entrada que sigue a la unión de E2 a CD81 (Evans et al., 2007, *Nature*, 446:801; incorporada en la presente por referencia). De los anticuerpos HCV, cada uno inhibe la unión de E2 a CD81 como se muestra con otros anticuerpos HCV del dominio B (Hadlock et al., 2000, *J.*
25 *Virol.*, 74:10407; incorporada en la presente por referencia).

Un experto en la técnica fácilmente reconocerá que los experimentos tales como los descritos en la presente pueden llevarse a cabo para encontrar si los anticuerpos HCV del dominio B inhiben la interacción de E2 con otras moléculas del receptor HCV.

Los residuos específicos críticos para la unión de CD81 han sido localizados para dos secuencias principalmente discontinuas en E2 (Drummer *et al.*, 2006, *J. Virol.*, 80:7844; y Owsianka *et al.*, 2006, *J. Virol.*, 80:8695; ambos de los cuales se incorporan aquí por referencia). Estos incluyen un motivo conservado localizado entre HVR1 y HVR2 (aminoácido 436-443) (Drummer *et al.*, 2006, *J. Virol.*, 80:7844; incorporada en la presente por referencia) y residuos específicos conservados en todos los subtipos/subtipos, Trp420, Tyr527, Trp529, Gly530 y Asp535 (Owsianka *et al.*, 2006, *J. Virol.*, 80:8695; incorporada en la presente por referencia). Los estudios de sustitución de alanina en una de estas dos regiones de 523-540 mostraron que dos de los anticuerpos HCV que representan el grupo completo revelaron residuos de contacto compartidos críticos. HC-1 requiere Trp529, Gly530 y Asp535, y HC-12 requiere Gly530 y Asp535. Estos dos patrones colocan HC-12 más similar al epítipo CBH-5 que también involucra Gly530 y Asp535 pero con al menos un punto de contacto diferente en Gly523 (Owsianka *et al.*, 2008, *J. Gen. Virol.*, 89:653-9; incorporada en la presente por

referencia). Efectivamente, los estudios de competencia también demostraron que el epítipo HC-11 está espacialmente más cerca a CBH-5 que a cualquier HC-1. Ambos HC-1 y HC-11 se unen a la sustitución de alanina en Gly523 mientras CBH-5 no mostró ninguna unión. Los recientes estudios mostraron que otros anticuerpos ampliamente neutralizantes de colecciones de combinación aislados de un individuo infectado con el subtipo 2b también reconocen epítopos conteniendo Gly523, Trp529, Gly530, y Asp535 (Johansson *et al.*, 2007, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 104:16269; incorporada en la presente por referencia). Porqué HC-1 y HC-12 tienen mayores potencias neutralizantes que CBH-5 con el subtipo la puede atribuirse en parte a la diferente afinidad del anticuerpo al subtipo la con HC-1, HC-12 y CBH-5 que tienen casi una caída de dos log en K_d . Esto podría reflejar las diferencias en sus epítopos en los residuos de contacto fuera de 523-540 que representaría las diferencias en los valores K_d y las actividades neutralizantes. También, la ubicación de los residuos de contacto críticos de todos los anticuerpos HCV del dominio B en Gly530 y Asp535 en E2 HCV proporciona una prueba adicionada de los sitios de glicosilación específicos en E2 que modula la respuesta neutralizante del anticuerpo para HCV. En dos estudios independientes, el glicano en Asn532 ha demostrado que disminuye las actividades neutralizantes del suero policlonal HCV así como los

anticuerpos monoclonales neutralizantes específicos de HCV (Falkowska et al., 2007, *J. Virol.*, 81:8072; y Helle et al., 2007, *J. Virol.*, 81:8101; ambos de los cuales se incorporan aquí por referencia). Cuando este residuo se sustituye con alanina, el mutante HCVpp mostró una mayor sensibilidad a ser neutralizado por estos anticuerpos. La ubicación del glicano en Asn532 podría reducir el acceso a todos los anticuerpos HCV del dominio B para dos residuos de contacto compartidos en Gly530 y Asp535. Otros dos glicanos como Asn417 y Asn645 también ha demostrado que reducen la actividad neutralizante de un anticuerpo HCV del dominio B, CBH-5 (Helle et al., 2007, *J. Virol.*, 81:8101; incorporada en la presente por referencia). Los estudios adicionales podrían proporcionar evidencia de otros puntos de contacto de anticuerpos HCV del dominio B cerca de estos dos glicanos.

En resumen, se han aislado tres grupos de anticuerpos monoclonales neutralizantes relacionados de diferentes laboratorios de individuos afectados con aislados de HCV del subtipo 1a, 1b o 2b (Hadlock et al., 2000, *J. Virol.*, 74:10407; Johansson et al., 2007, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 104:16269-74; y Keck et al., 2007, *J. Virol.*, 81:1043; todas las cuales se incorporan en la presente por referencia). Los estudios de competencia recíproca y mapeo de epítipo para una región de E2 HCV involucrados en la unión a CD81 demuestran que estos anticuerpos son para epítopos de

traslape con grados variables de conservación entre diferentes aislados de subtipo y subtipo HCV. Claramente, el dominio B es una región inmunodominante en E2 HCV conteniendo múltiples epítomos de traslape. El hecho de que un mutante de

5 sustitución de alanina HCVpp en Asn532 tiene mayor sensibilidad para ser neutralizado a través de un panel de suero obtenido de individuos infectados con el subtipo 1a, 1b, 2b, 3, 4 y 5 mostró que este suero contiene anticuerpos dirigidos a esta región que además confirma que los epítomos

10 en el dominio B son objetivos preferenciales de la respuesta inmunitaria (Falkowska et al., 2007, *J. Virol.*, 81:8072; incorporada en la presente por referencia). Aunque la mayoría de los anticuerpos HCV del dominio B son para epítomos conservados, algunos tales como CBH-8C y CBH-11 no se unen a

15 los aislados del subtipo 1a, lo que sugiere que una respuesta del anticuerpo a algunos epítomos del dominio B podría conducir al escape de los mutantes del virus. Un método de vacuna efectivo muy involucrar producir una respuesta de anticuerpo para esos epítomos como se representa por los

20 anticuerpos HCV mientras se eliminan los epítomos asociados con los mutantes de escape. Esto puede lograrse a través de mutaciones de punto o a través de eliminaciones sin alterar la estructura nativa de la glicoproteína E2 como se mostró recientemente para las regiones hipervariables (McCaffrey et

25 al., 2007, *J. Virol.*, 81:9584; incorporada en la presente por

referencia). Finalmente, las caracterizaciones bioquímica y funcional de los anticuerpos HCV, el grupo anterior de los anticuerpos HCV del dominio B y los anticuerpos humanos recombinantes descritos son consistentes con el modelo
5 propuesto de anticuerpos a epítopos relacionados dentro de un dominio que tiene propiedades biofísicas y funciones similares.

Ejemplo 3: Producción del anticuerpo

El siguiente ejemplo provee un método que puede
10 utilizarse para producir anticuerpos monoclonales HCV.

Expresión y purificación del anticuerpo de un vector de plásmido

Un gen que codifica una molécula de anticuerpo completa puede amplificarse de su hibridoma progenitor a
15 través de RT-PCT y clonarse en un casete de expresión heterólogo capaz de derivar la expresión del anticuerpo en una forma constitutiva o inducible en una línea celular eucariota. Por ejemplo, los genes de anticuerpo pueden expresarse en un plásmido de expresión tal como pcDNA3.1 Zeo,
20 pIND(SP1), pREP8, (todos de Invitrogen, Carlsbad, California), y/u otros vectores de expresión. Alternativa o adicionalmente, los genes de anticuerpo pueden expresarse a través de vectores virales o retrovirales tales como los vectores con base en MLV, vectores con base en virus de
25 vacuna, y/o vectores con base en Adenovirus. Similarmente,

los genes del anticuerpo pueden expresarse en vectores de virus de insecto tales como vectores de baculovirus. Otros vectores, tales como la serie de vectores pCOMB permiten la expresión de un par de cadena pesada y ligera del anticuerpo
5 o un anticuerpo de cadena individual en la superficie del fago o bacteria M13.

Una vez expresados, los anticuerpos pueden purificarse utilizando, por ejemplo, sefarosa de proteína A o de proteína G, y el anticuerpo purificado puede modificarse
10 química o enzimáticamente en cualquier de las siguientes formas: biotinación (por ejemplo, biotina-C11-hidroxisuccinimida éster, etc.); acoplamiento de gránulos de varios formatos (por ejemplo, sefarosa, agarosa, magnético, poliestireno, a través del uso de bromuro de cianógeno,
15 etc.); y/o combinar el anticuerpo con una fracción química útil (por ejemplo, mediante la modificación de los residuos de lisina, mediante la modificación de residuos básicos, y/o a través del uso de reactivos específicos para grupos sulfhidrilo libres, etc.).

20

Equivalentes y Alcance

Los expertos en la técnica reconocerán, o serán capaces de verificar utilizando no más que experimentación de rutina, muchos equivalentes a modalidades específicas de la invención, descrita aquí. El alcance de la presente invención
25 no pretende limitarse a la descripción anterior, sino más

bien como se establece en las reivindicaciones anexas.

Los expertos en la técnica reconocerán, o serán capaces de verificar utilizando no más que experimentación de rutina, muchos equivalentes a modalidades específicas de la invención, descrita aquí. El alcance de la presente invención no pretende limitarse a la descripción anterior, sino más bien como se establece en las reivindicaciones anexas.

En las reivindicaciones los artículos tales como "un", "uno, una" Y "el, la" pueden significar uno o más de uno a menos que se indique lo contrario o por el contrario sea evidente a partir del contexto. De esta forma, por ejemplo, la referencia a "un anticuerpo" incluye una pluralidad de tales anticuerpos, y la referencia a "la célula" incluye la referencia a una o más células conocidas por el experto en la técnica, etc. Las reivindicaciones o descripciones que incluyen "o" entre uno o más miembros de un grupo se considera que satisfacen si uno, más de uno, o todos los miembros del grupo están presentes en, se utilizan en, o por el contrario son relevantes para un producto o proceso dado a menos que se indique lo contrario o por el contrario sea evidente a partir del contexto. La invención incluye modalidades en donde exactamente un miembro del grupo está presente en, utilizado en, o por el contrario es relevante para producto o proceso dado. Además, se entiende que la invención abarca todas las variaciones, combinaciones y

permutaciones en donde una o más limitaciones, elementos, cláusulas, términos descriptivos, etc., de una o más de las reivindicaciones enumeradas se introduce en otra reivindicación. Por ejemplo, cualquier reivindicación que es
5 dependiente de otra reivindicación puede modificarse para incluir una o más limitaciones encontradas en cualquier otra reivindicación que depende de la misma reivindicación base. Además, cuando las reivindicaciones reciten una composición, se entiende que los métodos para utilizar la composición de
10 para cualquiera de los propósitos descritos en la presente se incluyen, y los métodos para hacer la composición de acuerdo con cualquiera de los métodos conocidos en la técnica descritos en la presente se incluyen, a menos que se indique lo contrario o a menos que fuera evidente para un experto en
15 la técnica que podría surgir una contradicción o inconsistencia.

Cuando los elementos se presentan en listas, por ejemplo, en el formato del grupo de Markush, se entiende que cada subgrupo de los elementos también se describe, y
20 cualquier elemento(s) puede eliminarse del grupo. Se debe entender que, en general, cuando la invención, o los aspectos de la invención, es/son referidos como comprendiendo elementos, características, etc., particulares, ciertas modalidades de la invención o aspectos de la invención
25 consisten, o esencialmente consisten de tales elementos,

características, etc. Para propósitos de simplicidad, las modalidades no han sido específicamente establecidas *in haec verba* en la presente. Se debe notar que el término "que comprende" pretende estar abierto y permite la inclusión de 3 elementos o pasos adicionales.

Cuando se dan intervalos, los puntos finales se incluyen. Además, se entiende que a menos que se indique lo contrario, o por el contrario sea evidente del contexto y del entendimiento de un experto en la técnica, los valores que se expresan como intervalos pueden asumir cualquier valor o sub-rango específico dentro de los intervalos declarados en diferentes modalidades de la invención, al décimo de la unidad del límite inferior del intervalo, a menos que el contexto claramente dicte lo contrario.

Además, se entiende que cualquier modalidad particular de la presente invención que cae dentro de la técnica anterior puede explícitamente excluirse de cualquiera de las reivindicaciones. Ya que las modalidades se estima que son conocidas por el experto en la técnica, pueden excluirse aún cuando la exclusión no se establezca explícitamente en la presente. Cualquier modalidad particular de las composiciones de la invención (*por ejemplo*, cualquier genotipo/subtipo HCV, cualquier anticuerpo HCV, cualquier epítipo, cualquier composición farmacéutica, cualquier método de administración, cualquier aplicación terapéutica, etc.) puede excluirse de

cualquiera de las reivindicaciones, por cualquier razón, si o no está relacionada con la existencia de la técnica anterior.

Las publicaciones explicadas anteriormente y a lo largo del texto son provistas solamente por su descripción
5 antes de la fecha de presentación de la presente solicitud. Nada en la presente se construye como una admisión de que los inventores no tienen el derecho de antedatar tal descripción en virtud de la descripción anterior.

Otras modalidades

10 Los expertos en la técnica fácilmente apreciarán que lo anterior representa meramente ciertas modalidades preferidas de la invención. Varios cambios y modificaciones a los procedimientos y composiciones descritos anteriormente pueden hacerse sin apartarse del espíritu o alcance de la
15 presente invención, como se establece en las siguientes reivindicaciones.

Se hace constar que con relación a esta fecha, el mejor método conocido por la solicitante para llevar a la práctica la citada invención, es el que resulta claro de la
20 presente descripción de la invención.

REIVINDICACIONES

Habiéndose descrito la invención como antecede, se reclama como propiedad lo contenido en las siguientes
5 reivindicaciones:

- 1.- Un anticuerpo caracterizado porque se dirige hacia un epítipo adaptativo dentro de los aminoácidos 523 a 540 de la glicoproteína 2 de envoltura (E2) del virus de hepatitis C (HCV).
- 10 2.- Un anticuerpo, caracterizado porque el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal HC-1.
- 3.- Un anticuerpo, caracterizado porque el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal HC-3.
- 4.- Un anticuerpo, caracterizado porque el
15 anticuerpo es un anticuerpo monoclonal HC-11.
- 5.- Un anticuerpo, caracterizado porque el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal CBH-23.
- 6.- Un anticuerpo caracterizado porque se dirige al epítipo reconocido por HC-1.
- 20 7.- Un anticuerpo caracterizado porque se dirige al epítipo reconocido por HC-3.
- 8.- Un anticuerpo caracterizado porque se dirige al epítipo reconocido por HC-11.
- 9.- Un anticuerpo caracterizado porque se dirige
25 al epítipo reconocido por CBH-23.

10.- Un anticuerpo, caracterizado porque el anticuerpo compite con HC-1 para la unión a su epítipo.

11.- Un anticuerpo, caracterizado porque el anticuerpo compite con HC-3 para la unión a su epítipo.

5 12.- Un anticuerpo, caracterizado porque el anticuerpo compite con HC-11 para la unión a su epítipo.

13.- Un anticuerpo, caracterizado porque el anticuerpo compite con CBH-23 para la unión a su epítipo.

10 14.- El anticuerpo de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-13, caracterizado porque el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal.

15.- El anticuerpo de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-13, caracterizado porque el anticuerpo es un anticuerpo humanizado.

15 16.- El anticuerpo de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-13, caracterizado porque el anticuerpo es un anticuerpo de mamífero.

20 17.- Un fragmento de un anticuerpo seleccionado del grupo que consiste de HC-1, HC-3, HC-11, y CBH-23, caracterizado porque el fragmento retiene la actividad de unión del antígeno del anticuerpo completo.

18.- Una línea celular caracterizada porque expresa el anticuerpo de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-17.

25 19.- La línea celular de conformidad con la

reivindicación 18, caracterizada porque la línea celular es una línea de célula B.

20.- La línea celular de conformidad con la reivindicación 18, caracterizada porque la línea celular es una línea de célula humana.

21.- La línea celular de conformidad con la reivindicación 18, caracterizada porque la línea celular es una línea de celular de mamífero.

22.- La línea celular de conformidad con la reivindicación 21, caracterizada porque la línea celular es una línea celular eucariota.

23.- La línea celular de conformidad con la reivindicación 18, caracterizada porque la línea celular es un hibridoma.

24.- Una composición farmacéutica caracterizada porque comprende:

un anticuerpo seleccionado del grupo que consiste de HC-1, HC-3, HC-11, y CBH-23; y

un excipiente farmacéuticamente aceptable.

25.- Una composición farmacéutica caracterizada porque comprende:

un anticuerpo que reconoce un epítipo reconocido por un anticuerpo seleccionado del grupo que consiste de HC-1, HC-3, HC-11, y CBH-23; y

un excipiente farmacéuticamente aceptable.

26.- Una composición farmacéutica caracterizada porque comprende:

un fragmento de un anticuerpo seleccionado del grupo que consiste de HC-1, HC-3, HC-11, y CBH-23, en donde
5 el fragmento retiene la actividad de unión del antígeno del anticuerpo completo; y

un excipiente farmacéuticamente aceptable.

27.- La composición farmacéutica de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 24-26, caracterizada
10 porque además comprende por lo menos un agente antivírico adicional.

28.- La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 27, caracterizada porque por lo menos un agente antivírico adicional se selecciona del grupo que
15 consiste de interferones, anticuerpos monoclonales anti-HCV, anticuerpos policlonales anti-HCV, inhibidores de polimerasa de ARN, ribavirina, inhibidores de proteasa, inhibidores IRES, inhibidores de helicasa, compuestos antisentido, ARN de interferencia corta, ARN de horquilla corta, micro ARN,
20 aptámeros de ARN, y ribozimas.

29.- La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 27, caracterizada porque por lo menos un agente antivírico adicional es interferón.

30.- La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 27, caracterizada porque por lo menos un
25

agente antivírico adicional es ribavirina.

31.- La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 27, caracterizada porque por lo menos un agente antivírico adicional es a combinación de interferón y
5 ribavirina.

32.- La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 27, caracterizada porque por lo menos un agente antivírico adicional es un anticuerpo monoclonal anti-HCV.

10 33.- La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 32, caracterizada porque el anticuerpo monoclonal anti-HCV reconoce una glicoproteína de envoltura 2 (E2).

15 34.- La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 32, caracterizada porque el anticuerpo está dirigido a proteínas de genotipos HCV idénticos.

35.- La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 32, caracterizada porque el anticuerpo se dirige a proteínas de dos o más genotipos HCV.

20 36.- Un método para tratar a un paciente infectado con HCV caracterizado porque comprende los pasos de:

proporcionar un paciente infectado con HCV o susceptible a infección HCV; y

25 administrar al paciente el anticuerpo y la composición farmacéutica de conformidad con cualquiera de las

reivindicaciones 1-35.

37.- Un método para tratar a un paciente expuesto a HCV caracterizado porque comprende los pasos de:

proporcionar un paciente infectado con HCV o
5 susceptible a infección HCV; y

administrar al paciente el anticuerpo y la composición farmacéutica de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-35.

38.- El método de conformidad con la reivindicación
10 36 ó 37, caracterizado porque una cantidad terapéuticamente efectiva es una cantidad suficiente para tratar HCV en un sujeto.

39.- El método de conformidad con la reivindicación
36 ó 37, caracterizado porque una cantidad terapéuticamente
15 efectiva es una cantidad suficiente para reducir la recurrencia de la infección HCV en el sujeto.

40.- El método de conformidad con la reivindicación
36 ó 37, caracterizado porque una cantidad terapéuticamente
efectiva es una cantidad suficiente para evitar o retrasar el
20 inicio de Infección HCV en el sujeto

41.- El método de conformidad con la reivindicación
36 ó 37, caracterizado porque el sujeto es un bebé que nació de una madre infectada con HCV.

42.- El método de conformidad con la reivindicación
25 36 ó 37, caracterizado porque el sujeto es un receptor de un

trasplante de hígado.

43.- El método de conformidad con la reivindicación 36 ó 37, caracterizado porque el sujeto es un individuo que es susceptible a infección HCV.

5 44.- El método de conformidad con la reivindicación 36 ó 37, caracterizado porque el sujeto es un individuo que sufre de infección HCV.

 45.- Un método, caracterizado porque comprende administrar a un paciente en la necesidad del mismo una
10 cantidad suficiente en una composición farmacéutica, en donde la composición farmacéutica que comprende un excipiente farmacéuticamente aceptable y un anticuerpo monoclonal humano seleccionado del grupo que consiste de:

 (a) el anticuerpo monoclonal HC-1 que se secreta a
15 través de la línea celular de hibridoma depositada en el ATCC con el Número de Acceso PTA-9416;

 (b) el anticuerpo monoclonal HC-3 que se secreta a través de la línea celular de hibridoma depositada en el ATCC con el Número de Acceso PTA-9417;

20 (c) el anticuerpo monoclonal HC-11 que se secreta a través de la línea celular de hibridoma depositada en el ATCC con el Número de Acceso PTA-9418;

 (d) el anticuerpo monoclonal CBH-23 que se secreta a través de la línea celular de hibridoma depositada en el
25 ATCC con el Número de Acceso PTA-9419; y

(e) fragmentos de los anticuerpos de (a)-(d) que retienen las características de unión de antígeno de anticuerpo completo.

46.- Un kit caracterizado porque comprende:

5 al menos un anticuerpo HCV seleccionado del grupo que consiste de HC-1, HC-3, HC-11, y CBH-23;

una aguja, jeringa o aplicador para la administración de por lo menos un anticuerpo HCV a un sujeto;
e

10 instrucciones de uso.

47.- Un kit caracterizado porque comprende:

un polvo liofilizado que comprende por lo menos un anticuerpo HCV seleccionado del grupo que consiste de HC-1, HC-3, HC-11, y CBH-23;

15 un diluyente, en donde el diluyente se utiliza para reconstituir el polvo.

48.- Una molécula pequeña, caracterizada porque la molécula pequeña se une al mismo epítipo como HC-1.

20 49.- Una molécula pequeña, caracterizada porque la molécula pequeña se une al mismo epítipo como HC-3.

50.- Una molécula pequeña, caracterizada porque la molécula pequeña se une al mismo epítipo como HC-11.

51.- Una molécula pequeña, caracterizada porque la molécula pequeña se une al mismo epítipo como CBH-23.

25 52.- Una molécula pequeña, caracterizada porque la

molécula pequeña compite con HC-1 para la unión a su epítipo.

53.- Una molécula pequeña, caracterizada porque la molécula pequeña compite con HC-3 para la unión a su epítipo.

54.- Una molécula pequeña, caracterizada porque la
5 molécula pequeña compite con HC-11 para la unión a su epítipo.

55.- Una molécula pequeña, caracterizada porque la molécula pequeña compite con CBH-23 para la unión a su epítipo.

10

15

20

25

5

RESUMEN DE LA INVENCION

La presente invención proporciona la identificación y caracterización de epítopos adaptativos de la proteína de
10 envoltura E2 del virus de Hepatitis C (HCV). La presente invención provee un panel de anticuerpos monoclonales humanos que reconocen epítopos adaptativos de E2. Los anticuerpos se derivan de pacientes infectados con HCV. La presente invención proporciona métodos para utilizar anticuerpos HCV
15 como agentes terapéuticos, de diagnóstico, y/o profilácticos. La presente invención proporciona métodos para estratificar pacientes con base en su respuesta a HCV. La presente invención provee composiciones farmacéuticas para la prevención y tratamiento de HCV que comprenden uno o más
20 anticuerpos HCV.

25

HMABs	HCVpp					
	1a	1b	2A	2B	3A	4
HC-1	+	+	+	+	+	+
HC-3	+	+	+	+	+	+
HC-11	+	+	+	+	+	+
CBH-23	+	+	+	+	+	+
RO4	--	--	--	--	--	--

FIG. 1

Cadena Pesada			
	<u>CDR1</u>	<u>CDR2</u>	<u>CDR3</u>
HC-1	GGTYNSEV	FIPMEGTA	AKVLQVGGNLVVRPL
HC-3	GFSLSITGVG	IYWDDDK	ALNSYRSGTILYREIELRGLFYI
HC-11	GATFSSFI	IIPMEGTA	AMEVPGFCRGGSCGYMDV
CBH-23	GGTFSSYA	IVPMEGTE	ARHENIYGTPFDY

Cadena Ligera			
	<u>CDR1</u>	<u>CDR2</u>	<u>CDR3</u>
HC-1	QTISSTH	GVS	HQYGNSPQT
HC-3	QSISW	ESS	QQYESSTWT
HC-11	HSVSSSN	GAS	QQYGSSPIT
CBH-23	HSITRY	AAS	QQSYSTLLT

FIG. 2

	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4
HC-1	--	+++	--	--
HC-3	+++	--	--	--
HC-11	+++	--	--	--
CBH-23	+++	--	--	--

FIG. 3

HMAb	HCVpp ^a						HCVcc ^b			
	1a	1b	2a	2b	3a	4	5	6	1a	2a
HC-1	86 ^c	78	38	41	39	29	58	48	95	100
HC-3	70	18	NA ^d	NA	NA	NA	NA	NA	NA	100
HC-11	90	87	58	52	37	52	11	45	90	100
CBH-23	82	40	42	25	21	20	7	-10	NA	85
RO4	5	5	0	4	2	0	0	0	0	0

FIG. 4

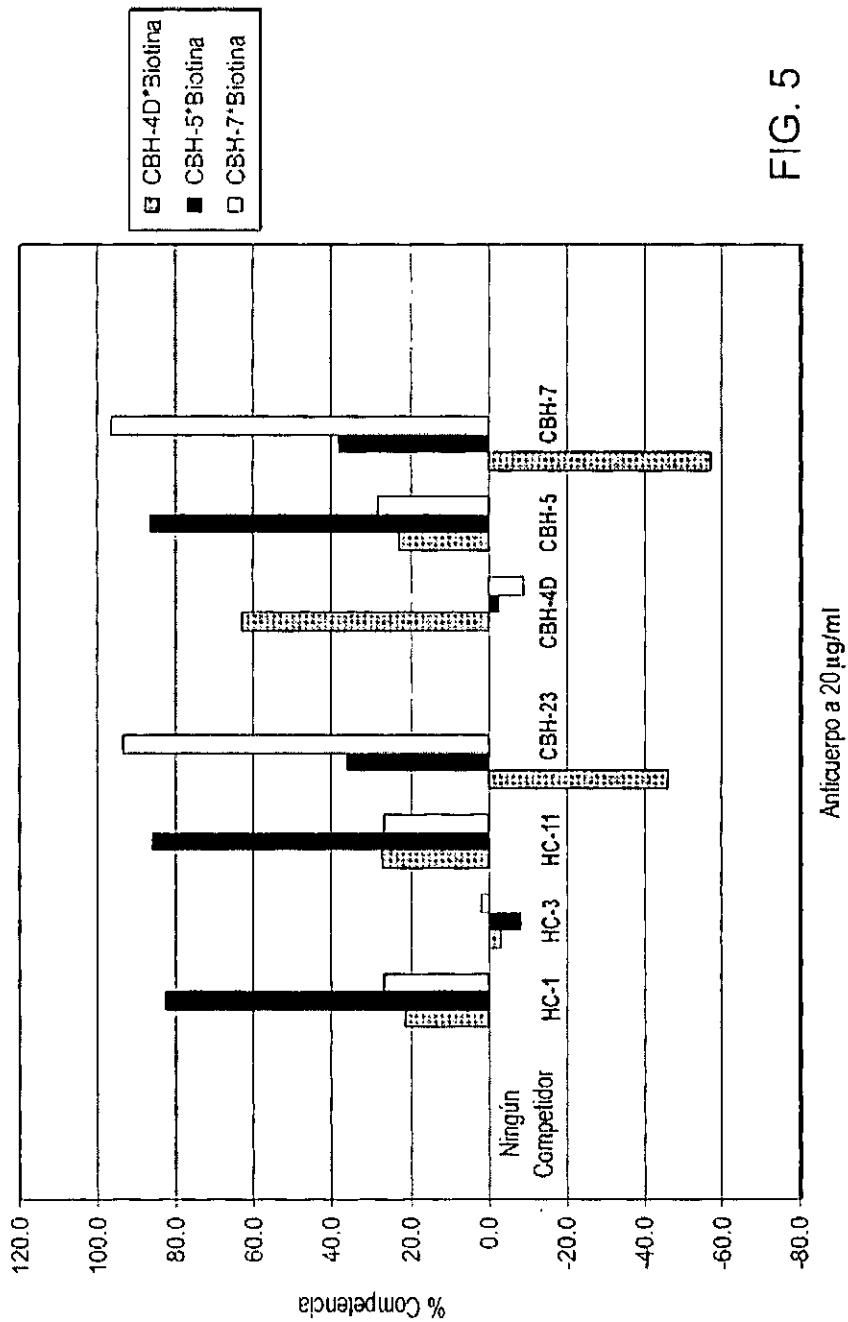


FIG. 5

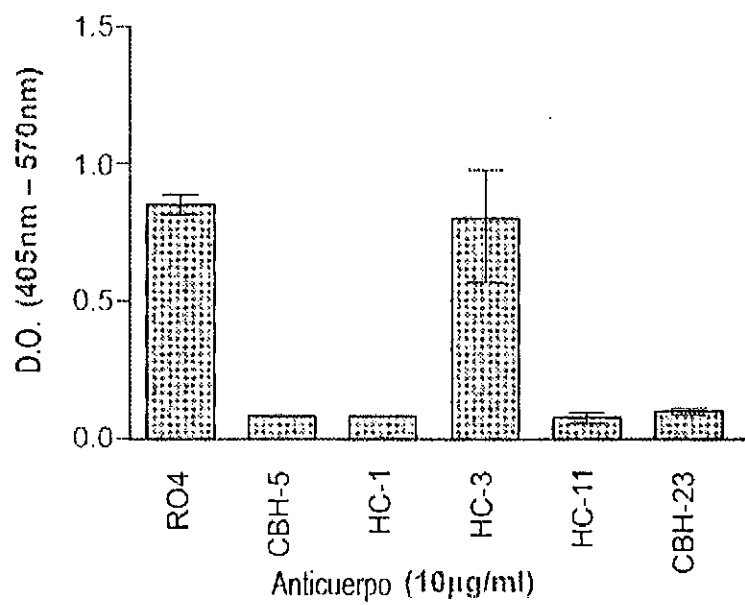


FIG. 6

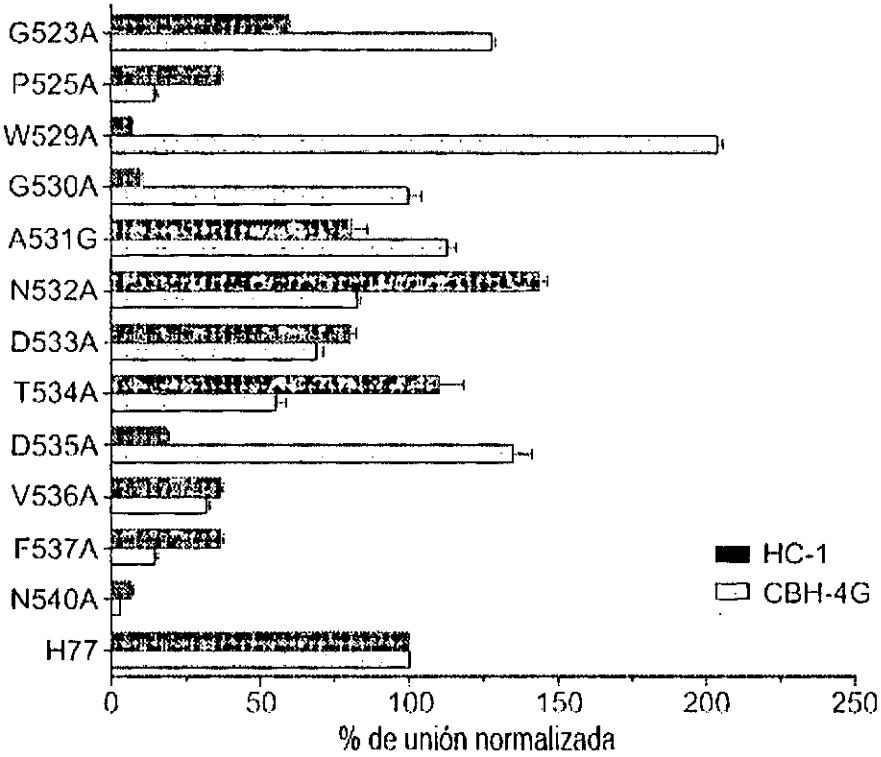


FIG. 7A

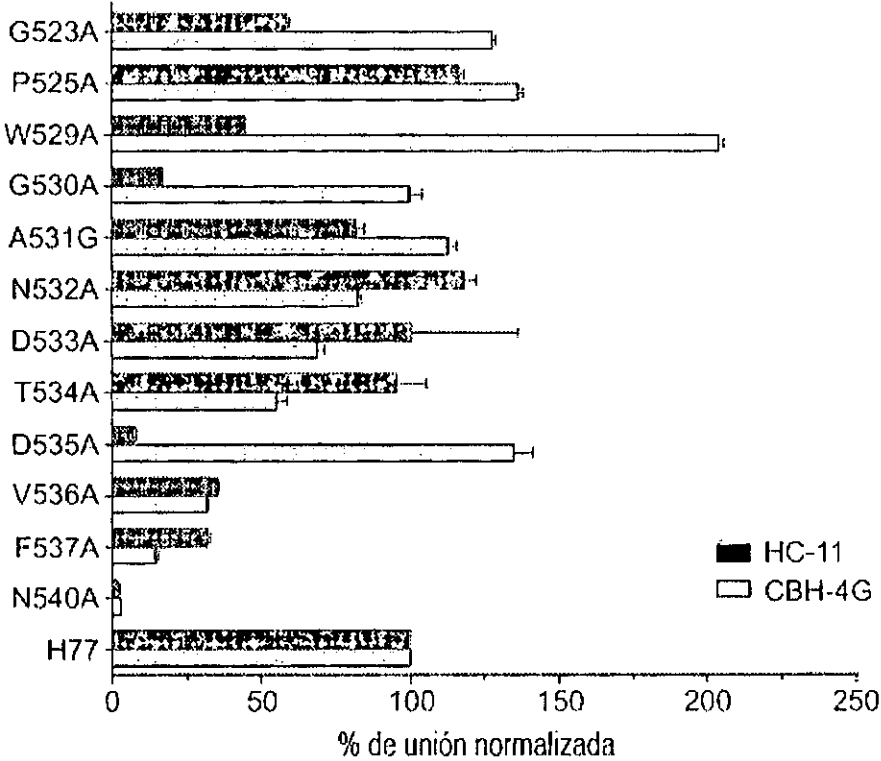
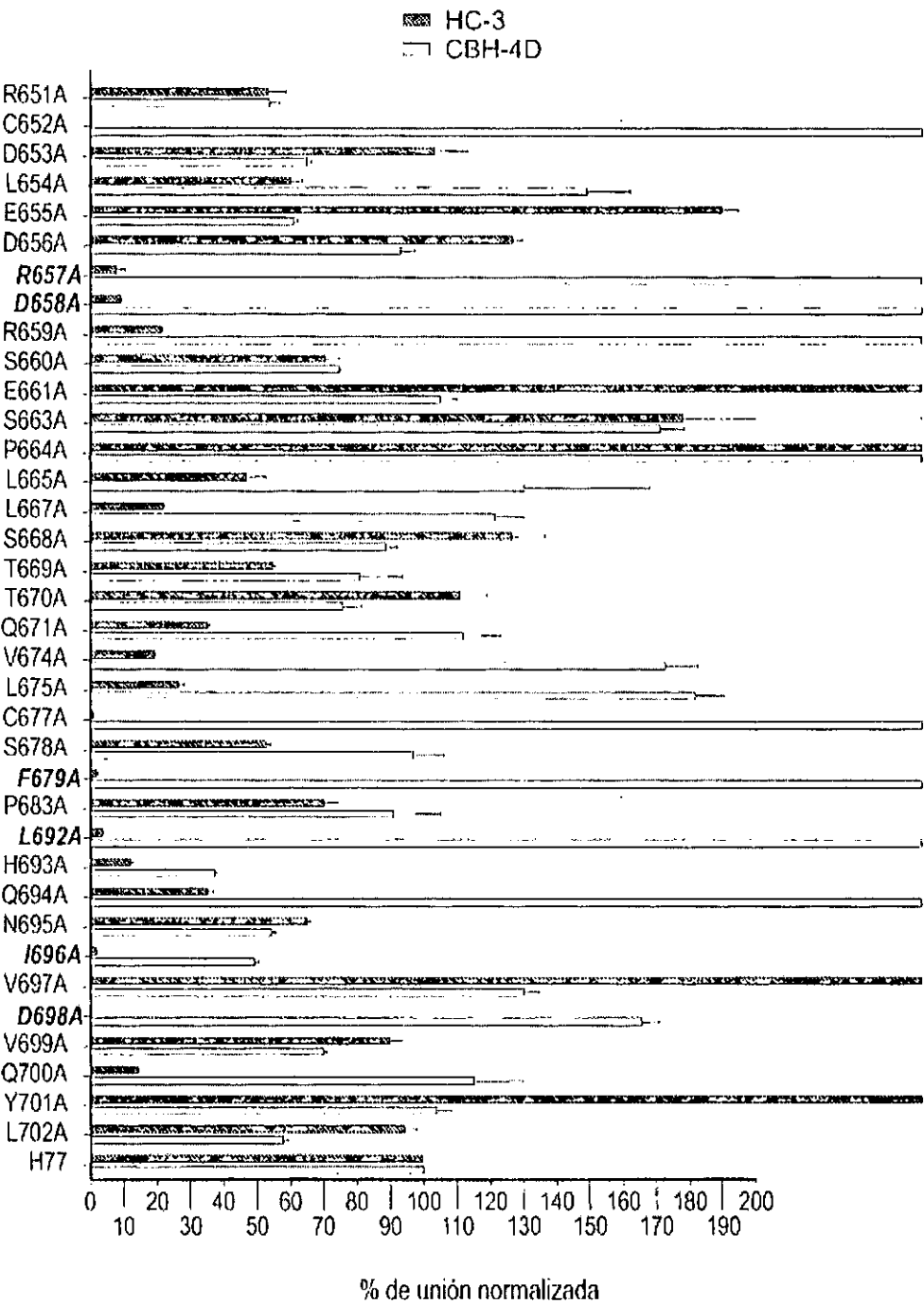


FIG. 7B

FIG. 8



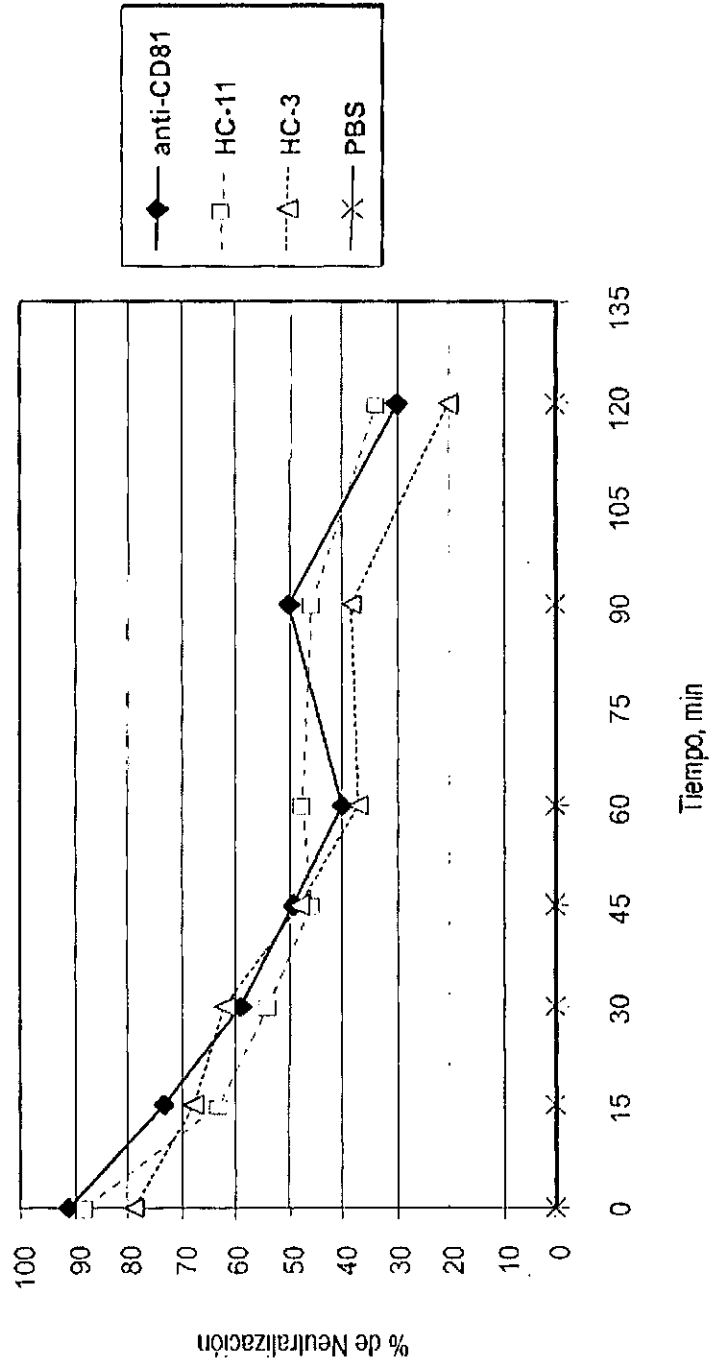


FIG. 9

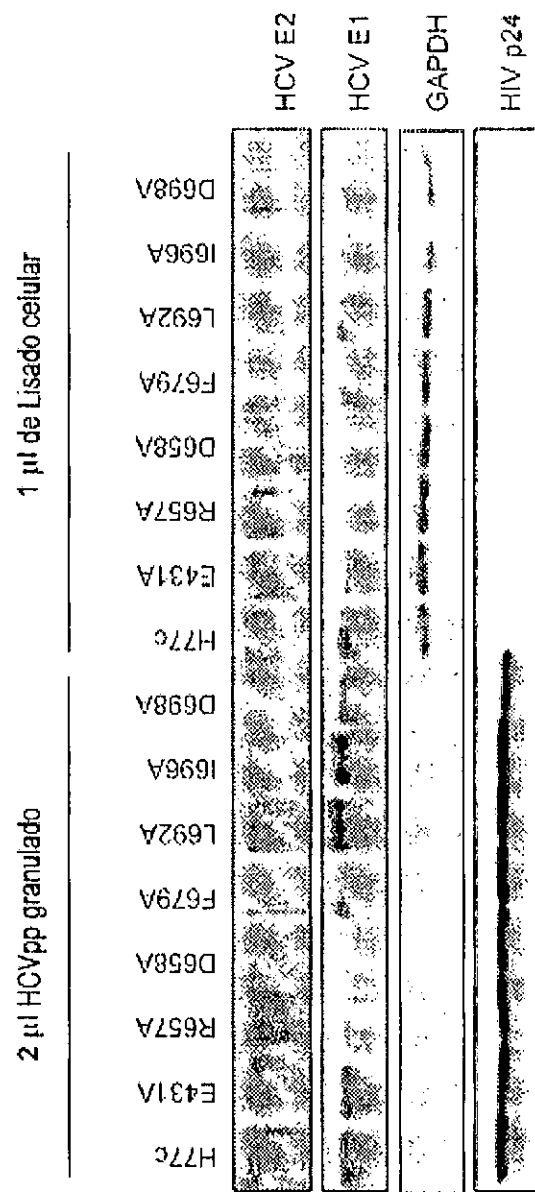


FIG. 10

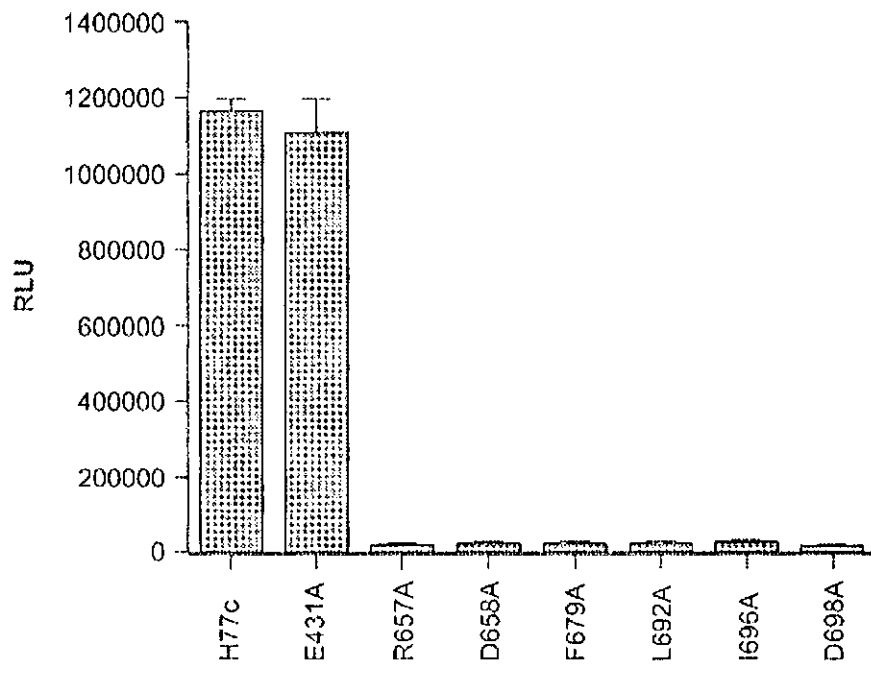


FIG. 11

SequenceListing[1].TXT
SEQUENCE LISTING

```

<110> Foung, Steven K.H.
<120> Hepatitis C Antibodies and Uses Thereof
<130> 2002850-0058 (S07-168)
<140> PCT/US 08/078884
<141> 2008-10-05
<160> 29
<170> PatentIn version 3.5
<210> 1
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220>
<223> FLAG epitope
<400> 1
^sp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
      5

<210> 2
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220>
<223> T7 tag sequence
<400> 2
Met Ala Ser Met Thr Gly Gly Gln Met Gly
1      5      10

<210> 3
<211> 15
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220>
<223> S-tag sequence
<400> 3
Lys Glu Thr Ala Ala Ala Lys Phe Glu Arg Gln His Met Asp Ser
1      5      10      15

<210> 4
<211> 3011
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220>
<223> GenBank AAB67038 HCV 1a (H77)
<400> 4
Met Ser Thr Asn Pro Lys Pro Gln Arg Lys Thr Lys Arg Asn Thr Asn
1      5      10      15

Arg Arg Pro Gln Asp Val Lys Phe Pro Gly Gly Gly Gln Ile Val Gly
      20      25      30

```

SequenceListing[1].TXT

Gly Val Tyr Leu Leu Pro Arg Arg Gly Pro Arg Leu Gly Val Arg Ala
 35 40 45
 Thr Arg Lys Thr Ser Glu Arg Ser Gln Pro Arg Gly Arg Arg Gln Pro
 50 55 60
 Ile Pro Lys Ala Arg Arg Pro Glu Gly Arg Thr Trp Ala Gln Pro Gly
 65 70 75 80
 Tyr Pro Trp Pro Leu Tyr Gly Asn Glu Gly Cys Gly Trp Ala Gly Trp
 85 90 95
 Leu Leu Ser Pro Arg Gly Ser Arg Pro Ser Trp Gly Pro Thr Asp Pro
 100 105 110
 Arg Arg Arg Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Ile Asp Thr Leu Thr Cys
 115 120 125
 Gly Phe Ala Asp Leu Met Gly Tyr Ile Pro Leu Val Gly Ala Pro Leu
 130 135 140
 Gly Gly Ala Ala Arg Ala Leu Ala His Gly Val Arg Val Leu Glu Asp
 145 150 155 160
 Gly Val Asn Tyr Ala Thr Gly Asn Leu Pro Gly Cys Ser Phe Ser Ile
 165 170 175
 Phe Leu Leu Ala Leu Leu Ser Cys Leu Thr Val Pro Ala Ser Ala Tyr
 180 185 190
 Gln Val Arg Asn Ser Ser Gly Leu Tyr His Val Thr Asn Asp Cys Pro
 195 200 205
 Asn Ser Ser Ile Val Tyr Glu Ala Ala Asp Ala Ile Leu His Thr Pro
 210 215 220
 Gly Cys Val Pro Cys Val Arg Glu Gly Asn Ala Ser Arg Cys Trp Val
 5 230 235 240
 Ala Val Thr Pro Thr Val Ala Thr Arg Asp Gly Lys Leu Pro Thr Thr
 245 250 255
 Gln Leu Arg Arg His Ile Asp Leu Leu Val Gly Ser Ala Thr Leu Cys
 260 265 270
 Ser Ala Leu Tyr Val Gly Asp Leu Cys Gly Ser Val Phe Leu Val Gly
 275 280 285
 Gln Leu Phe Thr Phe Ser Pro Arg Arg His Trp Thr Thr Gln Asp Cys
 290 295 300
 Asn Cys Ser Ile Tyr Pro Gly His Ile Thr Gly His Arg Met Ala Trp
 305 310 315 320
 Asp Met Met Met Asn Trp Ser Pro Thr Ala Ala Leu Val Val Ala Gln
 325 330 335

SequenceListing[1].TXT

Leu Leu Arg Ile Pro Gln Ala Ile Met Asp Met Ile Ala Gly Ala His
 340 345 350
 Trp Gly Val Leu Ala Gly Ile Ala Tyr Phe Ser Met Val Gly Asn Trp
 355 360 365
 Ala Lys Val Leu Val Val Leu Leu Leu Phe Ala Gly Val Asp Ala Glu
 370 375 380
 Thr His Val Thr Gly Gly Asn Ala Gly Arg Thr Thr Ala Gly Leu Val
 385 390 395 400
 Gly Leu Leu Thr Pro Gly Ala Lys Gln Asn Ile Gln Leu Ile Asn Thr
 405 410 415
 Asn Gly Ser Trp His Ile Asn Ser Thr Ala Leu Asn Cys Asn Glu Ser
 420 425 430
 Leu Asn Thr Gly Trp Leu Ala Gly Leu Phe Tyr Gln His Lys Phe Asn
 435 440 445
 Ser Ser Gly Cys Pro Glu Arg Leu Thr Ser Cys Arg Arg Leu Thr Asp
 450 455 460
 Phe Ala Gln Gly Trp Gly Pro Ile Ser Tyr Ala Asn Gly Ser Gly Leu
 465 470 475 480
 Asp Glu Arg Pro Tyr Cys Trp His Tyr Pro Pro Arg Pro Cys Gly Ile
 485 490 495
 Val Pro Ala Lys Ser Val Cys Gly Pro Val Tyr Cys Phe Thr Pro Ser
 500 505 510
 Pro Val Val Val Gly Thr Thr Asp Arg Ser Gly Ala Pro Thr Tyr Ser
 515 520 525
 Pro Gly Ala Asn Asp Thr Asp Val Phe Val Leu Asn Asn Thr Arg Pro
 530 535 540
 Pro Leu Gly Asn Trp Phe Gly Cys Thr Trp Met Asn Ser Thr Gly Phe
 545 550 555 560
 Thr Lys Val Cys Gly Ala Pro Pro Cys Val Ile Gly Gly Val Gly Asn
 565 570 575
 Asn Thr Leu Leu Cys Pro Thr Asp Cys Phe Arg Lys His Pro Glu Ala
 580 585 590
 Thr Tyr Ser Arg Cys Gly Ser Gly Pro Trp Ile Thr Pro Arg Cys Met
 595 600 605
 Val Asp Tyr Pro Tyr Arg Leu Trp His Tyr Pro Cys Thr Ile Asn Tyr
 610 615 620
 Thr Ile Phe Lys Val Arg Met Tyr Val Gly Gly Val Glu His Arg Leu
 625 630 635 640

SequenceListing[1].TXT

Glu Ala Ala Cys Asn Trp Thr Arg Gly Glu Arg Cys Asp Leu Glu Asp
645 650 655

Arg Asp Arg Ser Glu Leu Ser Pro Leu Leu Leu Ser Thr Thr Gln Trp
660 665 670

Gln Val Leu Pro Cys Ser Phe Thr Thr Leu Pro Ala Leu Ser Thr Gly
675 680 685

Leu Ile His Leu His Gln Asn Ile Val Asp Val Gln Tyr Leu Tyr Gly
690 695 700

Val Gly Ser Ser Ile Ala Ser Trp Ala Ile Lys Trp Glu Tyr Val Val
705 710 715 720

Leu Leu Phe Leu Leu Leu Ala Asp Ala Arg Val Cys Ser Cys Leu Trp
725 730 735

Met Met Leu Leu Ile Ser Gln Ala Glu Ala Ala Leu Glu Asn Leu Val
740 745 750

Ile Leu Asn Ala Ala Ser Leu Ala Gly Thr His Gly Leu Val Ser Phe
755 760 765

Leu Val Phe Phe Cys Phe Ala Trp Tyr Leu Lys Gly Arg Trp Val Pro
770 775 780

Gly Ala Ala Tyr Ala Phe Tyr Gly Met Trp Pro Leu Leu Leu Leu Leu
785 790 795 800

Leu Ala Leu Pro Gln Arg Ala Tyr Ala Leu Asp Thr Glu Val Ala Ala
805 810 815

Ser Cys Gly Gly Val Val Leu Val Gly Leu Met Ala Leu Thr Leu Ser
820 825 830

Pro Tyr Tyr Lys Arg Tyr Ile Ser Trp Cys Met Trp Trp Leu Gln Tyr
835 840 845

Phe Leu Thr Arg Val Glu Ala Gln Leu His Val Trp Val Pro Pro Leu
850 855 860

Asn Val Arg Gly Gly Arg Asp Ala Val Ile Leu Leu Met Cys Val Val
865 870 875 880

His Pro Thr Leu Val Phe Asp Ile Thr Lys Leu Leu Leu Ala Ile Phe
885 890 895

Gly Pro Leu Trp Ile Leu Gln Ala Ser Leu Leu Lys Val Pro Tyr Phe
900 905 910

Val Arg Val Gln Gly Leu Leu Arg Ile Cys Ala Leu Ala Arg Lys Ile
915 920 925

Ala Gly Gly His Tyr Val Gln Met Ala Ile Ile Lys Leu Gly Ala Leu

SequenceListing[1].TXT

```

930                               935                               940
Thr Gly Thr Tyr Val Tyr Asn His Leu Thr Pro Leu Arg Asp Trp Ala
945                               950                               955                               960

His Asn Gly Leu Arg Asp Leu Ala Val Ala Val Glu Pro Val Val Phe
965                               970                               975

Ser Arg Met Glu Thr Lys Leu Ile Thr Trp Gly Ala Asp Thr Ala Ala
980                               985                               990

Cys Gly Asp Ile Ile Asn Gly Leu Pro Val Ser Ala Arg Arg Gly Gln
995                               1000                               1005

Glu Ile Leu Leu Gly Pro Ala Asp Gly Met Val Ser Lys Gly Trp
1010                               1015                               1020

Arg Leu Gln Ala Pro Ile Thr Ala Tyr Thr Gln Gln Thr Arg Gly
1025                               1030                               1035

Leu Leu Gly Cys Ile Ile Thr Ser Leu Thr Gly Arg Asp Lys Asn
1040                               1045                               1050

Gln Val Glu Gly Glu Val Gln Ile Val Ser Thr Ala Thr Gln Thr
1055                               1060                               1065

Phe Leu Ala Thr Cys Ile Asn Gly Val Cys Trp Thr Val Tyr His
1070                               1075                               1080

Gly Ala Gly Thr Arg Thr Ile Ala Ser Pro Lys Gly Pro Val Ile
1085                               1090                               1095

Gln Met Tyr Thr Asn Val Asp Gln Asp Leu Val Gly Trp Pro Ala
1100                               1105                               1110

Pro Gln Gly Ser Arg Ser Leu Ala Pro Cys Thr Cys Gly Ser Ser
1115                               1120                               1125

Asp Leu Tyr Leu Val Thr Arg His Ala Asp Val Ile Pro Val Arg
1130                               1135                               1140

Arg Arg Gly Asp Ser Arg Gly Ser Leu Leu Ser Pro Arg Pro Ile
1145                               1150                               1155

Ser Tyr Leu Lys Gly Ser Ser Gly Gly Pro Leu Leu Cys Pro Ala
1160                               1165                               1170

Gly His Ala Val Gly Leu Phe Arg Ala Ala Val Cys Thr Arg Gly
1175                               1180                               1185

Val Ala Lys Ala Val Asp Phe Ile Pro Val Glu Asn Leu Gly Thr
1190                               1195                               1200

Thr Met Arg Ser Pro Val Phe Thr Asp Asn Ser Ser Pro Pro Ala
1205                               1210                               1215

```

SequenceListing[1].TXT

Val	Pro	Gln	Ser	Phe	Gln	Val	Ala	His	Leu	His	Ala	Pro	Thr	Gly
1220						1225					1230			
Ser	Gly	Lys	Ser	Thr	Lys	Val	Pro	Ala	Ala	Tyr	Ala	Ala	Gln	Gly
1235						1240					1245			
Tyr	Lys	Val	Leu	Val	Leu	Asn	Pro	Ser	Val	Ala	Ala	Thr	Leu	Gly
1250						1255					1260			
Phe	Gly	Ala	Tyr	Met	Ser	Lys	Ala	His	Gly	Val	Asp	Pro	Asn	Ile
1265						1270					1275			
Arg	Thr	Gly	Val	Arg	Thr	Ile	Thr	Thr	Gly	Ser	Pro	Ile	Thr	Tyr
1280						1285					1290			
Ser	Thr	Tyr	Gly	Lys	Phe	Leu	Ala	Asp	Gly	Gly	Cys	Ser	Gly	Gly
1295						1300					1305			
Ala	Tyr	Asp	Ile	Ile	Ile	Cys	Asp	Glu	Cys	His	Ser	Thr	Asp	Ala
1310						1315					1320			
Thr	Ser	Ile	Leu	Gly	Ile	Gly	Thr	Val	Leu	Asp	Gln	Ala	Glu	Thr
1325						1330					1335			
Ala	Gly	Ala	Arg	Leu	Val	Val	Leu	Ala	Thr	Ala	Thr	Pro	Pro	Gly
1340						1345					1350			
Ser	Val	Thr	Val	Ser	His	Pro	Asn	Ile	Glu	Glu	Val	Ala	Leu	Ser
1355						1360					1365			
Thr	Thr	Gly	Glu	Ile	Pro	Phe	Tyr	Gly	Lys	Ala	Ile	Pro	Leu	Glu
1370						1375					1380			
Val	Ile	Lys	Gly	Gly	Arg	His	Leu	Ile	Phe	Cys	His	Ser	Lys	Lys
1385						1390					1395			
Lys	Cys	Asp	Glu	Leu	Ala	Ala	Lys	Leu	Val	Ala	Leu	Gly	Ile	Asn
1400						1405					1410			
Ala	Val	Ala	Tyr	Tyr	Arg	Gly	Leu	Asp	Val	Ser	Val	Ile	Pro	Thr
1415						1420					1425			
Ser	Gly	Asp	Val	Val	Val	Val	Ser	Thr	Asp	Ala	Leu	Met	Thr	Gly
1430						1435					1440			
Phe	Thr	Gly	Asp	Phe	Asp	Ser	Val	Ile	Asp	Cys	Asn	Thr	Cys	Val
1445						1450					1455			
Thr	Gln	Thr	Val	Asp	Phe	Ser	Leu	Asp	Pro	Thr	Phe	Thr	Ile	Glu
1460						1465					1470			
Thr	Thr	Thr	Leu	Pro	Gln	Asp	Ala	Val	Ser	Arg	Thr	Gln	Arg	Arg
1475						1480					1485			
Gly	Arg	Thr	Gly	Arg	Gly	Lys	Pro	Gly	Ile	Tyr	Arg	Phe	Val	Ala
1490						1495					1500			

SequenceListing[1].TXT

Pro Gly Glu Arg Pro Ser Gly Met Phe Asp Ser Ser Val Leu Cys
1505 1510 1515

Glu Cys Tyr Asp Ala Gly Cys Ala Trp Tyr Glu Leu Thr Pro Ala
1520 1525 1530

Glu Thr Thr Val Arg Leu Arg Ala Tyr Met Asn Thr Pro Gly Leu
1535 1540 1545

Pro Val Cys Gln Asp His Leu Glu Phe Trp Glu Gly Val Phe Thr
1550 1555 1560

Gly Leu Thr His Ile Asp Ala His Phe Leu Ser Gln Thr Lys Gln
1565 1570 1575

Ser Gly Glu Asn Phe Pro Tyr Leu Val Ala Tyr Gln Ala Thr Val
1580 1585 1590

Cys Ala Arg Ala Gln Ala Pro Pro Pro Ser Trp Asp Gln Met Trp
1595 1600 1605

Lys Cys Leu Ile Arg Leu Lys Pro Thr Leu His Gly Pro Thr Pro
1610 1615 1620

Leu Leu Tyr Arg Leu Gly Ala Val Gln Asn Glu Val Thr Leu Thr
1625 1630 1635

His Pro Ile Thr Lys Tyr Ile Met Thr Cys Met Ser Ala Asp Leu
1640 1645 1650

Glu Val Val Thr Ser Thr Trp Val Leu Val Gly Gly Val Leu Ala
1655 1660 1665

Ala Leu Ala Ala Tyr Cys Leu Ser Thr Gly Cys Val Val Ile Val
1670 1675 1680

y Arg Ile Val Leu Ser Gly Lys Pro Ala Ile Ile Pro Asp Arg
1685 1690 1695

Glu Val Leu Tyr Gln Glu Phe Asp Glu Met Glu Glu Cys Ser Gln
1700 1705 1710

His Leu Pro Tyr Ile Glu Gln Gly Met Met Leu Ala Glu Gln Phe
1715 1720 1725

Lys Gln Lys Ala Leu Gly Leu Leu Gln Thr Ala Ser Arg His Ala
1730 1735 1740

Glu Val Ile Thr Pro Ala Val Gln Thr Asn Trp Gln Lys Leu Glu
1745 1750 1755

Val Phe Trp Ala Lys His Met Trp Asn Phe Ile Ser Gly Ile Gln
1760 1765 1770

Tyr Leu Ala Gly Leu Ser Thr Leu Pro Gly Asn Pro Ala Ile Ala
1775 1780 1785

SequenceListing[1].TXT

Ser Leu Met Ala Phe Thr Ala Ala Val Thr Ser Pro Leu Thr Thr
1790 1795 1800

Gly Gln Thr Leu Leu Phe Asn Ile Leu Gly Gly Trp Val Ala Ala
1805 1810 1815

Gln Leu Ala Ala Pro Gly Ala Ala Thr Ala Phe Val Gly Ala Gly
1820 1825 1830

Leu Ala Gly Ala Ala Ile Gly Ser Val Gly Leu Gly Lys Val Leu
1835 1840 1845

Val Asp Ile Leu Ala Gly Tyr Gly Ala Gly Val Ala Gly Ala Leu
1850 1855 1860

Val Ala Phe Lys Ile Met Ser Gly Glu Val Pro Ser Thr Glu Asp
1865 1870 1875

Ile Val Asn Leu Leu Pro Ala Ile Leu Ser Pro Gly Ala Leu Val
1880 1885 1890

Val Gly Val Val Cys Ala Ala Ile Leu Arg Arg His Val Gly Pro
1895 1900 1905

Gly Glu Gly Ala Val Gln Trp Met Asn Arg Leu Ile Ala Phe Ala
1910 1915 1920

Ser Arg Gly Asn His Val Ser Pro Thr His Tyr Val Pro Glu Ser
1925 1930 1935

Asp Ala Ala Ala Arg Val Thr Ala Ile Leu Ser Ser Leu Thr Val
1940 1945 1950

Thr Gln Leu Leu Arg Arg Leu His Gln Trp Ile Ser Ser Glu Cys
1955 1960 1965

Ile Thr Pro Cys Ser Gly Ser Trp Leu Arg Asp Ile Trp Asp Trp
1970 1975 1980

Ile Cys Glu Val Leu Ser Asp Phe Lys Thr Trp Leu Lys Ala Lys
1985 1990 1995

Leu Met Pro Gln Leu Pro Gly Ile Pro Phe Val Ser Cys Gln Arg
2000 2005 2010

Gly Tyr Arg Gly Val Trp Arg Gly Asp Gly Ile Met His Thr Arg
2015 2020 2025

Cys His Cys Gly Ala Glu Ile Thr Gly His Val Lys Asn Gly Thr
2030 2035 2040

Met Arg Ile Val Gly Pro Arg Thr Cys Arg Asn Met Trp Ser Gly
2045 2050 2055

Thr Phe Pro Ile Asn Ala Tyr Thr Thr Gly Pro Cys Thr Pro Leu

SequenceListing[1].TXT

2060	2065	2070
Pro Ala 2075	Pro Asn Tyr Lys Phe 2080	Ala Leu Trp Arg Val 2085
Glu Tyr 2090	Val Glu Ile Arg Arg 2095	Val Gly Asp Phe His 2100
Gly Met 2105	Thr Thr Asp Asn Leu 2110	Lys Cys Pro Cys Gln 2115
Pro Glu 2120	Phe Phe Thr Glu Leu 2125	Asp Gly Val Arg Leu 2130
Ala Pro 2135	Pro Cys Lys Pro Leu 2140	Leu Arg Glu Glu Val 2145
Val Gly 2150	Leu His Glu Tyr Pro 2155	Val Gly Ser Gln Leu 2160
Pro Glu 2165	Pro Asp Val Ala Val 2170	Leu Thr Ser Met Leu 2175
Ser His 2180	Ile Thr Ala Glu Ala 2185	Ala Gly Arg Arg Leu 2190
Ser Pro 2195	Pro Ser Met Ala Ser 2200	Ser Ser Ala Ser Gln 2205
Pro Ser 2210	Leu Lys Ala Thr Cys 2215	Thr Ala Asn His Asp 2220
Ala Glu 2225	Leu Ile Glu Ala Asn 2230	Leu Leu Trp Arg Gln 2235
Gly Asn 2240	Ile Thr Arg Val Glu 2245	Ser Glu Asn Lys Val 2250
Asp Ser 2255	Phe Asp Pro Leu Val 2260	Ala Glu Glu Asp Glu 2265
Ser Val 2270	Pro Ala Glu Ile Leu 2275	Arg Lys Ser Arg Arg 2280
Ala Leu 2285	Pro Val Trp Ala Arg 2290	Pro Asp Tyr Asn Pro 2295
Glu Thr 2300	Trp Lys Lys Pro Asp 2305	Tyr Glu Pro Pro Val 2310
Cys Pro 2315	Leu Pro Pro Pro Arg 2320	Ser Pro Pro Val Pro 2325
Lys Lys 2330	Arg Thr Val Val Leu 2335	Thr Glu Ser Thr Leu 2340

SequenceListing[1].TXT

Leu	Ala	Glu	Leu	Ala	Thr	Lys	Ser	Phe	Gly	Ser	Ser	Ser	Thr	Ser
2345						2350					2355			
Gly	Ile	Thr	Gly	Asp	Asn	Thr	Thr	Thr	Ser	Ser	Glu	Pro	Ala	Pro
2360						2365					2370			
Ser	Gly	Cys	Pro	Pro	Asp	Ser	Asp	Val	Glu	Ser	Tyr	Ser	Ser	Met
2375						2380					2385			
Pro	Pro	Leu	Glu	Gly	Glu	Pro	Gly	Asp	Pro	Asp	Leu	Ser	Asp	Gly
2390						2395					2400			
Ser	Trp	Ser	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Ala	Asp	Thr	Glu	Asp	Val	Val
2405						2410					2415			
Cys	Cys	Ser	Met	Ser	Tyr	Ser	Trp	Thr	Gly	Ala	Leu	Val	Thr	Pro
2420						2425					2430			
Cys	Ala	Ala	Glu	Glu	Gln	Lys	Leu	Pro	Ile	Asn	Ala	Leu	Ser	Asn
2435						2440					2445			
Ser	Leu	Leu	Arg	His	His	Asn	Leu	Val	Tyr	Ser	Thr	Thr	Ser	Arg
2450						2455					2460			
Ser	Ala	Cys	Gln	Arg	Gln	Lys	Lys	Val	Thr	Phe	Asp	Arg	Leu	Gln
2465						2470					2475			
Val	Leu	Asp	Ser	His	Tyr	Gln	Asp	Val	Leu	Lys	Glu	Val	Lys	Ala
2480						2485					2490			
Ala	Ala	Ser	Lys	Val	Lys	Ala	Asn	Leu	Leu	Ser	Val	Glu	Glu	Ala
2495						2500					2505			
Cys	Ser	Leu	Thr	Pro	Pro	His	Ser	Ala	Lys	Ser	Lys	Phe	Gly	Tyr
2510						2515					2520			
Gly	Ala	Lys	Asp	Val	Arg	Cys	His	Ala	Arg	Lys	Ala	Val	Ala	His
2525						2530					2535			
Ile	Asn	Ser	Val	Trp	Lys	Asp	Leu	Leu	Glu	Asp	Ser	Val	Thr	Pro
2540						2545					2550			
Ile	Asp	Thr	Thr	Ile	Met	Ala	Lys	Asn	Glu	Val	Phe	Cys	Val	Gln
2555						2560					2565			
Pro	Glu	Lys	Gly	Gly	Arg	Lys	Pro	Ala	Arg	Leu	Ile	Val	Phe	Pro
2570						2575					2580			
Asp	Leu	Gly	Val	Arg	Val	Cys	Glu	Lys	Met	Ala	Leu	Tyr	Asp	Val
2585						2590					2595			
Val	Ser	Lys	Leu	Pro	Leu	Ala	Val	Met	Gly	Ser	Ser	Tyr	Gly	Phe
2600						2605					2610			
Gln	Tyr	Ser	Pro	Gly	Gln	Arg	Val	Glu	Phe	Leu	Val	Gln	Ala	Trp
2615						2620					2625			

SequenceListing[1].TXT

```

Lys Ser  Lys Lys Thr Pro Met  Gly Phe Ser Tyr Asp  Thr Arg Cys
2630                2635                2640

Phe Asp  Ser Thr Val Thr Glu  Ser Asp Ile Arg Thr  Glu Glu Ala
2645                2650                2655

Ile Tyr  Gln Cys Cys Asp Leu  Asp Pro Gln Ala Arg  Val Ala Ile
2660                2665                2670

Lys Ser  Leu Thr Glu Arg Leu  Tyr Val Gly Gly Pro  Leu Thr Asn
2675                2680                2685

Ser Arg  Gly Glu Asn Cys Gly  Tyr Arg Arg Cys Arg  Ala Ser Gly
2690                2695                2700

Val Leu  Thr Thr Ser Cys Gly  Asn Thr Leu Thr Cys  Tyr Ile Lys
2705                2710                2715

Ala Arg  Ala Ala Cys Arg Ala  Ala Gly Leu Gln Asp  Cys Thr Met
2720                2725                2730

Leu Val  Cys Gly Asp Asp Leu  Val Val Ile Cys Glu  Ser Ala Gly
2735                2740                2745

Val Gln  Glu Asp Ala Ala Asn  Leu Arg Ala Phe Thr  Glu Ala Met
2750                2755                2760

Thr Arg  Tyr Ser Ala Pro Pro  Gly Asp Pro Pro Gln  Pro Glu Tyr
2765                2770                2775

Asp Leu  Glu Leu Ile Thr Ser  Cys Ser Ser Asn Val  Ser Val Ala
2780                2785                2790

His Asp  Gly Ala Gly Lys Arg  Val Tyr Tyr Leu Thr  Arg Asp Pro
2795                2800                2805

r Thr  Pro Leu Ala Arg Ala  Ala Trp Glu Thr Ala  Arg His Thr
2810                2815                2820

Pro Val  Asn Ser Trp Leu Gly  Asn Ile Ile Met Phe  Ala Pro Thr
2825                2830                2835

Leu Trp  Ala Arg Met Ile Leu  Met Thr His Phe Phe  Ser Val Leu
2840                2845                2850

Ile Ala  Arg Asp Gln Leu Glu  Gln Ala Leu Asn Cys  Glu Ile Tyr
2855                2860                2865

Gly Ala  Cys Tyr Ser Ile Glu  Pro Leu Asp Leu Pro  Pro Ile Ile
2870                2875                2880

Gln Arg  Leu His Gly Leu Ser  Ala Phe Ser Leu His  Ser Tyr Ser
2885                2890                2895

Pro Gly  Glu Ile Asn Arg Val  Ala Ala Cys Leu Arg  Lys Leu Gly
2900                2905                2910

```


SequenceListing[1].TXT

Val Pro Pro Leu Arg Ala Trp Arg His Arg Ala Arg Ser Val Arg
2915 2920 2925

Ala Arg Leu Leu Ser Arg Gly Gly Arg Ala Ala Ile Cys Gly Lys
2930 2935 2940

Tyr Leu Phe Asn Trp Ala Val Arg Thr Lys Leu Lys Leu Thr Pro
2945 2950 2955

Ile Thr Ala Ala Gly Arg Leu Asp Leu Ser Gly Trp Phe Thr Ala
2960 2965 2970

Gly Tyr Ser Gly Gly Asp Ile Tyr His Ser Val Ser His Ala Arg
2975 2980 2985

Pro Arg Trp Phe Trp Phe Cys Leu Leu Leu Leu Ala Ala Gly Val
2990 2995 3000

y Ile Tyr Leu Leu Pro Asn Arg
3005 3010

<210> 5
<211> 3010
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> GenBank AAK08509 HCV 1b

<400> 5

Met Ser Thr Asn Pro Lys Pro Gln Arg Lys Thr Lys Arg Asn Thr Asn
1 5 10 15

Arg Arg Pro Gln Asp Val Lys Phe Pro Gly Gly Gly Gln Ile Val Gly
20 25 30

Gly Val Tyr Leu Leu Pro Arg Arg Gly Pro Arg Leu Gly Val Arg Ala
35 40 45

Thr Arg Lys Thr Ser Glu Arg Ser Gln Pro Arg Gly Arg Arg Gln Pro
50 55 60

Ile Pro Lys Ala Arg Arg Pro Glu Gly Arg Thr Trp Ala Gln Pro Gly
65 70 75 80

Tyr Pro Trp Pro Leu Tyr Gly Asn Glu Gly Met Gly Trp Ala Gly Trp
85 90 95

Leu Leu Ser Pro Arg Gly Ser Arg Pro Ser Trp Gly Pro Thr Asp Pro
100 105 110

Arg Arg Arg Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Ile Asp Thr Leu Thr Cys
115 120 125

Gly Phe Ala Asp Leu Met Gly Tyr Ile Pro Leu Val Gly Ala Pro Leu
130 135 140

SequenceListing[1].TXT

Gly Gly Ala Ala Arg Ala Leu Ala His Gly Val Arg Val Leu Glu Asp
 145 150 155 160
 Gly Val Asn Tyr Ala Thr Gly Asn Leu Pro Gly Cys Ser Phe Ser Ile
 165 170 175
 Phe Leu Leu Ala Leu Leu Ser Cys Leu Thr Ile Pro Ala Ser Ala Tyr
 180 185 190
 Glu Val Arg Asn Val Ser Gly Ile Tyr His Val Thr Asn Asp Cys Ser
 195 200 205
 Asn Ser Ser Ile Val Tyr Glu Ala Ala Asp Met Ile Met His Thr Pro
 210 215 220
 Gly Cys Val Pro Cys Val Arg Glu Ser Asn Phe Ser Arg Cys Trp Val
 225 230 235 240
 Ala Leu Thr Pro Thr Leu Ala Ala Arg Asn Ser Ser Ile Pro Thr Thr
 245 250 255
 Thr Ile Arg Arg His Val Asp Leu Leu Val Gly Ala Ala Ala Leu Cys
 260 265 270
 Ser Ala Met Tyr Val Gly Asp Leu Cys Gly Ser Val Phe Leu Val Ser
 275 280 285
 Gln Leu Phe Thr Phe Ser Pro Arg Arg Tyr Glu Thr Val Gln Asp Cys
 290 295 300
 Asn Cys Ser Ile Tyr Pro Gly His Val Ser Gly His Arg Met Ala Trp
 305 310 315 320
 Asp Met Met Met Asn Trp Ser Pro Thr Thr Ala Leu Val Val Ser Gln
 325 330 335
 u Leu Arg Ile Pro Gln Ala Val Val Asp Met Val Ala Gly Ala His
 340 345 350
 Trp Gly Val Leu Ala Gly Leu Ala Tyr Tyr Ser Met Val Gly Asn Trp
 355 360 365
 Ala Lys Val Leu Ile Val Met Leu Leu Phe Ala Gly Val Asp Gly His
 370 375 380
 Thr His Val Thr Gly Gly Arg Val Ala Ser Ser Thr Gln Ser Leu Val
 385 390 395 400
 Ser Trp Leu Ser Gln Gly Pro Ser Gln Lys Ile Gln Leu Val Asn Thr
 405 410 415
 Asn Gly Ser Trp His Ile Asn Arg Thr Ala Leu Asn Cys Asn Asp Ser
 420 425 430
 Leu Gln Thr Gly Phe Ile Ala Ala Leu Phe Tyr Ala His Arg Phe Asn
 435 440 445

SequenceListing[1].TXT

Ala Ser Gly Cys Pro Glu Arg Met Ala Ser Cys Arg Pro Ile Asp Lys
 450 455 460
 Phe Ala Gln Gly Trp Gly Pro Ile Thr His Val Val Pro Asn Ile Ser
 465 470 475 480
 Asp Gln Arg Pro Tyr Cys Trp His Tyr Ala Pro Gln Pro Cys Gly Ile
 485 490 495
 Val Pro Ala Ser Gln Val Cys Gly Pro Val Tyr Cys Phe Thr Pro Ser
 500 505 510
 Pro Val Val Val Gly Thr Thr Asp Arg Ser Gly Val Pro Thr Tyr Ser
 515 520 525
 Trp Gly Glu Asn Glu Thr Asp Val Leu Leu Leu Asn Asn Thr Arg Pro
 530 535 540
 o Gln Gly Asn Trp Phe Gly Cys Thr Trp Met Asn Ser Thr Gly Phe
 545 550 555 560
 Thr Lys Thr Cys Gly Gly Pro Pro Cys Asn Ile Gly Gly Val Gly Asn
 565 570 575
 Asn Thr Leu Ile Cys Pro Thr Asp Cys Phe Arg Lys His Pro Glu Ala
 580 585 590
 Thr Tyr Thr Lys Cys Gly Ser Gly Pro Trp Leu Thr Pro Arg Cys Leu
 595 600 605
 Val Asp Tyr Pro Tyr Arg Leu Trp His Tyr Pro Cys Thr Ile Asn Phe
 610 615 620
 Thr Ile Phe Lys Val Arg Met Tyr Val Gly Gly Val Glu His Arg Leu
 625 630 635 640
 Asn Ala Ala Cys Asn Trp Thr Arg Gly Glu Arg Cys Asp Leu Glu Asp
 645 650 655
 Arg Asp Arg Ser Glu Leu Ser Pro Leu Leu Leu Ser Thr Thr Glu Trp
 660 665 670
 Gln Val Leu Pro Cys Ser Phe Thr Thr Leu Pro Ala Leu Ser Thr Gly
 675 680 685
 Leu Ile His Leu His Gln Asn Ile Val Asp Val Gln Tyr Leu Tyr Gly
 690 695 700
 Val Gly Ser Val Val Val Ser Val Val Ile Lys Trp Glu Tyr Val Leu
 705 710 715 720
 Leu Leu Phe Leu Leu Leu Ala Asp Ala Arg Val Cys Ala Cys Leu Trp
 725 730 735
 Met Met Leu Leu Ile Ala Gln Ala Glu Ala Thr Leu Glu Asn Leu Val
 Page 14

SequenceListing[1].TXT

740
 745
 750
 Val Leu Asn Ala Ala Ser Val Ala Gly Ala His Gly Leu Leu Ser Phe
 755 760 765
 Leu Val Phe Phe Cys Ala Ala Trp Tyr Ile Lys Gly Arg Leu Val Pro
 770 775 780
 Gly Ala Ala Tyr Ala Leu Tyr Gly Val Trp Pro Leu Leu Leu Leu Leu
 785 790 795 800
 Leu Ala Leu Pro Pro Arg Ala Tyr Ala Met Asp Arg Glu Met Ala Ala
 805 810 815
 Ser Cys Gly Gly Ala Val Phe Val Gly Leu Val Leu Leu Thr Leu Ser
 820 825 830
 Pro Tyr Tyr Lys Val Phe Leu Ala Arg Leu Ile Trp Trp Leu Gln Tyr
 835 840 845
 Phe Ile Thr Arg Ala Glu Ala His Leu Gln Val Trp Val Pro Pro Leu
 850 855 860
 Asn Val Arg Gly Gly Arg Asp Ala Ile Ile Leu Leu Thr Cys Ala Val
 865 870 875 880
 His Pro Glu Leu Ile Phe Asp Ile Thr Lys Leu Leu Leu Ala Ile Leu
 885 890 895
 Gly Pro Leu Met Val Leu Gln Ala Gly Ile Thr Arg Val Pro Tyr Phe
 900 905 910
 Val Arg Ala Gln Gly Leu Ile His Ala Cys Met Leu Val Arg Lys Val
 915 920 925
 Ala Gly Gly His Tyr Val Gln Met Ala Phe Met Lys Leu Gly Ala Leu
 930 935 940
 Thr Gly Thr Tyr Ile Tyr Asn His Leu Thr Pro Leu Arg Asp Trp Ala
 945 950 955 960
 His Ala Gly Leu Arg Asp Leu Ala Val Ala Val Glu Pro Val Val Phe
 965 970 975
 Ser Asp Met Glu Thr Lys Ile Ile Thr Trp Gly Ala Asp Thr Ala Ala
 980 985 990
 Cys Gly Asp Ile Ile Leu Gly Leu Pro Val Ser Ala Arg Arg Gly Lys
 995 1000 1005
 Glu Ile Leu Leu Gly Pro Ala Asp Ser Leu Glu Gly Arg Gly Trp
 1010 1015 1020
 Arg Leu Leu Ala Pro Ile Thr Ala Tyr Ser Gln Gln Thr Arg Gly
 1025 1030 1035

SequenceListing[1].TXT

Leu	Leu	Gly	Cys	Ile	Ile	Thr	Ser	Leu	Thr	Gly	Arg	Asp	Lys	Asn
1040						1045					1050			
Gln	Val	Glu	Gly	Glu	Val	Gln	Val	Val	Ser	Thr	Ala	Thr	Gln	Ser
1055						1060					1065			
Phe	Leu	Ala	Thr	Cys	Val	Asn	Gly	Val	Cys	Trp	Thr	Val	Tyr	His
1070						1075					1080			
Gly	Ala	Gly	Ser	Lys	Thr	Leu	Ala	Gly	Pro	Lys	Gly	Pro	Ile	Thr
1085						1090					1095			
Gln	Met	Tyr	Thr	Asn	Val	Asp	Gln	Asp	Leu	Val	Gly	Trp	Gln	Ala
1100						1105					1110			
Pro	Pro	Gly	Ala	Arg	Ser	Leu	Thr	Pro	Cys	Thr	Cys	Gly	Ser	Ser
1115						1120					1125			
Asp	Leu	Tyr	Leu	Val	Thr	Arg	His	Ala	Asp	Val	Ile	Pro	Val	Arg
1130						1135					1140			
Arg	Arg	Gly	Asp	Ser	Arg	Gly	Ser	Leu	Leu	Ser	Pro	Arg	Pro	Val
1145						1150					1155			
Ser	Tyr	Leu	Lys	Gly	Ser	Ser	Gly	Gly	Pro	Leu	Leu	Cys	Pro	Ser
1160						1165					1170			
Gly	His	Ala	Val	Gly	Ile	Phe	Arg	Ala	Ala	Val	Cys	Thr	Arg	Gly
1175						1180					1185			
Val	Ala	Lys	Ala	Val	Asp	Phe	Val	Pro	Val	Glu	Ser	Met	Glu	Thr
1190						1195					1200			
Thr	Met	Arg	Ser	Pro	Val	Phe	Thr	Asp	Asn	Ser	Ser	Pro	Pro	Ala
1205						1210					1215			
Val	Pro	Gln	Ser	Phe	Gln	Val	Ala	His	Leu	His	Ala	Pro	Thr	Gly
1220						1225					1230			
Ser	Gly	Lys	Ser	Thr	Lys	Val	Pro	Ala	Ala	Tyr	Ala	Ala	Gln	Gly
1235						1240					1245			
Tyr	Lys	Val	Leu	Val	Leu	Asn	Pro	Ser	Val	Ala	Ala	Thr	Leu	Gly
1250						1255					1260			
Phe	Gly	Ala	Tyr	Met	Ser	Lys	Ala	His	Gly	Ile	Asp	Pro	Asn	Ile
1265						1270					1275			
Arg	Thr	Gly	Val	Arg	Thr	Ile	Thr	Thr	Gly	Ala	Pro	Val	Thr	Tyr
1280						1285					1290			
Ser	Thr	Tyr	Gly	Lys	Phe	Leu	Ala	Asp	Gly	Gly	Cys	Ser	Gly	Gly
1295						1300					1305			
Ala	Tyr	Asp	Ile	Ile	Ile	Cys	Asp	Glu	Cys	His	Ser	Thr	Asp	Ser
1310						1315					1320			

SequenceListing[1].TXT

Thr Thr Ile Leu Gly Ile Gly Thr Val Leu Asp Gln Ala Glu Thr
 1325 1330 1335
 Ala Gly Ala Arg Leu Val Val Leu Ala Thr Ala Thr Pro Pro Gly
 1340 1345 1350
 Ser Val Thr Val Pro His Pro Asn Ile Glu Glu Val Ala Leu Ser
 1355 1360 1365
 Asn Thr Gly Glu Ile Pro Phe Tyr Gly Lys Ala Ile Pro Ile Glu
 1370 1375 1380
 Ala Ile Arg Gly Gly Arg His Leu Ile Phe Cys His Ser Lys Lys
 1385 1390 1395
 Lys Cys Asp Glu Leu Ala Ala Lys Leu Ser Gly Leu Gly Ile Asn
 1400 1405 1410
 Ala Val Ala Tyr Tyr Arg Gly Leu Asp Val Ser Val Ile Pro Thr
 1415 1420 1425
 Ile Gly Asp Val Val Val Val Ala Thr Asp Ala Leu Met Thr Gly
 1430 1435 1440
 Tyr Thr Gly Asp Phe Asp Ser Val Ile Asp Cys Asn Thr Cys Val
 1445 1450 1455
 Thr Gln Thr Val Asp Phe Ser Leu Asp Pro Thr Phe Thr Ile Glu
 1460 1465 1470
 Thr Thr Thr Val Pro Gln Asp Ala Val Ser Arg Ser Gln Arg Arg
 1475 1480 1485
 Gly Arg Thr Gly Arg Gly Arg Arg Gly Ile Tyr Arg Phe Val Thr
 1490 1495 1500
 o Gly Glu Arg Pro Ser Gly Met Phe Asp Ser Ser Val Leu Cys
 1505 1510 1515
 Glu Cys Tyr Asp Ala Gly Cys Ala Trp Tyr Glu Leu Thr Pro Ala
 1520 1525 1530
 Glu Thr Ser Val Arg Leu Arg Ala Tyr Leu Asn Thr Pro Gly Leu
 1535 1540 1545
 Pro Val Cys Gln Asp His Leu Glu Phe Trp Glu Ser Val Phe Thr
 1550 1555 1560
 Gly Leu Thr His Ile Asp Ala His Phe Leu Ser Gln Thr Lys Gln
 1565 1570 1575
 Ala Gly Asp Asn Phe Pro Tyr Leu Val Ala Tyr Gln Ala Thr Val
 1580 1585 1590
 Cys Ala Arg Ala Gln Ala Pro Pro Pro Ser Trp Asp Gln Met Trp
 1595 1600 1605

SequenceListing[1].TXT

Lys Cys Leu Ile Arg Leu Lys Pro Thr Leu His Gly Pro Thr Pro
 1610 1615 1620
 Leu Leu Tyr Arg Leu Gly Ala Val Gln Asn Glu Val Thr Leu Thr
 1625 1630 1635
 His Pro Ile Thr Lys Tyr Ile Met Ala Cys Met Ser Ala Asp Leu
 1640 1645 1650
 Glu Val Val Thr Ser Thr Trp Val Leu Val Gly Gly Val Leu Ala
 1655 1660 1665
 Ala Leu Ala Ala Tyr Cys Leu Thr Thr Gly Ser Val Val Ile Val
 1670 1675 1680
 Gly Arg Ile Ile Leu Ser Gly Arg Pro Ala Ile Val Pro Asp Arg
 1685 1690 1695
 u Leu Leu Tyr Gln Glu Phe Asp Glu Met Glu Glu Cys Ala Thr
 1700 1705 1710
 His Leu Pro Tyr Ile Glu Gln Gly Met Gln Leu Ala Glu Gln Phe
 1715 1720 1725
 Lys Gln Lys Ala Leu Gly Leu Leu Gln Thr Ala Thr Lys Gln Ala
 1730 1735 1740
 Glu Ala Ala Ala Pro Val Val Glu Ser Lys Trp Arg Ala Leu Glu
 1745 1750 1755
 Thr Phe Trp Ala Lys His Met Trp Asn Phe Ile Ser Gly Ile Gln
 1760 1765 1770
 Tyr Leu Ala Gly Leu Ser Thr Leu Pro Gly Asn Pro Ala Ile Ala
 1775 1780 1785
 Ser Leu Met Ala Phe Thr Ala Ser Ile Thr Ser Pro Leu Thr Thr
 1790 1795 1800
 Gln Ser Thr Leu Leu Phe Asn Ile Leu Gly Gly Trp Val Ala Ala
 1805 1810 1815
 Gln Leu Ala Pro Pro Ser Ala Ala Ser Ala Phe Val Gly Ala Gly
 1820 1825 1830
 Ile Ala Gly Ala Ala Val Gly Ser Ile Gly Leu Gly Lys Val Leu
 1835 1840 1845
 Val Asp Ile Leu Ala Gly Tyr Gly Ala Gly Val Ala Gly Ala Leu
 1850 1855 1860
 Val Ala Phe Lys Val Met Ser Gly Glu Met Pro Ser Thr Glu Asp
 1865 1870 1875
 Leu Val Asn Leu Leu Pro Ala Ile Leu Ser Pro Gly Ala Leu Val
 Page 18

SequenceListing[1].TXT														
1880				1885				1890						
Val	Gly	Val	Val	Cys	Ala	Ala	Ile	Leu	Arg	Arg	His	Val	Gly	Pro
	1895					1900					1905			
Gly	Glu	Gly	Ala	Val	Gln	Trp	Met	Asn	Arg	Leu	Ile	Ala	Phe	Ala
	1910					1915					1920			
Ser	Arg	Gly	Asn	His	Val	Ser	Pro	Thr	His	Tyr	Val	Pro	Glu	Ser
	1925					1930					1935			
Asp	Ala	Ala	Ala	Arg	Val	Thr	Gln	Ile	Leu	Ser	Ser	Leu	Thr	Ile
	1940					1945					1950			
Thr	Gln	Leu	Leu	Lys	Arg	Leu	His	Gln	Trp	Ile	Asn	Glu	Asp	Cys
	1955					1960					1965			
Ser	Thr	Pro	Cys	Ser	Gly	Ser	Trp	Leu	Arg	Asp	Val	Trp	Asp	Trp
	1970					1975					1980			
Ile	Cys	Thr	Val	Leu	Thr	Asp	Phe	Lys	Thr	Trp	Leu	Gln	Ser	Lys
	1985					1990					1995			
Leu	Leu	Pro	Gln	Leu	Pro	Gly	Val	Pro	Phe	Phe	Ser	Cys	Gln	Arg
	2000					2005					2010			
Gly	Tyr	Lys	Gly	Val	Trp	Arg	Gly	Asp	Gly	Ile	Met	Gln	Thr	Thr
	2015					2020					2025			
Cys	Pro	Cys	Gly	Ala	Gln	Ile	Thr	Gly	His	Val	Lys	Asn	Gly	Ser
	2030					2035					2040			
Met	Arg	Ile	Val	Gly	Pro	Lys	Thr	Cys	Ser	Asn	Thr	Trp	His	Gly
	2045					2050					2055			
Thr	Phe	Pro	Ile	Asn	Ala	Tyr	Thr	Thr	Gly	Pro	Cys	Thr	Pro	Ser
	2060					2065					2070			
Pro	Ala	Pro	Asn	Tyr	Ser	Arg	Ala	Leu	Trp	Arg	Val	Ala	Ala	Glu
	2075					2080					2085			
Glu	Tyr	Val	Glu	Val	Thr	Arg	Val	Gly	Asp	Phe	His	Tyr	Val	Thr
	2090					2095					2100			
Gly	Met	Thr	Thr	Asp	Asn	Val	Lys	Cys	Pro	Cys	Gln	Val	Pro	Ala
	2105					2110					2115			
Pro	Glu	Phe	Phe	Ser	Glu	Val	Asp	Gly	Val	Arg	Leu	His	Arg	Tyr
	2120					2125					2130			
Ala	Pro	Ala	Cys	Arg	Pro	Leu	Leu	Arg	Glu	Glu	Val	Thr	Phe	Gln
	2135					2140					2145			
Val	Gly	Leu	Asn	Gln	Tyr	Leu	Val	Gly	Ser	Gln	Leu	Pro	Cys	Glu
	2150					2155					2160			

SequenceListing[1].TXT

Pro	Glu	Pro	Asp	Val	Ala	Val	Leu	Thr	Ser	Met	Leu	Thr	Asp	Pro
	2165					2170					2175			
Ser	His	Ile	Thr	Ala	Glu	Thr	Ala	Lys	Arg	Arg	Leu	Ala	Arg	Gly
	2180					2185					2190			
Ser	Pro	Pro	Ser	Leu	Ala	Ser	Ser	Ser	Ala	Ser	Gln	Leu	Ser	Ala
	2195					2200					2205			
Pro	Ser	Leu	Lys	Ala	Thr	Cys	Thr	Thr	His	His	Val	Ser	Pro	Asp
	2210					2215					2220			
Ala	Asp	Leu	Ile	Glu	Ala	Asn	Leu	Leu	Trp	Arg	Gln	Glu	Met	Gly
	2225					2230					2235			
Gly	Asn	Ile	Thr	Arg	Val	Glu	Ser	Glu	Asn	Lys	Val	Val	Val	Leu
	2240					2245					2250			
Asp	Ser	Phe	Asp	Pro	Leu	Arg	Ala	Glu	Glu	Asp	Glu	Arg	Glu	Val
	2255					2260					2265			
Ser	Val	Pro	Ala	Glu	Ile	Leu	Arg	Lys	Ser	Lys	Lys	Phe	Pro	Ala
	2270					2275					2280			
Ala	Met	Pro	Ile	Trp	Ala	Arg	Pro	Asp	Tyr	Asn	Pro	Pro	Leu	Leu
	2285					2290					2295			
Glu	Ser	Trp	Lys	Asp	Pro	Asp	Tyr	Val	Pro	Pro	Val	Val	His	Gly
	2300					2305					2310			
Cys	Pro	Leu	Pro	Pro	Ile	Lys	Ala	Pro	Pro	Ile	Pro	Pro	Pro	Arg
	2315					2320					2325			
Arg	Lys	Arg	Thr	Val	Val	Leu	Thr	Glu	Ser	Ser	Val	Ser	Ser	Ala
	2330					2335					2340			
Leu	Ala	Glu	Leu	Ala	Thr	Lys	Thr	Phe	Gly	Ser	Ser	Glu	Ser	Ser
	2345					2350					2355			
Ala	Val	Asp	Ser	Gly	Thr	Ala	Thr	Ala	Leu	Pro	Asp	Gln	Ala	Ser
	2360					2365					2370			
Asp	Asp	Gly	Asp	Lys	Gly	Ser	Asp	Val	Glu	Ser	Tyr	Ser	Ser	Met
	2375					2380					2385			
Pro	Pro	Leu	Glu	Gly	Glu	Pro	Gly	Asp	Pro	Asp	Leu	Ser	Asp	Gly
	2390					2395					2400			
Ser	Trp	Ser	Thr	Val	Ser	Glu	Glu	Ala	Ser	Glu	Asp	Val	Val	Cys
	2405					2410					2415			
Cys	Ser	Met	Ser	Tyr	Thr	Trp	Thr	Gly	Ala	Leu	Ile	Thr	Pro	Cys
	2420					2425					2430			
Ala	Ala	Glu	Glu	Ser	Lys	Leu	Pro	Ile	Asn	Ala	Leu	Ser	Asn	Ser
	2435					2440					2445			

SequenceListing[1].TXT

```

Leu Leu Arg His His Asn Met Val Tyr Ala Thr Thr Ser Arg Ser
 2450      2455      2460

Ala Gly Leu Arg Gln Lys Lys Val Thr Phe Asp Arg Leu Gln Val
 2465      2470      2475

Leu Asp Asp His Tyr Arg Asp Val Leu Lys Glu Met Lys Ala Lys
 2480      2485      2490

Ala Ser Thr Val Lys Ala Lys Leu Leu Ser Val Glu Glu Ala Cys
 2495      2500      2505

Lys Leu Thr Pro Pro His Ser Ala Lys Ser Lys Phe Gly Tyr Gly
 2510      2515      2520

Ala Lys Asp Val Arg Asn Leu Ser Ser Lys Ala Val Asn His Ile
 2525      2530      2535

His Ser Val Trp Lys Asp Leu Leu Glu Asp Thr Val Thr Pro Ile
 2540      2545      2550

Asp Thr Thr Ile Met Ala Lys Asn Glu Val Phe Cys Val Gln Pro
 2555      2560      2565

Glu Lys Gly Gly Arg Lys Pro Ala Arg Leu Ile Val Phe Pro Asp
 2570      2575      2580

Leu Gly Val Arg Val Cys Glu Lys Met Ala Leu Tyr Asp Val Val
 2585      2590      2595

Ser Thr Leu Pro Gln Val Val Met Gly Ser Ser Tyr Gly Phe Gln
 2600      2605      2610

Tyr Ser Pro Gly Gln Arg Val Glu Phe Leu Val Asn Thr Trp Lys
 2615      2620      2625

r Lys Lys Asn Pro Met Gly Phe Ser Tyr Asp Thr Arg Cys Phe
 2630      2635      2640

Asp Ser Thr Val Thr Glu Asn Asp Ile Arg Val Glu Glu Ser Ile
 2645      2650      2655

Tyr Gln Cys Cys Asp Leu Ala Pro Glu Ala Arg Gln Ala Ile Lys
 2660      2665      2670

Ser Leu Thr Glu Arg Leu Tyr Ile Gly Gly Pro Leu Thr Asn Ser
 2675      2680      2685

Lys Gly Gln Asn Cys Gly Tyr Arg Arg Cys Arg Ala Ser Gly Val
 2690      2695      2700

Leu Thr Thr Ser Cys Gly Asn Thr Leu Thr Cys Tyr Leu Lys Ala
 2705      2710      2715

Ser Ala Ala Cys Arg Ala Ala Lys Leu Gln Asp Cys Thr Met Leu
 2720      2725      2730

```

SequenceListing[1].TXT

```

Val Asn Gly Asp Asp Leu Val Val Ile Cys Glu Ser Ala Gly Thr
 2735 2740 2745

Gln Glu Asp Ala Ala Ser Leu Arg Val Phe Thr Glu Ala Met Thr
 2750 2755 2760

Arg Tyr Ser Ala Pro Pro Gly Asp Pro Pro Gln Pro Glu Tyr Asp
 2765 2770 2775

Leu Glu Leu Ile Thr Ser Cys Ser Ser Asn Val Ser Val Ala His
 2780 2785 2790

Asp Ala Ser Gly Lys Arg Val Tyr Tyr Leu Thr Arg Asp Pro Thr
 2795 2800 2805

Thr Pro Leu Ala Arg Ala Ala Trp Glu Thr Ala Arg His Thr Pro
 2810 2815 2820

 1 Asn Ser Trp Leu Gly Asn Ile Ile Met Tyr Ala Pro Thr Leu
 2825 2830 2835

Trp Ala Arg Met Ile Leu Met Thr His Phe Phe Ser Ile Leu Leu
 2840 2845 2850

Ala Gln Glu Gln Leu Glu Lys Ala Leu Asp Cys Gln Ile Tyr Gly
 2855 2860 2865

Ala Cys Tyr Ser Ile Glu Pro Leu Asp Leu Pro Gln Ile Ile Glu
 2870 2875 2880

Arg Leu His Gly Leu Ser Ala Phe Ser Leu His Ser Tyr Ser Pro
 2885 2890 2895

Gly Glu Ile Asn Arg Val Ala Ser Cys Leu Arg Lys Leu Gly Val
 2900 2905 2910

Pro Pro Leu Arg Val Trp Arg His Arg Ala Arg Ser Val Arg Ala
 2915 2920 2925

Arg Leu Leu Ser Gln Gly Gly Arg Ala Ala Thr Cys Gly Lys Tyr
 2930 2935 2940

Leu Phe Asn Trp Ala Val Lys Thr Lys Leu Lys Leu Thr Pro Ile
 2945 2950 2955

Pro Ala Ala Ser Gln Leu Asp Leu Ser Gly Trp Phe Val Ala Gly
 2960 2965 2970

Tyr Ser Gly Gly Asp Ile Tyr His Ser Leu Ser Arg Ala Arg Pro
 2975 2980 2985

Arg Trp Phe Met Leu Cys Leu Leu Leu Leu Ser Val Gly Val Gly
 2990 2995 3000

Ile Tyr Leu Leu Pro Asn Arg

```

SequenceListing[1].TXT

3005

3010

<210> 6
<211> 3033
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> GenBank BAB32872 HCV 2a (JFH-1)

<400> 6

Met Ser Thr Asn Pro Lys Pro Gln Arg Lys Thr Lys Arg Asn Thr Asn
1 5 10 15

Arg Arg Pro Glu Asp Val Lys Phe Pro Gly Gly Gly Gln Ile Val Gly
20 25 30

Gly Val Tyr Leu Leu Pro Arg Arg Gly Pro Arg Leu Gly Val Arg Thr
35 40 45

Thr Arg Lys Thr Ser Glu Arg Ser Gln Pro Arg Gly Arg Arg Gln Pro
50 55 60

Ile Pro Lys Asp Arg Arg Ser Thr Gly Lys Ala Trp Gly Lys Pro Gly
65 70 75 80

Arg Pro Trp Pro Leu Tyr Gly Asn Glu Gly Leu Gly Trp Ala Gly Trp
85 90 95

Leu Leu Ser Pro Arg Gly Ser Arg Pro Ser Trp Gly Pro Thr Asp Pro
100 105 110

Arg His Arg Ser Arg Asn Val Gly Lys Val Ile Asp Thr Leu Thr Cys
115 120 125

Gly Phe Ala Asp Leu Met Gly Tyr Ile Pro Val Val Gly Ala Pro Leu
130 135 140

r Gly Ala Ala Arg Ala Val Ala His Gly Val Arg Val Leu Glu Asp
145 150 155 160

Gly Val Asn Tyr Ala Thr Gly Asn Leu Pro Gly Phe Pro Phe Ser Ile
165 170 175

Phe Leu Leu Ala Leu Leu Ser Cys Ile Thr Val Pro Val Ser Ala Ala
180 185 190

Gln Val Lys Asn Thr Ser Ser Ser Tyr Met Val Thr Asn Asp Cys Ser
195 200 205

Asn Asp Ser Ile Thr Trp Gln Leu Glu Ala Ala Val Leu His Val Pro
210 215 220

Gly Cys Val Pro Cys Glu Arg Val Gly Asn Thr Ser Arg Cys Trp Val
225 230 235 240

Pro Val Ser Pro Asn Met Ala Val Arg Gln Pro Gly Ala Leu Thr Gln
245 250 255

SequenceListing[1].TXT

Gly Leu Arg Thr His Ile Asp Met Val Val Met Ser Ala Thr Phe Cys
 260 265 270
 Ser Ala Leu Tyr Val Gly Asp Leu Cys Gly Gly Val Met Leu Ala Ala
 275 280 285
 Gln Val Phe Ile Val Ser Pro Gln Tyr His Trp Phe Val Gln Glu Cys
 290 295 300
 Asn Cys Ser Ile Tyr Pro Gly Thr Ile Thr Gly His Arg Met Ala Trp
 305 310 315 320
 Asp Met Met Met Asn Trp Ser Pro Thr Ala Thr Met Ile Leu Ala Tyr
 325 330 335
 Val Met Arg Val Pro Glu Val Ile Ile Asp Ile Val Ser Gly Ala His
 340 345 350
 p Gly Val Met Phe Gly Leu Ala Tyr Phe Ser Met Gln Gly Ala Trp
 355 360 365
 Ala Lys Val Ile Val Ile Leu Leu Leu Ala Ala Gly Val Asp Ala Gly
 370 375 380
 Thr Thr Thr Val Gly Gly Ala Val Ala Arg Ser Thr Asn Val Ile Ala
 385 390 395 400
 Gly Val Phe Ser His Gly Pro Gln Gln Asn Ile Gln Leu Ile Asn Thr
 405 410 415
 Asn Gly Ser Trp His Ile Asn Arg Thr Ala Leu Asn Cys Asn Asp Ser
 420 425 430
 Leu Asn Thr Gly Phe Leu Ala Ala Leu Phe Tyr Thr Asn Arg Phe Asn
 435 440 445
 Ser Ser Gly Cys Pro Gly Arg Leu Ser Ala Cys Arg Asn Ile Glu Ala
 450 455 460
 Phe Arg Ile Gly Trp Gly Thr Leu Gln Tyr Glu Asp Asn Val Thr Asn
 465 470 475 480
 Pro Glu Asp Met Arg Pro Tyr Cys Trp His Tyr Pro Pro Lys Pro Cys
 485 490 495
 Gly Val Val Pro Ala Arg Ser Val Cys Gly Pro Val Tyr Cys Phe Thr
 500 505 510
 Pro Ser Pro Val Val Val Gly Thr Thr Asp Arg Arg Gly Val Pro Thr
 515 520 525
 Tyr Thr Trp Gly Glu Asn Glu Thr Asp Val Phe Leu Leu Asn Ser Thr
 530 535 540
 Arg Pro Pro Gln Gly Ser Trp Phe Gly Cys Thr Trp Met Asn Ser Thr
 Page 24

SequenceListing[1].TXT

545		550		555		560
Gly	Phe	Thr	Lys	Thr 565	Cys	Gly
						Ala
						575
						Asp
Phe	Asn	Ala	Ser 580	Thr	Asp	Leu
						Leu
						Cys
						585
						Pro
						Thr
						Asp
						Cys
						590
						Phe
						Arg
						Lys
His	Pro	Asp 595	Ala	Thr	Tyr	Ile
						Lys
						600
						Cys
						Gly
						Ser
						Gly
						605
						Pro
						Trp
						Leu
						Thr
Pro	Lys 610	Cys	Leu	Val	His	Tyr
						615
						Pro
						Tyr
						Arg
						Leu
						Trp
						620
						His
						Tyr
						Pro
						Cys
Thr	Val	Asn	Phe	Thr	Ile	Phe
625						630
						Lys
						Ile
						Arg
						Met
						635
						Tyr
						Val
						Gly
						Gly
						640
						Val
Glu	His	Arg	Leu	Thr 645	Ala	Ala
						Cys
						Asn
						Phe
						650
						Thr
						Arg
						Gly
						Asp
						655
						Arg
						Cys
Asp	Leu	Glu	Asp 660	Arg	Asp	Arg
						Ser
						Gln
						665
						Leu
						Ser
						Pro
						Leu
						Leu
						670
						His
						Ser
Thr	Thr	Glu 675	Trp	Ala	Ile	Leu
						680
						Cys
						Thr
						Tyr
						Ser
						685
						Asp
						Leu
						Pro
						Ala
Leu	Ser 690	Thr	Gly	Leu	Leu	His
						695
						Leu
						His
						Gln
						Asn
						Ile
						700
						Val
						Asp
						Val
						Gln
Tyr	Met	Tyr	Gly	Leu	Ser 710	Pro
705						Ala
						Ile
						Thr
						Lys
						715
						Tyr
						Val
						Val
						Arg
						Trp
						720
Glu	Trp	Val	Val	Leu 725	Leu	Phe
						Leu
						Leu
						Leu
						730
						Ala
						Asp
						Ala
						Arg
						Val
						735
						Cys
Ala	Cys	Leu	Trp 740	Met	Leu	Ile
						Leu
						Leu
						745
						Gly
						Gln
						Ala
						Glu
						750
						Ala
						Ala
						Leu
Glu	Lys	Leu 755	Val	Val	Leu	His
						760
						Ala
						Ala
						Ser
						Ala
						Ala
						Asn
						765
						Cys
						His
						Gly
Leu	Leu 770	Tyr	Phe	Ala	Ile	Phe
						775
						Phe
						Val
						Ala
						Ala
						Trp
						780
						His
						Ile
						Arg
						Gly
Arg	Val	Val	Pro	Leu 790	Thr	Thr
785						795
						Cys
						Leu
						Thr
						Gly
						Leu
						Trp
						Pro
						Phe
						800
Cys	Leu	Leu	Leu	Met 805	Ala	Leu
						Pro
						Arg
						Gln
						810
						Ala
						Tyr
						Ala
						Tyr
						Asp
						815
						Ala
Pro	Val	His	Gly 820	Gln	Ile	Gly
						Val
						Gly
						825
						Leu
						Leu
						Ile
						Leu
						830
						Ile
						Thr
						Leu
Phe	Thr	Leu 835	Thr	Pro	Gly	Tyr
						Lys
						840
						Thr
						Leu
						Leu
						Gly
						Gln
						845
						Cys
						Leu
						Trp

SequenceListing[1].TXT

Trp Leu Cys Tyr Leu Leu Thr Leu Gly Glu Ala Met Ile Gln Glu Trp
 850 855 860
 Val Pro Pro Met Gln Val Arg Gly Gly Arg Asp Gly Ile Ala Trp Ala
 865 870 875 880
 Val Thr Ile Phe Cys Pro Gly Val Val Phe Asp Ile Thr Lys Trp Leu
 885 890 895
 Leu Ala Leu Leu Gly Pro Ala Tyr Leu Leu Arg Ala Ala Leu Thr His
 900 905 910
 Val Pro Tyr Phe Val Arg Ala His Ala Leu Ile Arg Val Cys Ala Leu
 915 920 925
 Val Lys Gln Leu Ala Gly Gly Arg Tyr Val Gln Val Ala Leu Leu Ala
 930 935 940
 Leu Gly Arg Trp Thr Gly Thr Tyr Ile Tyr Asp His Leu Thr Pro Met
 945 950 955 960
 Ser Asp Trp Ala Ala Ser Gly Leu Arg Asp Leu Ala Val Ala Val Glu
 965 970 975
 Pro Ile Ile Phe Ser Pro Met Glu Lys Lys Val Ile Val Trp Gly Ala
 980 985 990
 Glu Thr Ala Ala Cys Gly Asp Ile Leu His Gly Leu Pro Val Ser Ala
 995 1000 1005
 Arg Leu Gly Gln Glu Ile Leu Leu Gly Pro Ala Asp Gly Tyr Thr
 1010 1015 1020
 Ser Lys Gly Trp Lys Leu Leu Ala Pro Ile Thr Ala Tyr Ala Gln
 1025 1030 1035
 Gln Thr Arg Gly Leu Leu Gly Ala Ile Val Val Ser Met Thr Gly
 1040 1045 1050
 Arg Asp Arg Thr Glu Gln Ala Gly Glu Val Gln Ile Leu Ser Thr
 1055 1060 1065
 Val Ser Gln Ser Phe Leu Gly Thr Thr Ile Ser Gly Val Leu Trp
 1070 1075 1080
 Thr Val Tyr His Gly Ala Gly Asn Lys Thr Leu Ala Gly Leu Arg
 1085 1090 1095
 Gly Pro Val Thr Gln Met Tyr Ser Ser Ala Glu Gly Asp Leu Val
 1100 1105 1110
 Gly Trp Pro Ser Pro Pro Gly Thr Lys Ser Leu Glu Pro Cys Lys
 1115 1120 1125
 Cys Gly Ala Val Asp Leu Tyr Leu Val Thr Arg Asn Ala Asp Val
 1130 1135 1140

SequenceListing[1].TXT

Ile Pro Ala Arg Arg Arg Gly Asp Lys Arg Gly Ala Leu Leu Ser
1145 1150 1155

Pro Arg Pro Ile Ser Thr Leu Lys Gly Ser Ser Gly Gly Pro Val
1160 1165 1170

Leu Cys Pro Arg Gly His Val Val Gly Leu Phe Arg Ala Ala Val
1175 1180 1185

Cys Ser Arg Gly Val Ala Lys Ser Ile Asp Phe Ile Pro Val Glu
1190 1195 1200

Thr Leu Asp Val Val Thr Arg Ser Pro Thr Phe Ser Asp Asn Ser
1205 1210 1215

Thr Pro Pro Ala Val Pro Gln Thr Tyr Gln Val Gly Tyr Leu His
1220 1225 1230

Ala Pro Thr Gly Ser Gly Lys Ser Thr Lys Val Pro Val Ala Tyr
1235 1240 1245

Ala Ala Gln Gly Tyr Lys Val Leu Val Leu Asn Pro Ser Val Ala
1250 1255 1260

Ala Thr Leu Gly Phe Gly Ala Tyr Leu Ser Lys Ala His Gly Ile
1265 1270 1275

Asn Pro Asn Ile Arg Thr Gly Val Arg Thr Val Met Thr Gly Glu
1280 1285 1290

Ala Ile Thr Tyr Ser Thr Tyr Gly Lys Phe Leu Ala Asp Gly Gly
1295 1300 1305

Cys Ala Ser Gly Ala Tyr Asp Ile Ile Ile Cys Asp Glu Cys His
1310 1315 1320

a Val Asp Ala Thr Ser Ile Leu Gly Ile Gly Thr Val Leu Asp
1325 1330 1335

Gln Ala Glu Thr Ala Gly Val Arg Leu Thr Val Leu Ala Thr Ala
1340 1345 1350

Thr Pro Pro Gly Ser Val Thr Thr Pro His Pro Asp Ile Glu Glu
1355 1360 1365

Val Gly Leu Gly Arg Glu Gly Glu Ile Pro Phe Tyr Gly Arg Ala
1370 1375 1380

Ile Pro Leu Ser Cys Ile Lys Gly Gly Arg His Leu Ile Phe Cys
1385 1390 1395

His Ser Lys Lys Lys Cys Asp Glu Leu Ala Ala Ala Leu Arg Gly
1400 1405 1410

Met Gly Leu Asn Ala Val Ala Tyr Tyr Arg Gly Leu Asp Val Ser
1415 1420 1425

SequenceListing[1].TXT

Ile	Ile	Pro	Ala	Gln	Gly	Asp	Val	Val	Val	Val	Ala	Thr	Asp	Ala
	1430					1435					1440			
Leu	Met	Thr	Gly	Tyr	Thr	Gly	Asp	Phe	Asp	Ser	Val	Ile	Asp	Cys
	1445					1450					1455			
Asn	Val	Ala	Val	Thr	Gln	Ala	Val	Asp	Phe	Ser	Leu	Asp	Pro	Thr
	1460					1465					1470			
Phe	Thr	Ile	Thr	Thr	Gln	Thr	Val	Pro	Gln	Asp	Ala	Val	Ser	Arg
	1475					1480					1485			
Ser	Gln	Arg	Arg	Gly	Arg	Thr	Gly	Arg	Gly	Arg	Gln	Gly	Thr	Tyr
	1490					1495					1500			
Arg	Tyr	Val	Ser	Thr	Gly	Glu	Arg	Ala	Ser	Gly	Met	Phe	Asp	Ser
	1505					1510					1515			
	1	Val	Leu	Cys	Glu	Cys	Tyr	Asp	Ala	Gly	Ala	Ala	Trp	Tyr
		1520					1525					1530		Asp
Leu	Thr	Pro	Ala	Glu	Thr	Thr	Val	Arg	Leu	Arg	Ala	Tyr	Phe	Asn
	1535					1540					1545			
Thr	Pro	Gly	Leu	Pro	Val	Cys	Gln	Asp	His	Leu	Glu	Phe	Trp	Glu
	1550					1555					1560			
Ala	Val	Phe	Thr	Gly	Leu	Thr	His	Ile	Asp	Ala	His	Phe	Leu	Ser
	1565					1570					1575			
Gln	Thr	Lys	Gln	Ala	Gly	Glu	Asn	Phe	Ala	Tyr	Leu	Val	Ala	Tyr
	1580					1585					1590			
Gln	Ala	Thr	Val	Cys	Ala	Arg	Ala	Lys	Ala	Pro	Pro	Pro	Ser	Trp
	1595					1600					1605			
Asp	Ala	Met	Trp	Lys	Cys	Leu	Ala	Arg	Leu	Lys	Pro	Thr	Leu	Ala
	1610					1615					1620			
Gly	Pro	Thr	Pro	Leu	Leu	Tyr	Arg	Leu	Gly	Pro	Ile	Thr	Asn	Glu
	1625					1630					1635			
Val	Thr	Leu	Thr	His	Pro	Gly	Thr	Lys	Tyr	Ile	Ala	Thr	Cys	Met
	1640					1645					1650			
Gln	Ala	Asp	Leu	Glu	Val	Met	Thr	Ser	Thr	Trp	Val	Leu	Ala	Gly
	1655					1660					1665			
Gly	Val	Leu	Ala	Ala	Val	Ala	Ala	Tyr	Cys	Leu	Ala	Thr	Gly	Cys
	1670					1675					1680			
Val	Ser	Ile	Ile	Gly	Arg	Leu	His	Val	Asn	Gln	Arg	Val	Val	Val
	1685					1690					1695			
Ala	Pro	Asp	Lys	Glu	Val	Leu	Tyr	Glu	Ala	Phe	Asp	Glu	Met	Glu

```

SequenceListing[1].TXT
1700          1705          1710
Glu Cys  Ala Ser Arg Ala Ala  Leu Ile Glu Glu Gly  Gln Arg Ile
1715          1720          1725
Ala Glu  Met Leu Lys Ser Lys  Ile Gln Gly Leu Leu  Gln Gln Ala
1730          1735          1740
Ser Lys  Gln Ala Gln Asp Ile  Gln Pro Ala Met Gln  Ala Ser Trp
1745          1750          1755
Pro Lys  Val Glu Gln Phe Trp  Ala Arg His Met Trp  Asn Phe Ile
1760          1765          1770
Ser Gly  Ile Gln Tyr Leu Ala  Gly Leu Ser Thr Leu  Pro Gly Asn
1775          1780          1785
Pro Ala  Val Ala Ser Met Met  Ala Phe Ser Ala Ala  Leu Thr Ser
1790          1795          1800
Pro Leu  Ser Thr Ser Thr Thr  Ile Leu Leu Asn Ile  Met Gly Gly
1805          1810          1815
Trp Leu  Ala Ser Gln Ile Ala  Pro Pro Ala Gly Ala  Thr Gly Phe
1820          1825          1830
Val Val  Ser Gly Leu Val Gly  Ala Ala Val Gly Ser  Ile Gly Leu
1835          1840          1845
Gly Lys  Val Leu Val Asp Ile  Leu Ala Gly Tyr Gly  Ala Gly Ile
1850          1855          1860
Ser Gly  Ala Leu Val Ala Phe  Lys Ile Met Ser Gly  Glu Lys Pro
1865          1870          1875
Ser Met  Glu Asp Val Ile Asn  Leu Leu Pro Gly Ile  Leu Ser Pro
1880          1885          1890
Gly Ala  Leu Val Val Gly Val  Ile Cys Ala Ala Ile  Leu Arg Arg
1895          1900          1905
His Val  Gly Pro Gly Glu Gly  Ala Val Gln Trp Met  Asn Arg Leu
1910          1915          1920
Ile Ala  Phe Ala Ser Arg Gly  Asn His Val Ala Pro  Thr His Tyr
1925          1930          1935
Val Thr  Glu Ser Asp Ala Ser  Gln Arg Val Thr Gln  Leu Leu Gly
1940          1945          1950
Ser Leu  Thr Ile Thr Ser Leu  Leu Arg Arg Leu His  Asn Trp Ile
1955          1960          1965
Thr Glu  Asp Cys Pro Ile Pro  Cys Ser Gly Ser Trp  Leu Arg Asp
1970          1975          1980

```

SequenceListing[1].TXT

Val	Trp	Asp	Trp	Val	Cys	Thr	Ile	Leu	Thr	Asp	Phe	Lys	Asn	Trp
1985						1990						1995		
Leu	Thr	Ser	Lys	Leu	Phe	Pro	Lys	Leu	Pro	Gly	Leu	Pro	Phe	Ile
2000						2005					2010			
Ser	Cys	Gln	Lys	Gly	Tyr	Lys	Gly	Val	Trp	Ala	Gly	Thr	Gly	Ile
2015						2020					2025			
Met	Thr	Thr	Arg	Cys	Pro	Cys	Gly	Ala	Asn	Ile	Ser	Gly	Asn	Val
2030						2035					2040			
Arg	Leu	Gly	Ser	Met	Arg	Ile	Thr	Gly	Pro	Lys	Thr	Cys	Met	Asn
2045						2050					2055			
Thr	Trp	Gln	Gly	Thr	Phe	Pro	Ile	Asn	Cys	Tyr	Thr	Glu	Gly	Gln
2060						2065					2070			
Cys	Ala	Pro	Lys	Pro	Pro	Thr	Asn	Tyr	Lys	Thr	Ala	Ile	Trp	Arg
2075						2080					2085			
Val	Ala	Ala	Ser	Glu	Tyr	Ala	Glu	Val	Thr	Gln	His	Gly	Ser	Tyr
2090						2095					2100			
Ser	Tyr	Val	Thr	Gly	Leu	Thr	Thr	Asp	Asn	Leu	Lys	Ile	Pro	Cys
2105						2110					2115			
Gln	Leu	Pro	Ser	Pro	Glu	Phe	Phe	Ser	Trp	Val	Asp	Gly	Val	Gln
2120						2125					2130			
Ile	His	Arg	Phe	Ala	Pro	Thr	Pro	Lys	Pro	Phe	Phe	Arg	Asp	Glu
2135						2140					2145			
Val	Ser	Phe	Cys	Val	Gly	Leu	Asn	Ser	Tyr	Ala	Val	Gly	Ser	Gln
2150						2155					2160			
Leu	Pro	Cys	Glu	Pro	Glu	Pro	Asp	Ala	Asp	Val	Leu	Arg	Ser	Met
2165						2170					2175			
Leu	Thr	Asp	Pro	Pro	His	Ile	Thr	Ala	Glu	Thr	Ala	Ala	Arg	Arg
2180						2185					2190			
Leu	Ala	Arg	Gly	Ser	Pro	Pro	Ser	Glu	Ala	Ser	Ser	Ser	Val	Ser
2195						2200					2205			
Gln	Leu	Ser	Ala	Pro	Ser	Leu	Arg	Ala	Thr	Cys	Thr	Thr	His	Ser
2210						2215					2220			
Asn	Thr	Tyr	Asp	Val	Asp	Met	Val	Asp	Ala	Asn	Leu	Leu	Met	Glu
2225						2230					2235			
Gly	Gly	Val	Ala	Gln	Thr	Glu	Pro	Glu	Ser	Arg	Val	Pro	Val	Leu
2240						2245					2250			
Asp	Phe	Leu	Glu	Pro	Met	Ala	Glu	Glu	Glu	Ser	Asp	Leu	Glu	Pro
2255						2260					2265			

SequenceListing[1].TXT

Ser Ile Pro Ser Glu Cys Met Leu Pro Arg Ser Gly Phe Pro Arg
 2270 2275 2280
 Ala Leu Pro Ala Trp Ala Arg Pro Asp Tyr Asn Pro Pro Leu Val
 2285 2290 2295
 Glu Ser Trp Arg Arg Pro Asp Tyr Gln Pro Pro Thr Val Ala Gly
 2300 2305 2310
 Cys Ala Leu Pro Pro Pro Lys Lys Ala Pro Thr Pro Pro Pro Arg
 2315 2320 2325
 Arg Arg Arg Thr Val Gly Leu Ser Glu Ser Thr Ile Ser Glu Ala
 2330 2335 2340
 Leu Gln Gln Leu Ala Ile Lys Thr Phe Gly Gln Pro Pro Ser Ser
 2345 2350 2355
 Gly Asp Ala Gly Ser Ser Thr Gly Ala Gly Ala Ala Glu Ser Gly
 2360 2365 2370
 Gly Pro Thr Ser Pro Gly Glu Pro Ala Pro Ser Glu Thr Gly Ser
 2375 2380 2385
 Ala Ser Ser Met Pro Pro Leu Glu Gly Glu Pro Gly Asp Pro Asp
 2390 2395 2400
 Leu Glu Ser Asp Gln Val Glu Leu Gln Pro Pro Pro Gln Gly Gly
 2405 2410 2415
 Gly Val Ala Pro Gly Ser Gly Ser Gly Ser Trp Ser Thr Cys Ser
 2420 2425 2430
 Glu Glu Asp Asp Thr Thr Val Cys Cys Ser Met Ser Tyr Ser Trp
 2435 2440 2445
 r Gly Ala Leu Ile Thr Pro Cys Ser Pro Glu Glu Glu Lys Leu
 2450 2455 2460
 Pro Ile Asn Pro Leu Ser Asn Ser Leu Leu Arg Tyr His Asn Lys
 2465 2470 2475
 Val Tyr Cys Thr Thr Ser Lys Ser Ala Ser Gln Arg Ala Lys Lys
 2480 2485 2490
 Val Thr Phe Asp Arg Thr Gln Val Leu Asp Ala His Tyr Asp Ser
 2495 2500 2505
 Val Leu Lys Asp Ile Lys Leu Ala Ala Ser Lys Val Ser Ala Arg
 2510 2515 2520
 Leu Leu Thr Leu Glu Glu Ala Cys Gln Leu Thr Pro Pro His Ser
 2525 2530 2535
 Ala Arg Ser Lys Tyr Gly Phe Gly Ala Lys Glu Val Arg Ser Leu
 2540 2545 2550

SequenceListing[1].TXT

Ser Gly Arg Ala Val Asn His Ile Lys Ser Val Trp Lys Asp Leu
 2555 2560 2565
 Leu Glu Asp Pro Gln Thr Pro Ile Pro Thr Thr Ile Met Ala Lys
 2570 2575 2580
 Asn Glu Val Phe Cys Val Asp Pro Ala Lys Gly Gly Lys Lys Pro
 2585 2590 2595
 Ala Arg Leu Ile Val Tyr Pro Asp Leu Gly Val Arg Val Cys Glu
 2600 2605 2610
 Lys Met Ala Leu Tyr Asp Ile Thr Gln Lys Leu Pro Gln Ala Val
 2615 2620 2625
 Met Gly Ala Ser Tyr Gly Phe Gln Tyr Ser Pro Ala Gln Arg Val
 2630 2635 2640
 u Tyr Leu Leu Lys Ala Trp Ala Glu Lys Lys Asp Pro Met Gly
 2645 2650 2655
 Phe Ser Tyr Asp Thr Arg Cys Phe Asp Ser Thr Val Thr Glu Arg
 2660 2665 2670
 Asp Ile Arg Thr Glu Glu Ser Ile Tyr Gln Ala Cys Ser Leu Pro
 2675 2680 2685
 Glu Glu Ala Arg Thr Ala Ile His Ser Leu Thr Glu Arg Leu Tyr
 2690 2695 2700
 Val Gly Gly Pro Met Phe Asn Ser Lys Gly Gln Thr Cys Gly Tyr
 2705 2710 2715
 Arg Arg Cys Arg Ala Ser Gly Val Leu Thr Thr Ser Met Gly Asn
 2720 2725 2730
 inr Ile Thr Cys Tyr Val Lys Ala Leu Ala Ala Cys Lys Ala Ala
 2735 2740 2745
 Gly Ile Val Ala Pro Thr Met Leu Val Cys Gly Asp Asp Leu Val
 2750 2755 2760
 Val Ile Ser Glu Ser Gln Gly Thr Glu Glu Asp Glu Arg Asn Leu
 2765 2770 2775
 Arg Ala Phe Thr Glu Ala Met Thr Arg Tyr Ser Ala Pro Pro Gly
 2780 2785 2790
 Asp Pro Pro Arg Pro Glu Tyr Asp Leu Glu Leu Ile Thr Ser Cys
 2795 2800 2805
 Ser Ser Asn Val Ser Val Ala Leu Gly Pro Arg Gly Arg Arg Arg
 2810 2815 2820
 Tyr Tyr Leu Thr Arg Asp Pro Thr Thr Pro Leu Ala Arg Ala Ala
 Page 32

SequenceListing[1].TXT

```

2825                               2830      2835
Trp Glu Thr Val Arg His Ser Pro Ile Asn Ser Trp Leu Gly Asn
2840                               2845      2850

Ile Ile Gln Tyr Ala Pro Thr Ile Trp Val Arg Met Val Leu Met
2855                               2860      2865

Thr His Phe Phe Ser Ile Leu Met Val Gln Asp Thr Leu Asp Gln
2870                               2875      2880

Asn Leu Asn Phe Glu Met Tyr Gly Ser Val Tyr Ser Val Asn Pro
2885                               2890      2895

Leu Asp Leu Pro Ala Ile Ile Glu Arg Leu His Gly Leu Asp Ala
2900                               2905      2910

Phe Ser Met His Thr Tyr Ser His His Glu Leu Thr Arg Val Ala
2915                               2920      2925

Ser Ala Leu Arg Lys Leu Gly Ala Pro Pro Leu Arg Val Trp Lys
2930                               2935      2940

Ser Arg Ala Arg Ala Val Arg Ala Ser Leu Ile Ser Arg Gly Gly
2945                               2950      2955

Lys Ala Ala Val Cys Gly Arg Tyr Leu Phe Asn Trp Ala Val Lys
2960                               2965      2970

Thr Lys Leu Lys Leu Thr Pro Leu Pro Glu Ala Arg Leu Leu Asp
2975                               2980      2985

Leu Ser Ser Trp Phe Thr Val Gly Ala Gly Gly Gly Asp Ile Phe
2990                               2995      3000

His Ser Val Ser Arg Ala Arg Pro Arg Ser Leu Leu Phe Gly Leu
3005                               3010      3015

Leu Leu Leu Phe Val Gly Val Gly Leu Phe Leu Leu Pro Ala Arg
3020                               3025      3030

<210> 7
<211> 3033
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> GenBank BAB08107 HCV 2b (JPUT971017)

<400> 7
Met Ser Thr Asn Pro Lys Pro Gln Arg Lys Thr Lys Arg Asn Thr Asn
1                               5                               10                               15

Arg Arg Pro Gln Asp Val Lys Phe Pro Gly Gly Gly Gln Ile Val Gly
20                               25                               30

Gly Val Tyr Leu Leu Pro Arg Arg Gly Pro Arg Leu Gly Val Arg Ala
35                               40                               45

```

SequenceListing[1].TXT

Thr Arg Lys Thr Ser Glu Arg Ser Gln Pro Arg Gly Arg Arg Gln Pro
 50 55 60
 Ile Pro Lys Asp Arg Arg Ser Thr Gly Lys Ser Trp Gly Lys Pro Gly
 65 70 75 80
 Tyr Pro Trp Pro Leu Tyr Gly Asn Glu Gly Cys Gly Trp Ala Gly Trp
 85 90 95
 Leu Leu Ser Pro Arg Gly Ser Arg Pro Thr Trp Gly Pro Ser Asp Pro
 100 105 110
 Arg His Arg Ser Arg Asn Leu Gly Arg Val Ile Asp Thr Ile Thr Cys
 115 120 125
 Gly Phe Ala Asp Leu Met Gly Tyr Ile Pro Val Val Gly Ala Pro Val
 130 135 140
 y Gly Val Ala Arg Ala Leu Ala His Gly Val Arg Val Leu Glu Asp
 145 150 155 160
 Gly Ile Asn Tyr Ala Thr Arg Asn Leu Pro Gly Cys Ser Phe Ser Ile
 165 170 175
 Phe Leu Leu Ala Leu Leu Ser Cys Val Thr Val Pro Val Ser Ser Val
 180 185 190
 Glu Ile Arg Asn Ile Ser Thr Ser Tyr Tyr Ala Thr Asn Asp Cys Ser
 195 200 205
 Asn Asn Ser Ile Thr Trp Gln Leu Thr Asn Ala Val Leu His Leu Pro
 210 215 220
 Gly Cys Val Pro Cys Glu Asn Asp Asn Gly Thr Leu Arg Cys Trp Ile
 225 230 235 240
 Gln Val Thr Pro Asn Val Ala Val Lys His Arg Gly Ala Leu Thr His
 245 250 255
 Asn Leu Arg Ala His Val Asp Val Ile Val Met Ala Ala Thr Val Cys
 260 265 270
 Ser Ala Leu Tyr Val Gly Asp Val Cys Gly Ala Val Met Ile Val Ser
 275 280 285
 Gln Ala Leu Ile Val Ser Pro Glu Arg His Asn Phe Thr Gln Glu Cys
 290 295 300
 Asn Cys Ser Ile Tyr Gln Gly His Ile Thr Gly Gln Arg Met Ala Trp
 305 310 315 320
 Asp Met Met Leu Asn Trp Ser Pro Thr Leu Thr Met Ile Leu Ala Tyr
 325 330 335
 Ala Ala Arg Val Pro Glu Leu Val Leu Glu Ile Val Phe Gly Gly His
 Page 34

SequenceListing[1].TXT

```

340                                     345                                     350
Trp Gly Val Val Phe Gly Leu Ala Tyr Phe Ser Met Gln Gly Ala Trp
    355                                     360                                     365
Ala Lys Val Ile Ala Ile Leu Leu Val Ala Gly Val Asp Ala Thr
    370                                     375                                     380
Thr Tyr Ser Thr Gly Ala Thr Val Gly Arg Thr Val Gly Ser Phe Ala
385                                     390                                     395                                     400
Gly Leu Phe Lys Leu Gly Ala Gln Gln Asn Val Gln Leu Ile Asn Thr
    405                                     410                                     415
Asn Gly Ser Trp His Ile Asn Arg Thr Ala Leu Asn Cys Asn Asp Ser
    420                                     425                                     430
Leu His Thr Gly Phe Met Ala Ala Leu Phe Tyr Ala Asn Lys Phe Asn
    435                                     440                                     445
Ser Ser Gly Cys Pro Glu Arg Leu Ser Ser Cys Arg Gly Leu Asp Asp
450                                     455                                     460
Phe Arg Ile Gly Trp Gly Thr Leu Glu Tyr Glu Thr Asn Val Thr Asn
465                                     470                                     475                                     480
Val Glu Asp Met Arg Pro Tyr Cys Trp His Tyr Pro Pro Lys Pro Cys
    485                                     490                                     495
Gly Ile Val Pro Ala Gln Ser Val Cys Gly Pro Val Tyr Cys Phe Thr
    500                                     505                                     510
Pro Ser Pro Val Val Val Gly Thr Thr Asp Arg Gln Gly Val Pro Thr
    515                                     520                                     525
Tyr Asn Trp Gly Asp Asn Glu Thr Asp Val Phe Leu Leu Asn Ser Thr
    530                                     535                                     540
Arg Pro Pro Arg Gly Ala Trp Phe Gly Cys Thr Trp Met Asn Gly Thr
545                                     550                                     555                                     560
Gly Phe Thr Lys Thr Cys Gly Ala Pro Pro Cys Arg Ile Arg Lys Asp
    565                                     570                                     575
Phe Asn Ser Thr Leu Asp Leu Leu Cys Pro Thr Asp Cys Phe Arg Lys
    580                                     585                                     590
His Pro Asp Ala Thr Tyr Val Lys Cys Gly Ala Gly Pro Trp Leu Thr
    595                                     600                                     605
Pro Arg Cys Leu Ile Asp Tyr Pro Tyr Arg Leu Trp His Tyr Pro Cys
    610                                     615                                     620
Thr Val Asn Phe Thr Ile Phe Lys Val Arg Met Tyr Val Gly Gly Val
625                                     630                                     635                                     640

```


SequenceListing[1].TXT

Glu His Arg Phe Ser Ala Ala Cys Asn Phe Thr Arg Gly Asp Arg Cys
 645 650 655
 Arg Leu Glu Asp Arg Asp Arg Gly Gln Gln Ser Pro Leu Leu His Ser
 660 665 670
 Thr Thr Glu Trp Ala Val Leu Pro Cys Ser Phe Ser Asp Leu Pro Ala
 675 680 685
 Leu Ser Thr Gly Leu Leu His Leu His Gln Asn Ile Val Asp Val Gln
 690 695 700
 Tyr Leu Tyr Gly Leu Ser Pro Ala Val Thr Lys Tyr Ile Val Lys Trp
 705 710 715 720
 Glu Trp Val Val Leu Leu Phe Leu Leu Leu Ala Asp Ala Arg Ile Cys
 725 730 735
 Ala Cys Leu Trp Met Leu Ile Ile Leu Gly Gln Ala Glu Ala Ala Leu
 740 745 750
 Glu Lys Leu Ile Ile Leu His Ser Ala Ser Ala Ala Ser Ala Asn Gly
 755 760 765
 Pro Leu Trp Phe Phe Ile Phe Phe Thr Ala Ala Trp Tyr Leu Lys Gly
 770 775 780
 Arg Val Val Pro Ala Ala Thr Tyr Ser Val Leu Gly Leu Trp Ser Phe
 785 790 795 800
 Leu Leu Leu Val Leu Ala Leu Pro Gln Gln Ala Tyr Ala Leu Asp Ala
 805 810 815
 Ala Glu Gln Gly Glu Leu Gly Leu Val Ile Leu Met Ile Ile Ser Ile
 820 825 830
 Phe Thr Leu Thr Pro Ala Tyr Lys Ile Leu Leu Ser Arg Ser Val Trp
 835 840 845
 Trp Leu Ser Tyr Met Leu Val Leu Ala Glu Ala Gln Val Gln Gln Trp
 850 855 860
 Val Pro Pro Leu Glu Ala Arg Gly Gly Arg Asp Gly Ile Ile Trp Val
 865 870 875 880
 Ala Val Ile Leu His Pro His Leu Val Phe Glu Val Thr Lys Trp Leu
 885 890 895
 Leu Ala Ile Leu Gly Ser Ala Tyr Leu Leu Lys Ala Ser Leu Leu Arg
 900 905 910
 Val Pro Tyr Phe Val Arg Ala His Ala Leu Leu Arg Val Cys Thr Leu
 915 920 925
 Val Arg His Leu Ala Gly Ala Arg Tyr Ile Gln Met Leu Leu Ile Thr
 930 935 940

SequenceListing[1].TXT

Met Gly Arg Trp Thr Gly Thr Tyr Ile Tyr Asp His Leu Ser Pro Leu
 945 950 955 960
 Ser Thr Trp Ala Ala Gln Gly Leu Arg Asp Leu Ala Val Ala Val Glu
 965 970 975
 Pro Val Val Phe Ser Pro Met Glu Lys Lys Val Ile Val Trp Gly Ala
 980 985 990
 Glu Thr Val Ala Cys Gly Asp Ile Leu His Gly Leu Pro Val Ser Ala
 995 1000 1005
 Arg Leu Gly Arg Glu Val Leu Leu Gly Pro Ala Asp Gly Tyr Thr
 1010 1015 1020
 Ser Lys Gly Trp Lys Leu Leu Ala Pro Ile Thr Ala Tyr Thr Gln
 1025 1030 1035
 Gln Thr Arg Gly Leu Leu Gly Ala Ile Val Val Ser Leu Thr Gly
 1040 1045 1050
 Arg Asp Lys Asn Glu Gln Ala Gly Gln Val Gln Val Leu Ser Ser
 1055 1060 1065
 Val Thr Gln Ser Phe Leu Gly Thr Ser Ile Ser Gly Val Leu Trp
 1070 1075 1080
 Thr Val Tyr His Gly Ala Gly Asn Lys Thr Leu Ala Ser Pro Arg
 1085 1090 1095
 Gly Pro Val Thr Gln Met Tyr Thr Ser Ala Glu Gly Asp Leu Val
 1100 1105 1110
 Gly Trp Pro Ser Pro Pro Gly Thr Lys Ser Leu Asp Pro Cys Thr
 1115 1120 1125
 s Gly Ala Val Asp Leu Tyr Leu Val Thr Arg Asn Ala Asp Val
 1130 1135 1140
 Ile Pro Val Arg Arg Lys Asp Asp Arg Arg Gly Ala Leu Leu Ser
 1145 1150 1155
 Pro Arg Pro Leu Ser Thr Leu Lys Gly Ser Ser Gly Gly Pro Val
 1160 1165 1170
 Leu Cys Pro Arg Gly His Ala Val Gly Leu Phe Arg Ala Ala Val
 1175 1180 1185
 Cys Ala Arg Gly Val Ala Lys Ser Ile Asp Phe Ile Pro Val Glu
 1190 1195 1200
 Ser Leu Asp Ile Ala Arg Arg Thr Pro Ser Phe Ser Asp Asn Ser
 1205 1210 1215
 Thr Pro Pro Ala Val Pro Gln Thr Tyr Gln Val Gly Tyr Leu His
 1220 1225 1230

SequenceListing[1].TXT

Ala	Pro	Thr	Gly	Ser	Gly	Lys	Ser	Thr	Lys	Val	Pro	Ala	Ala	Tyr
1235						1240					1245			
Thr	Ser	Gln	Gly	Tyr	Lys	Val	Leu	Val	Leu	Asn	Pro	Ser	Val	Ala
1250						1255					1260			
Ala	Thr	Leu	Gly	Phe	Gly	Ala	Tyr	Met	Ser	Lys	Ala	His	Gly	Ile
1265						1270					1275			
Asn	Pro	Asn	Ile	Arg	Thr	Gly	Val	Arg	Thr	Val	Thr	Thr	Gly	Asp
1280						1285					1290			
Ser	Ile	Thr	Tyr	Ser	Thr	Tyr	Gly	Lys	Phe	Leu	Ala	Asp	Gly	Gly
1295						1300					1305			
Cys	Ser	Ala	Gly	Ala	Tyr	Asp	Ile	Ile	Ile	Cys	Asp	Glu	Cys	His
1310						1315					1320			
r	Val	Asp	Ala	Thr	Thr	Ile	Leu	Gly	Ile	Gly	Thr	Val	Leu	Asp
1325						1330					1335			
Gln	Ala	Glu	Thr	Ala	Gly	Val	Arg	Leu	Val	Val	Leu	Ala	Thr	Ala
1340						1345					1350			
Thr	Pro	Pro	Gly	Thr	Val	Thr	Thr	Pro	His	Ala	Asn	Ile	Glu	Glu
1355						1360					1365			
Val	Ala	Leu	Gly	His	Glu	Gly	Glu	Ile	Pro	Phe	Tyr	Gly	Lys	Ala
1370						1375					1380			
Ile	Pro	Leu	Ala	Ser	Ile	Lys	Gly	Gly	Arg	His	Leu	Ile	Phe	Cys
1385						1390					1395			
His	Ser	Lys	Lys	Lys	Cys	Asp	Glu	Leu	Ala	Ala	Ala	Leu	Arg	Gly
1400						1405					1410			
met	Gly	Val	Asn	Ala	Val	Ala	Tyr	Tyr	Arg	Gly	Leu	Asp	Val	Ser
1415						1420					1425			
Val	Ile	Pro	Thr	Gln	Gly	Asp	Val	Val	Val	Val	Ala	Thr	Asp	Ala
1430						1435					1440			
Leu	Met	Thr	Gly	Tyr	Thr	Gly	Asp	Phe	Asp	Ser	Val	Ile	Asp	Cys
1445						1450					1455			
Asn	Val	Ala	Val	Thr	Gln	Ile	Val	Asp	Phe	Ser	Leu	Asp	Pro	Thr
1460						1465					1470			
Phe	Thr	Ile	Thr	Thr	Gln	Thr	Val	Pro	Gln	Asp	Ala	Val	Ser	Arg
1475						1480					1485			
Ser	Gln	Arg	Arg	Gly	Arg	Thr	Gly	Arg	Gly	Arg	Leu	Gly	Thr	Tyr
1490						1495					1500			
Arg	Tyr	Val	Ser	Ser	Gly	Glu	Arg	Pro	Ser	Gly	Met	Phe	Asp	Ser

SequenceListing[1].TXT

1505		1510		1515										
Val	Val	Leu	Cys	Glu	Cys	Tyr	Asp	Ala	Gly	Ala	Ala	Trp	Tyr	Glu
	1520					1525					1530			
Leu	Thr	Pro	Ala	Glu	Thr	Thr	Val	Arg	Leu	Arg	Ala	Tyr	Phe	Asn
	1535					1540					1545			
Thr	Pro	Gly	Leu	Pro	Val	Cys	Gln	Asp	His	Leu	Glu	Phe	Trp	Glu
	1550					1555					1560			
Ala	Val	Phe	Thr	Gly	Leu	Thr	His	Ile	Asp	Ala	His	Phe	Leu	Ser
	1565					1570					1575			
Gln	Thr	Lys	Gln	Gly	Gly	Asp	Asn	Phe	Ala	Tyr	Leu	Thr	Ala	Tyr
	1580					1585					1590			
Gln	Ala	Thr	Val	Cys	Ala	Arg	Ala	Lys	Ala	Pro	Pro	Pro	Ser	Trp
	1595					1600					1605			
Asp	Val	Met	Trp	Lys	Cys	Leu	Thr	Arg	Leu	Lys	Pro	Thr	Leu	Thr
	1610					1615					1620			
Gly	Pro	Thr	Pro	Leu	Leu	Tyr	Arg	Leu	Gly	Ala	Val	Thr	Asn	Glu
	1625					1630					1635			
Ile	Thr	Leu	Thr	His	Pro	Val	Thr	Lys	Tyr	Ile	Ala	Thr	Cys	Met
	1640					1645					1650			
Gln	Ala	Asp	Leu	Glu	Val	Met	Thr	Ser	Thr	Trp	Val	Leu	Ala	Gly
	1655					1660					1665			
Gly	Val	Leu	Ala	Ala	Val	Ala	Ala	Tyr	Cys	Leu	Ala	Thr	Gly	Cys
	1670					1675					1680			
Ile	Ser	Ile	Ile	Gly	Arg	Ile	His	Leu	Asn	Asp	Gln	Val	Val	Val
	1685					1690					1695			
Ala	Pro	Asp	Lys	Glu	Ile	Leu	Tyr	Glu	Ala	Phe	Asp	Glu	Met	Glu
	1700					1705					1710			
Glu	Cys	Ala	Ser	Lys	Ala	Ala	Leu	Ile	Glu	Glu	Gly	Gln	Arg	Met
	1715					1720					1725			
Ala	Glu	Met	Leu	Lys	Ser	Lys	Ile	Leu	Gly	Leu	Leu	Gln	Gln	Ala
	1730					1735					1740			
Thr	Lys	Gln	Ala	Gln	Asp	Ile	Gln	Pro	Ala	Met	Gln	Ser	Ser	Trp
	1745					1750					1755			
Pro	Lys	Ile	Glu	Gln	Phe	Trp	Ala	Arg	His	Met	Trp	Asn	Phe	Ile
	1760					1765					1770			
Ser	Gly	Ile	Gln	Tyr	Leu	Ala	Gly	Leu	Ser	Thr	Leu	Pro	Gly	Asn
	1775					1780					1785			

SequenceListing[1].TXT

Pro	Ala	Val	Ala	Ser	Met	Met	Ala	Phe	Ser	Ala	Ala	Leu	Thr	Ser
	1790					1795					1800			
Pro	Leu	Pro	Thr	Ser	Thr	Thr	Ile	Leu	Leu	Asn	Ile	Met	Gly	Gly
	1805					1810					1815			
Trp	Leu	Ala	Ser	Gln	Ile	Ala	Pro	Pro	Ala	Gly	Ala	Thr	Gly	Phe
	1820					1825					1830			
Val	Val	Ser	Gly	Leu	Val	Gly	Ala	Ala	Val	Gly	Ser	Ile	Gly	Leu
	1835					1840					1845			
Gly	Lys	Ile	Leu	Val	Asp	Val	Leu	Ala	Gly	Tyr	Gly	Ala	Gly	Ile
	1850					1855					1860			
Ser	Gly	Ala	Leu	Val	Ala	Phe	Lys	Ile	Met	Ser	Gly	Glu	Lys	Pro
	1865					1870					1875			
Ser	Val	Glu	Asp	Val	Val	Asn	Leu	Leu	Pro	Ala	Ile	Leu	Ser	Pro
	1880					1885					1890			
Gly	Ala	Leu	Val	Val	Gly	Val	Ile	Cys	Ala	Ala	Ile	Leu	Arg	Arg
	1895					1900					1905			
His	Val	Gly	Gln	Gly	Glu	Gly	Ala	Val	Gln	Trp	Met	Asn	Arg	Leu
	1910					1915					1920			
Ile	Ala	Phe	Ala	Ser	Arg	Gly	Asn	His	Val	Ala	Pro	Thr	His	Tyr
	1925					1930					1935			
Val	Ala	Glu	Ser	Asp	Ala	Ser	Leu	Arg	Val	Thr	Gln	Val	Leu	Ser
	1940					1945					1950			
Ser	Leu	Thr	Ile	Thr	Ser	Leu	Leu	Arg	Arg	Leu	His	Ala	Trp	Ile
	1955					1960					1965			
Thr	Glu	Asp	Cys	Pro	Val	Pro	Cys	Ser	Gly	Ser	Trp	Leu	Arg	Asp
	1970					1975					1980			
Ile	Trp	Glu	Trp	Val	Cys	Ser	Ile	Leu	Thr	Asp	Phe	Lys	Asn	Trp
	1985					1990					1995			
Leu	Ser	Ala	Lys	Leu	Leu	Pro	Lys	Met	Pro	Gly	Leu	Pro	Phe	Ile
	2000					2005					2010			
Ser	Cys	Gln	Lys	Gly	Tyr	Arg	Gly	Val	Trp	Ala	Gly	Thr	Gly	Val
	2015					2020					2025			
Met	Thr	Thr	Arg	Cys	Ser	Cys	Gly	Ala	Asn	Ile	Ser	Gly	His	Val
	2030					2035					2040			
Arg	Leu	Gly	Thr	Met	Lys	Ile	Thr	Gly	Pro	Lys	Thr	Cys	Leu	Asn
	2045					2050					2055			
Met	Trp	Gln	Gly	Thr	Phe	Pro	Ile	Asn	Cys	Tyr	Thr	Glu	Gly	Pro
	2060					2065					2070			

SequenceListing[1].TXT

Cys Val Pro Lys Pro Pro Pro Asn Tyr Lys Thr Ala Ile Trp Arg
 2075 2080 2085
 Val Ala Ala Ser Glu Tyr Val Glu Val Thr Gln His Gly Ser Phe
 2090 2095 2100
 Ser Tyr Val Thr Gly Leu Thr Ser Asp Asn Leu Lys Val Pro Cys
 2105 2110 2115
 Gln Val Pro Ala Pro Glu Phe Phe Ser Trp Val Asp Gly Val Gln
 2120 2125 2130
 Ile His Arg Phe Ala Pro Thr Pro Gly Pro Phe Phe Arg Asp Glu
 2135 2140 2145
 Val Thr Phe Thr Val Gly Leu Asn Ser Leu Val Val Gly Ser Gln
 2150 2155 2160
 Leu Pro Cys Asp Pro Glu Pro Asp Thr Glu Val Leu Ala Ser Met
 2165 2170 2175
 Leu Thr Asp Pro Ser His Ile Thr Ala Glu Thr Ala Ala Arg Arg
 2180 2185 2190
 Leu Ala Arg Gly Ser Pro Pro Ser Gln Ala Ser Ser Ser Ala Ser
 2195 2200 2205
 Gln Leu Ser Ala Pro Ser Leu Lys Ala Thr Cys Thr Thr His Lys
 2210 2215 2220
 Thr Ala Tyr Asp Cys Asp Met Val Asp Ala Asn Leu Phe Met Gly
 2225 2230 2235
 Gly Asp Val Thr Arg Ile Glu Ser Asp Ser Lys Val Ile Val Leu
 2240 2245 2250
 p Ser Leu Asp Ser Met Thr Glu Val Glu Asp Asp Arg Glu Pro
 2255 2260 2265
 Ser Val Pro Ser Glu Tyr Leu Thr Arg Arg Arg Lys Phe Pro Pro
 2270 2275 2280
 Ala Leu Pro Pro Trp Ala Arg Pro Asp Tyr Asn Pro Pro Val Ile
 2285 2290 2295
 Glu Thr Trp Lys Arg Pro Asp Tyr Glu Pro Pro Thr Val Leu Gly
 2300 2305 2310
 Cys Ala Leu Pro Pro Thr Pro Gln Ala Pro Val Pro Pro Pro Arg
 2315 2320 2325
 Arg Arg Arg Ala Arg Val Leu Thr Gln Asp Asn Val Glu Gly Val
 2330 2335 2340
 Leu Arg Glu Met Ala Asp Lys Val Leu Ser Pro Leu Gln Asp Thr
 2345 2350 2355

SequenceListing[1].TXT														
2630					2635					2640				
Asp	Phe 2645	Leu	Leu	Lys	Ala	Trp 2650	Gly	Ser	Lys	Lys	Asp 2655	Pro	Met	Gly
Phe	Ser 2660	Tyr	Asp	Thr	Arg	Cys 2665	Phe	Asp	Ser	Thr	Val 2670	Thr	Glu	Arg
Asp	Ile 2675	Arg	Thr	Glu	Glu	Ser 2680	Ile	Tyr	Gln	Ala	Cys 2685	Ser	Leu	Pro
Gln	Glu 2690	Ala	Arg	Thr	Val	Ile 2695	His	Ser	Ile	Thr	Glu 2700	Arg	Leu	Tyr
Val	Gly 2705	Gly	Pro	Met	Thr	Asn 2710	Ser	Lys	Gly	Gln	Ser 2715	Cys	Gly	Tyr
Arg	Arg 2720	Cys	Arg	Ala	Ser	Gly 2725	Val	Phe	Thr	Thr	Ser 2730	Met	Gly	Asn
Thr	Met 2735	Thr	Cys	Tyr	Ile	Lys 2740	Ala	Leu	Ala	Ala	Cys 2745	Lys	Ala	Ala
Gly	Ile 2750	Val	Asp	Pro	Thr	Met 2755	Leu	Val	Cys	Gly	Asp 2760	Asp	Leu	Val
Val	Ile 2765	Ser	Glu	Ser	Gln	Gly 2770	Asn	Glu	Glu	Asp	Glu 2775	Arg	Asn	Leu
Arg	Ala 2780	Phe	Thr	Glu	Ala	Met 2785	Thr	Arg	Tyr	Ser	Ala 2790	Pro	Pro	Gly
Asp	Leu 2795	Pro	Arg	Pro	Glu	Tyr 2800	Asp	Leu	Glu	Leu	Ile 2805	Thr	Ser	Cys
Ser	Ser 2810	Asn	Val	Ser	Val	Ala 2815	Leu	Asp	Ser	Arg	Gly 2820	Arg	Arg	Arg
Tyr	Phe 2825	Leu	Thr	Arg	Asp	Pro 2830	Thr	Thr	Pro	Ile	Thr 2835	Arg	Ala	Ala
Trp	Glu 2840	Thr	Val	Arg	His	Ser 2845	Pro	Val	Asn	Ser	Trp 2850	Leu	Gly	Asn
Ile	Ile 2855	Gln	Tyr	Ala	Pro	Thr 2860	Ile	Trp	Val	Arg	Met 2865	Val	Ile	Met
Thr	His 2870	Phe	Phe	Ser	Ile	Leu 2875	Leu	Ala	Gln	Asp	Thr 2880	Leu	Asn	Gln
Asn	Leu 2885	Asn	Phe	Glu	Met	Tyr 2890	Gly	Ala	Val	Tyr	Ser 2895	Val	Asn	Pro
Leu	Asp 2900	Leu	Pro	Ala	Ile	Ile 2905	Glu	Arg	Leu	His	Gly 2910	Leu	Asp	Ala

SequenceListing[1].TXT

```

Asn Asp Ser Gly His Ser Thr Gly Ala Asp Thr Gly Gly Asp Ser
 2360      2365      2370

Val Gln Gln Pro Ser Gly Glu Thr Ala Ala Ser Asp Ala Gly Ser
 2375      2380      2385

Leu Ser Ser Met Pro Pro Leu Glu Gly Glu Pro Gly Asp Pro Asp
 2390      2395      2400

Leu Glu Phe Glu Pro Ala Arg Ser Ala Pro Pro Ser Glu Gly Glu
 2405      2410      2415

Cys Glu Val Ile Asp Ser Asp Ser Lys Ser Trp Ser Thr Val Ser
 2420      2425      2430

Asp Gln Glu Asp Ser Val Ile Cys Cys Ser Met Ser Tyr Ser Trp
 2435      2440      2445

  r Gly Ala Leu Ile Thr Pro Cys Gly Pro Glu Glu Glu Lys Leu
 2450      2455      2460

Pro Ile Ser Pro Leu Ser Asn Ser Leu Met Arg Phe His Asn Lys
 2465      2470      2475

Val Tyr Ser Thr Thr Ser Arg Ser Ala Ser Leu Arg Ala Lys Lys
 2480      2485      2490

Val Thr Phe Asp Arg Val Gln Val Leu Asp Ala His Tyr Asp Ser
 2495      2500      2505

Val Leu Gln Asp Val Lys Arg Ala Ala Ser Lys Val Ser Ala Arg
 2510      2515      2520

Leu Leu Ser Val Glu Glu Ala Cys Ala Leu Thr Pro Pro His Ser
 2525      2530      2535

Ala Lys Ser Arg Tyr Gly Phe Gly Ala Lys Glu Val Arg Ser Leu
 2540      2545      2550

Ser Arg Gly Ala Val Asn His Ile Arg Ser Val Trp Glu Asp Leu
 2555      2560      2565

Leu Glu Asp Gln His Thr Pro Ile Asp Thr Thr Ala Met Ala Lys
 2570      2575      2580

Asn Glu Val Phe Cys Ile Asp Pro Ala Lys Gly Gly Lys Lys Pro
 2585      2590      2595

Ala Arg Leu Ile Val Tyr Pro Asp Leu Gly Val Arg Val Cys Glu
 2600      2605      2610

Lys Met Ala Leu Tyr Asp Ile Ala Gln Lys Leu Pro Lys Ala Ile
 2615      2620      2625

Met Gly Pro Ser Tyr Gly Phe Gln Tyr Ser Pro Ala Glu Arg Val

```


SequenceListing[1].TXT
Phe Ser Leu His Thr Tyr Ser Pro His Glu Leu Ser Arg Val Ala
2915 2920 2925
Ala Thr Leu Arg Lys Leu Gly Ala Pro Pro Leu Arg Ala Trp Lys
2930 2935 2940
Ser Arg Ala Arg Ala Val Arg Ala Ser Leu Ile Ile Gln Gly Gly
2945 2950 2955
Arg Ala Ala Thr Cys Gly Arg Tyr Leu Phe Asn Trp Ala Val Lys
2960 2965 2970
Thr Lys Leu Lys Leu Thr Pro Leu Pro Glu Ala Ser Arg Leu Asp
2975 2980 2985
Leu Ser Gly Trp Phe Thr Val Gly Ala Gly Gly Gly Asp Ile Phe
2990 2995 3000
His Ser Val Ser His Ala Arg Pro Arg Leu Leu Leu Leu Cys Leu
3005 3010 3015
Leu Leu Leu Ser Val Gly Val Gly Ile Phe Leu Leu Pro Ala Arg
3020 3025 3030

<210> 8
<211> 3008
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> GenBank CAA72338 HCV 4 (ED43)

<400> 8
Met Ser Thr Asn Pro Lys Pro Gln Arg Lys Thr Lys Arg Asn Thr Asn
1 5 10 15
Arg Arg Pro Met Asp Val Lys Phe Pro Gly Gly Gly Gln Ile Val Gly
20 25 30
Gly Val Tyr Leu Leu Pro Arg Arg Gly Pro Arg Leu Gly Val Arg Ala
35 40 45
Thr Arg Lys Thr Ser Glu Arg Ser Gln Pro Arg Gly Arg Arg Gln Pro
50 55 60
Ile Pro Lys Ala Arg Arg Pro Glu Gly Arg Ser Trp Ala Gln Pro Gly
65 70 75 80
Tyr Pro Trp Pro Leu Tyr Gly Asn Glu Gly Cys Gly Trp Ala Gly Trp
85 90 95
Leu Leu Ser Pro Arg Gly Ser Arg Pro Ser Trp Gly Pro Asn Asp Pro
100 105 110
Arg Gly Arg Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Ile Asp Thr Leu Thr Cys
115 120 125
Gly Phe Ala Asp Leu Met Gly Tyr Ile Pro Leu Val Gly Ala Pro Val

SequenceListing[1].TXT

130		135		140															
Gly	Ser	Val	Ala	Arg	Ala	Leu	Ala	His	Gly	Val	Arg	Ala	Leu	Glu	Asp				
145					150					155					160				
Gly	Ile	Asn	Tyr	Ala	Thr	Gly	Asn	Leu	Pro	Gly	Cys	Ser	Phe	Ser	Ile				
				165					170					175					
Phe	Leu	Leu	Ala	Leu	Leu	Ser	Cys	Leu	Thr	Val	Pro	Ala	Ser	Ala	Val				
			180					185					190						
Asn	Tyr	Arg	Asn	Val	Ser	Gly	Ile	Tyr	His	Val	Thr	Asn	Asp	Cys	Pro				
		195					200					205							
Asn	Ser	Ser	Ile	Val	Tyr	Glu	Ala	Asp	His	His	Ile	Met	His	Leu	Pro				
		210				215					220								
Gly	Cys	Val	Pro	Cys	Val	Arg	Glu	Gly	Asn	Gln	Ser	Arg	Cys	Trp	Val				
225					230					235					240				
Ala	Leu	Thr	Pro	Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Tyr	Ile	Gly	Ala	Pro	Leu	Glu				
				245					250					255					
Ser	Leu	Arg	Ser	His	Val	Asp	Leu	Met	Val	Gly	Ala	Ala	Thr	Val	Cys				
			260					265					270						
Ser	Gly	Leu	Tyr	Ile	Gly	Asp	Leu	Cys	Gly	Gly	Leu	Phe	Leu	Val	Gly				
		275					280					285							
Gln	Met	Phe	Ser	Phe	Arg	Pro	Arg	Arg	His	Trp	Thr	Thr	Gln	Asp	Cys				
	290					295					300								
Asn	Cys	Ser	Ile	Tyr	Thr	Gly	His	Ile	Thr	Gly	His	Arg	Met	Ala	Trp				
305					310					315					320				
Asp	Met	Met	Met	Asn	Trp	Ser	Pro	Thr	Thr	Thr	Leu	Val	Leu	Ala	Gln				
				325					330					335					
Val	Met	Arg	Ile	Pro	Thr	Thr	Leu	Val	Asp	Leu	Leu	Ser	Gly	Gly	His				
			340					345					350						
Trp	Gly	Val	Leu	Val	Gly	Val	Ala	Tyr	Phe	Ser	Met	Gln	Ala	Asn	Trp				
		355					360					365							
Ala	Lys	Val	Ile	Leu	Val	Leu	Phe	Leu	Phe	Ala	Gly	Val	Asp	Ala	Glu				
	370					375					380								
Thr	His	Val	Ser	Gly	Ala	Ala	Val	Gly	Arg	Ser	Thr	Ala	Gly	Leu	Ala				
385					390					395					400				
Asn	Leu	Phe	Ser	Ser	Gly	Ser	Lys	Gln	Asn	Leu	Gln	Leu	Ile	Asn	Ser				
				405					410					415					
Asn	Gly	Ser	Trp	His	Ile	Asn	Arg	Thr	Ala	Leu	Asn	Cys	Asn	Asp	Ser				
			420					425					430						

SequenceListing[1].TXT

Leu Asn Thr Gly Phe Leu Ala Ser Leu Phe Tyr Thr His Lys Phe Asn
 435 440 445
 Ser Ser Gly Cys Ser Glu Arg Leu Ala Cys Cys Lys Ser Leu Asp Ser
 450 455 460
 Tyr Gly Gln Gly Trp Gly Pro Leu Gly Val Ala Asn Ile Ser Gly Ser
 465 470 475 480
 Ser Asp Asp Arg Pro Tyr Cys Trp His Tyr Ala Pro Arg Pro Cys Gly
 485 490 495
 Ile Val Pro Ala Ser Ser Val Cys Gly Pro Val Tyr Cys Phe Thr Pro
 500 505 510
 Ser Pro Val Val Val Gly Thr Thr Asp His Val Gly Val Pro Thr Tyr
 515 520 525
 Thr Trp Gly Glu Asn Glu Thr Asp Val Phe Leu Leu Asn Ser Thr Arg
 530 535 540
 Pro Pro His Gly Ala Trp Phe Gly Cys Val Trp Met Asn Ser Thr Gly
 545 550 555 560
 Phe Thr Lys Thr Cys Gly Ala Pro Pro Cys Glu Val Asn Thr Asn Asn
 565 570 575
 Gly Thr Trp His Cys Pro Thr Asp Cys Phe Arg Lys His Pro Glu Thr
 580 585 590
 Thr Tyr Ala Lys Cys Gly Ser Gly Pro Trp Ile Thr Pro Arg Cys Leu
 595 600 605
 Ile Asp Tyr Pro Tyr Arg Leu Trp His Phe Pro Cys Thr Ala Asn Phe
 610 615 620
 Ser Val Phe Asn Ile Arg Thr Phe Val Gly Gly Ile Glu His Arg Met
 5 630 635 640
 Gln Ala Ala Cys Asn Trp Thr Arg Gly Glu Val Cys Gly Leu Glu His
 645 650 655
 Arg Asp Arg Val Glu Leu Ser Pro Leu Leu Leu Thr Thr Thr Ala Trp
 660 665 670
 Gln Ile Leu Pro Cys Ser Phe Thr Thr Leu Pro Ala Leu Ser Thr Gly
 675 680 685
 Leu Ile His Leu His Gln Asn Ile Val Asp Val Gln Tyr Leu Tyr Gly
 690 695 700
 Val Gly Ser Ala Val Val Ser Trp Ala Leu Lys Trp Glu Tyr Val Val
 705 710 715 720
 Leu Ala Phe Leu Leu Leu Ala Asp Ala Arg Val Ser Ala Tyr Leu Trp
 725 730 735

SequenceListing[1].TXT

Met Met Phe Met Val Ser Gln Val Glu Ala Ala Leu Ser Asn Leu Ile
 740 745 750
 Asn Ile Asn Ala Ala Ser Ala Ala Gly Ala Gln Gly Phe Trp Tyr Ala
 755 760 765
 Ile Leu Phe Ile Cys Ile Val Trp His Val Lys Gly Arg Phe Pro Ala
 770 775 780
 Ala Ala Ala Tyr Ala Ala Cys Gly Leu Trp Pro Cys Phe Leu Leu Leu
 785 790 795 800
 Leu Met Leu Pro Glu Arg Ala Tyr Ala Tyr Asp Gln Glu Val Ala Gly
 805 810 815
 Ser Leu Gly Gly Ala Ile Val Val Met Leu Thr Ile Leu Thr Leu Ser
 820 825 830
 Pro His Tyr Lys Leu Trp Leu Ala Arg Gly Leu Trp Trp Ile Gln Tyr
 835 840 845
 Phe Ile Ala Arg Thr Glu Ala Val Leu His Val Tyr Ile Pro Ser Phe
 850 855 860
 Asn Val Arg Gly Pro Arg Asp Ser Val Ile Val Leu Ala Val Leu Val
 865 870 875 880
 Cys Pro Asp Leu Val Phe Asp Ile Thr Lys Tyr Leu Leu Ala Ile Leu
 885 890 895
 Gly Pro Leu His Ile Leu Gln Ala Ser Leu Leu Arg Ile Pro Tyr Phe
 900 905 910
 Val Arg Ala Gln Ala Leu Val Lys Ile Cys Ser Leu Leu Arg Gly Val
 915 920 925
 1 Tyr Gly Lys Tyr Phe Gln Met Val Val Leu Lys Ser Arg Gly Leu
 930 935 940
 Thr Gly Thr Tyr Ile Tyr Asp His Leu Thr Pro Met Ser Asp Trp Pro
 945 950 955 960
 Pro Tyr Gly Leu Arg Asp Leu Ala Val Ala Leu Glu Pro Val Val Phe
 965 970 975
 Thr Pro Met Glu Lys Lys Val Ile Val Trp Gly Ala Asp Thr Ala Ala
 980 985 990
 Cys Gly Asp Ile Ile Arg Gly Leu Pro Val Ser Ala Arg Leu Gly Asn
 995 1000 1005
 Glu Ile Leu Leu Gly Pro Ala Asp Thr Glu Thr Ser Lys Gly Trp
 1010 1015 1020
 Arg Leu Leu Ala Pro Ile Thr Ala Tyr Ala Gln Gln Thr Arg Gly
 1025 1030 1035

SequenceListing[1].TXT

Leu Phe Ser Thr Ile Val Thr Ser Leu Thr Gly Arg Asp Thr Asn
 1040 1045 1050
 Glu Asn Cys Gly Glu Val Gln Val Leu Ser Thr Ala Thr Gln Ser
 1055 1060 1065
 Phe Leu Gly Thr Ala Val Asn Gly Val Met Trp Thr Val Tyr His
 1070 1075 1080
 Gly Ala Gly Ala Lys Thr Ile Ser Gly Pro Lys Gly Pro Val Asn
 1085 1090 1095
 Gln Met Tyr Thr Asn Val Asp Gln Asp Leu Val Gly Trp Pro Ala
 1100 1105 1110
 Pro Pro Gly Val Arg Ser Leu Ala Pro Cys Thr Cys Gly Ser Ala
 1115 1120 1125
 p Leu Tyr Leu Val Thr Arg His Ala Asp Val Ile Pro Val Arg
 1130 1135 1140
 Arg Arg Gly Asp Thr Arg Gly Ala Leu Leu Ser Pro Arg Pro Ile
 1145 1150 1155
 Ser Ile Leu Lys Gly Ser Ser Gly Gly Pro Leu Leu Cys Pro Met
 1160 1165 1170
 Gly His Arg Ala Gly Ile Phe Arg Ala Ala Val Cys Thr Arg Gly
 1175 1180 1185
 Val Ala Lys Ala Val Asp Phe Val Pro Val Glu Ser Leu Glu Thr
 1190 1195 1200
 Thr Met Arg Ser Pro Val Phe Thr Asp Asn Ser Thr Pro Pro Ala
 1205 1210 1215
 Val Pro Gln Thr Tyr Gln Val Ala His Leu His Ala Pro Thr Gly
 1220 1225 1230
 Ser Gly Lys Ser Thr Lys Val Pro Ala Ala His Ala Ala Gln Gly
 1235 1240 1245
 Tyr Lys Val Leu Val Leu Asn Pro Ser Val Ala Ala Thr Leu Gly
 1250 1255 1260
 Phe Gly Val Tyr Met Ser Lys Ala Tyr Gly Ile Asp Pro Asn Ile
 1265 1270 1275
 Arg Ser Gly Val Arg Thr Ile Thr Thr Gly Ala Pro Ile Thr Tyr
 1280 1285 1290
 Ser Thr Tyr Gly Lys Phe Leu Ala Asp Gly Gly Cys Ser Gly Gly
 1295 1300 1305
 Ala Tyr Asp Ile Ile Ile Cys Asp Glu Cys Tyr Ser Thr Asp Ser
 Page 48

SequenceListing[1].TXT														
1310				1315				1320						
Thr	Thr	Ile	Leu	Gly	Ile	Gly	Thr	Val	Leu	Asp	Gln	Ala	Glu	Thr
	1325					1330					1335			
Ala	Gly	Val	Arg	Leu	Thr	Val	Leu	Ala	Thr	Ala	Thr	Pro	Pro	Gly
	1340					1345					1350			
Ser	Val	Thr	Thr	Pro	His	Ser	Asn	Ile	Glu	Glu	Val	Ala	Leu	Pro
	1355					1360					1365			
Thr	Thr	Gly	Glu	Ile	Pro	Phe	Tyr	Gly	Lys	Ala	Ile	Pro	Leu	Glu
	1370					1375					1380			
Leu	Ile	Lys	Gly	Gly	Arg	His	Leu	Ile	Phe	Cys	His	Ser	Lys	Lys
	1385					1390					1395			
Lys	Cys	Asp	Glu	Leu	Ala	Arg	Gln	Leu	Thr	Ser	Leu	Gly	Leu	Asn
	1400					1405					1410			
Ala	Val	Ala	Tyr	Tyr	Arg	Gly	Leu	Asp	Val	Ser	Val	Ile	Pro	Thr
	1415					1420					1425			
Ser	Gly	Asp	Val	Val	Val	Cys	Ala	Thr	Asp	Ala	Leu	Met	Thr	Gly
	1430					1435					1440			
Phe	Thr	Gly	Asp	Phe	Asp	Ser	Val	Ile	Asp	Cys	Asn	Thr	Ser	Val
	1445					1450					1455			
Ile	Gln	Thr	Val	Asp	Phe	Ser	Leu	Asp	Pro	Thr	Phe	Ser	Ile	Glu
	1460					1465					1470			
Ile	Thr	Thr	Val	Pro	Gln	Asp	Ala	Val	Ser	Arg	Ser	Gln	Arg	Arg
	1475					1480					1485			
Gly	Arg	Thr	Gly	Arg	Gly	Arg	Leu	Gly	Thr	Tyr	Arg	Tyr	Val	Thr
	1490					1495					1500			
Pro	Gly	Glu	Arg	Pro	Ser	Gly	Met	Phe	Asp	Thr	Ala	Glu	Leu	Cys
	1505					1510					1515			
Glu	Cys	Tyr	Asp	Ala	Gly	Cys	Ala	Trp	Tyr	Glu	Leu	Thr	Pro	Ala
	1520					1525					1530			
Glu	Thr	Thr	Thr	Arg	Leu	Lys	Ala	Tyr	Phe	Asp	Thr	Pro	Gly	Leu
	1535					1540					1545			
Pro	Val	Cys	Gln	Asp	His	Leu	Glu	Phe	Trp	Glu	Ser	Val	Phe	Thr
	1550					1555					1560			
Gly	Leu	Thr	His	Ile	Asp	Gly	His	Phe	Leu	Ser	Gln	Thr	Lys	Gln
	1565					1570					1575			
Ser	Gly	Glu	Asn	Phe	Pro	Tyr	Leu	Val	Ala	Tyr	Gln	Ala	Thr	Val
	1580					1585					1590			

SequenceListing[1].TXT

Ser	Ala	Lys	Val	Trp	Leu	Ala	Pro	Pro	Ser	Trp	Asp	Thr	Met	Trp
1595						1600					1605			
Lys	Cys	Leu	Ile	Arg	Leu	Lys	Pro	Thr	Leu	His	Gly	Pro	Thr	Pro
1610						1615					1620			
Leu	Leu	Tyr	Arg	Leu	Gly	Ser	Val	Gln	Asn	Glu	Val	Val	Leu	Thr
1625						1630					1635			
His	Pro	Ile	Thr	Lys	Tyr	Ile	Met	Ala	Cys	Met	Ser	Ala	Asp	Leu
1640						1645					1650			
Glu	Val	Val	Thr	Ser	Thr	Trp	Val	Leu	Val	Gly	Gly	Val	Leu	Ala
1655						1660					1665			
Ala	Leu	Ala	Ala	Tyr	Cys	Leu	Ser	Val	Gly	Ser	Val	Val	Ile	Val
1670						1675					1680			
Gly	Arg	Val	Val	Leu	Ser	Gly	Gln	Pro	Ala	Val	Ile	Pro	Asp	Arg
1685						1690					1695			
Glu	Val	Leu	Tyr	Gln	Gln	Phe	Asp	Glu	Met	Glu	Glu	Cys	Ser	Lys
1700						1705					1710			
His	Leu	Pro	Leu	Val	Glu	His	Gly	Leu	Gln	Leu	Ala	Glu	Gln	Phe
1715						1720					1725			
Lys	Gln	Lys	Ala	Leu	Gly	Leu	Leu	Asn	Phe	Ala	Gly	Lys	Gln	Ala
1730						1735					1740			
Gln	Glu	Ala	Thr	Pro	Val	Ile	Gln	Ser	Asn	Phe	Ala	Lys	Leu	Glu
1745						1750					1755			
Gln	Phe	Trp	Ala	Asn	Asp	Met	Trp	Asn	Phe	Ile	Ser	Gly	Ile	Gln
1760						1765					1770			
Trp	Leu	Ala	Gly	Leu	Ser	Thr	Leu	Pro	Gly	Asn	Pro	Ala	Ile	Ala
1775						1780					1785			
Ser	Leu	Met	Ser	Phe	Thr	Ala	Ala	Val	Thr	Ser	Pro	Leu	Thr	Thr
1790						1795					1800			
Gln	Gln	Thr	Leu	Leu	Phe	Asn	Ile	Leu	Gly	Gly	Trp	Val	Ala	Ser
1805						1810					1815			
Gln	Ile	Arg	Asp	Ser	Asp	Ala	Ser	Thr	Ala	Phe	Val	Val	Ser	Gly
1820						1825					1830			
Leu	Ala	Gly	Ala	Ala	Val	Gly	Ser	Val	Gly	Leu	Gly	Lys	Ile	Leu
1835						1840					1845			
Val	Asp	Ile	Leu	Pro	Gly	Tyr	Gly	Ala	Gly	Val	Arg	Gly	Ala	Val
1850						1855					1860			
Val	Thr	Phe	Lys	Ile	Met	Ser	Gly	Glu	Met	Pro	Ser	Thr	Glu	Asp
1865						1870					1875			

SequenceListing[1].TXT

```

Leu Val  Asn Leu Leu Pro Ala  Ile Leu Ser Pro Gly  Ala Leu Val
1880      1885      1890

Val Glu   Val Val Cys Pro Ala  Ile Leu Arg Arg His  Val Gly Pro
1895      1900      1905

Gly Glu   Gly Ala Val Gln Trp  Met Asn Arg Leu Ile  Ala Phe Ala
1910      1915      1920

Ser Arg   Gly Asn His Val Ser  Pro Thr His Tyr Val  Pro Glu Ser
1925      1930      1935

Asp Ala   Ala Arg Arg Val Thr  Thr Ile Leu Ser Ser  Leu Thr Val
1940      1945      1950

Thr Ser   Leu Leu Arg Arg Leu  His Lys Trp Ile Asn  Glu Asp Cys
1955      1960      1965

Ser Thr   Pro Cys Ala Glu Ser  Trp Leu Trp Glu Val  Trp Asp Trp
1970      1975      1980

Val Leu   His Val Leu Ser Asp  Phe Lys Thr Cys Leu  Lys Ala Lys
1985      1990      1995

Phe Val   Pro Leu Met Pro Gly  Ile Pro Leu Leu Ser  Trp Pro Arg
2000      2005      2010

Gly Tyr   Lys Gly Glu Trp Arg  Gly Asp Gly Val Met  His Thr Thr
2015      2020      2025

Cys Pro   Cys Gly Ala Asp Leu  Ala Gly His Ile Lys  Asn Gly Ser
2030      2035      2040

Met Arg   Ile Thr Gly Pro Lys  Thr Cys Ser Asn Thr  Trp His Gly
2045      2050      2055

r Phe     Pro Ile Asn Ala Tyr  Thr Thr Gly Pro Gly  Val Pro Ile
2060      2065      2070

Pro Ala   Pro Asn Tyr Lys Phe  Ala Leu Trp Arg Val  Ser Ala Glu
2075      2080      2085

Asp Tyr   Val Glu Val Arg Arg  Val Gly Asp Phe His  Tyr Val Thr
2090      2095      2100

Gly Val   Thr Gln Asp Asn Ile  Lys Phe Pro Cys Gln  Val Pro Ala
2105      2110      2115

Pro Glu   Leu Phe Thr Glu Val  Asp Gly Ile Arg Ile  His Arg His
2120      2125      2130

Ala Pro   Lys Cys Lys Pro Leu  Leu Arg Asp Glu Val  Ser Phe Ser
2135      2140      2145

Val Gly   Leu Asn Ser Phe Val  Val Gly Ser Gln Leu  Pro Cys Glu
2150      2155      2160

```


SequenceListing[1].TXT

```

Pro Glu  Pro Asp Val Ala Val  Leu Thr Ser Met Leu  Thr Asp Pro
2165      2170      2175

Ser His  Ile Thr Ala Glu Ser  Ala Arg Arg Arg Leu  Ala Arg Gly
2180      2185      2190

Ser Arg  Pro Ser Leu Ala Ser  Ser Ser Ala Ser  Gln  Leu Ser Pro
2195      2200      2205

Arg Leu  Leu Gln Ala Thr Cys  Thr Ala Pro His Asp  Ser Pro Gly
2210      2215      2220

Thr Asp  Leu Leu Glu Ala Asn  Leu Leu Trp Gly Ser  Thr Ala Thr
2225      2230      2235

Arg Val  Glu Thr Asp Glu Lys  Val Ile Ile Leu Asp  Ser Phe Glu
2240      2245      2250

.r Cys  Val Ala Glu Gln Asn  Asp Asp Arg Glu Val  Ser Val Ala
2255      2260      2265

Ala Glu  Ile Leu Arg Pro Thr  Lys Lys Phe Pro Pro  Ala Leu Pro
2270      2275      2280

Ile Trp  Ala Arg Pro Asp Tyr  Asn Pro Pro Leu Thr  Glu Thr Trp
2285      2290      2295

Lys Gln  Gln Asp Tyr Gln Ala  Pro Thr Val His Gly  Cys Ala Leu
2300      2305      2310

Pro Pro  Ala Lys Gln Pro Pro  Val Pro Ser Pro Arg  Arg Lys Arg
2315      2320      2325

Thr Val  Gln Leu Thr Glu Ser  Val Val Ser Thr Ala  Leu Ala Glu
2330      2335      2340

Leu Ala  Ala Lys Thr Phe Gly  Gln Ser Glu Pro Ser  Ser Asp Arg
2345      2350      2355

Asp Thr  Asp Leu Thr Thr Pro  Thr Glu Thr Thr Asp  Ser Gly Pro
2360      2365      2370

Ile Val  Val Asp Asp Ala Ser  Asp Asp Gly Ser Tyr  Ser Ser Met
2375      2380      2385

Pro Pro  Leu Glu Gly Glu Pro  Gly Asp Pro Asp Leu  Thr Ser Asp
2390      2395      2400

Ser Trp  Ser Thr Val Ser Gly  Ser Glu Asp Val Val  Cys Cys Ser
2405      2410      2415

Met Ser  Tyr Ser Trp Thr Gly  Ala Leu Val Thr Pro  Cys Ala Ala
2420      2425      2430

Glu Glu  Ser Lys Leu Pro Ile  Ser Pro Leu Ser Asn  Ser Leu Leu

```

SequenceListing[1].TXT

2435		2440		2445										
Arg	His	His	Asn	Met	Val	Tyr	Ala	Thr	Thr	Thr	Arg	Ser	Ala	Val
2450						2455					2460			
Thr	Arg	Gln	Lys	Lys	Val	Thr	Phe	Asp	Arg	Leu	Gln	Val	Val	Asp
2465						2470					2475			
Ser	Thr	Tyr	Asn	Glu	Val	Leu	Lys	Glu	Ile	Lys	Ala	Arg	Ala	Ser
2480						2485					2490			
Arg	Val	Lys	Pro	Arg	Leu	Leu	Thr	Thr	Glu	Glu	Ala	Cys	Asp	Leu
2495						2500					2505			
Thr	Pro	Pro	His	Ser	Ala	Arg	Ser	Lys	Phe	Gly	Tyr	Gly	Lys	Lys
2510						2515					2520			
Asp	Val	Arg	Ser	His	Ser	Arg	Lys	Ala	Ile	Asn	His	Ile	Ser	Ser
2525						2530					2535			
Val	Trp	Lys	Asp	Leu	Leu	Asp	Asp	Asn	Asn	Thr	Pro	Ile	Pro	Thr
2540						2545					2550			
Thr	Ile	Met	Ala	Lys	Asn	Glu	Val	Phe	Ala	Val	Asn	Pro	Ala	Lys
2555						2560					2565			
Gly	Gly	Arg	Lys	Pro	Ala	Arg	Leu	Ile	Val	Tyr	Pro	Asp	Leu	Gly
2570						2575					2580			
Ser	Arg	Val	Cys	Glu	Lys	Arg	Ala	Leu	His	Asp	Val	Ile	Lys	Lys
2585						2590					2595			
Thr	Ala	Leu	Ala	Val	Met	Gly	Ala	Ala	Tyr	Gly	Phe	Gln	Tyr	Ser
2600						2605					2610			
Pro	Ala	Gln	Arg	Val	Glu	Phe	Leu	Leu	Thr	Ala	Trp	Lys	Ser	Lys
2615						2620					2625			
Asn	Asp	Pro	Met	Gly	Phe	Ser	Tyr	Asp	Thr	Arg	Cys	Phe	Asp	Ser
2630						2635					2640			
Thr	Val	Thr	Glu	Lys	Asp	Ile	Arg	Val	Glu	Glu	Glu	Val	Tyr	Gln
2645						2650					2655			
Cys	Cys	Asp	Leu	Glu	Pro	Glu	Ala	Arg	Lys	Val	Ile	Thr	Ala	Leu
2660						2665					2670			
Thr	Asp	Arg	Leu	Tyr	Val	Gly	Gly	Pro	Met	His	Asn	Ser	Lys	Gly
2675						2680					2685			
Asp	Leu	Cys	Gly	Tyr	Arg	Arg	Cys	Arg	Ala	Thr	Gly	Val	Tyr	Thr
2690						2695					2700			
Thr	Ser	Phe	Gly	Asn	Thr	Leu	Thr	Cys	Tyr	Leu	Lys	Ala	Thr	Ala
2705						2710					2715			

SequenceListing[1].TXT

Ala	Ile	Arg	Ala	Ala	Ala	Leu	Arg	Asp	Cys	Thr	Met	Leu	Val	Cys
	2720					2725					2730			
Gly	Asp	Asp	Leu	Val	Val	Ile	Ala	Glu	Ser	Asp	Gly	Val	Glu	Glu
	2735					2740					2745			
Asp	Asn	Arg	Ala	Leu	Arg	Ala	Phe	Thr	Glu	Ala	Met	Thr	Arg	Tyr
	2750					2755					2760			
Ser	Ala	Pro	Pro	Gly	Asp	Ala	Pro	Gln	Pro	Ala	Tyr	Asp	Leu	Glu
	2765					2770					2775			
Leu	Ile	Thr	Ser	Cys	Ser	Ser	Asn	Val	Ser	Val	Ala	His	Asp	Val
	2780					2785					2790			
Thr	Gly	Lys	Lys	Val	Tyr	Tyr	Leu	Thr	Arg	Asp	Pro	Glu	Thr	Pro
	2795					2800					2805			
Leu	Ala	Arg	Ala	Val	Trp	Glu	Thr	Val	Arg	His	Thr	Pro	Val	Asn
	2810					2815					2820			
Ser	Trp	Leu	Gly	Asn	Ile	Ile	Val	Tyr	Ala	Pro	Thr	Ile	Trp	Val
	2825					2830					2835			
Arg	Met	Ile	Leu	Met	Thr	His	Phe	Phe	Ser	Ile	Leu	Gln	Ser	Gln
	2840					2845					2850			
Glu	Ala	Leu	Glu	Lys	Ala	Leu	Asp	Phe	Asp	Met	Tyr	Gly	Val	Thr
	2855					2860					2865			
Tyr	Ser	Ile	Thr	Pro	Leu	Asp	Leu	Pro	Ala	Ile	Ile	Gln	Arg	Leu
	2870					2875					2880			
His	Gly	Leu	Ser	Ala	Phe	Thr	Leu	His	Gly	Tyr	Ser	Pro	His	Glu
	2885					2890					2895			
Leu	Asn	Arg	Val	Ala	Gly	Ala	Leu	Arg	Lys	Leu	Gly	Val	Pro	Pro
	2900					2905					2910			
Leu	Arg	Ala	Trp	Arg	His	Arg	Ala	Arg	Ala	Val	Arg	Ala	Lys	Leu
	2915					2920					2925			
Ile	Ala	Gln	Gly	Gly	Arg	Ala	Lys	Ile	Cys	Gly	Ile	Tyr	Leu	Phe
	2930					2935					2940			
Asn	Trp	Ala	Val	Lys	Thr	Lys	Leu	Lys	Leu	Thr	Pro	Leu	Pro	Ala
	2945					2950					2955			
Ala	Ala	Lys	Leu	Asp	Leu	Ser	Gly	Trp	Phe	Thr	Val	Gly	Ala	Gly
	2960					2965					2970			
Gly	Gly	Asp	Ile	Tyr	His	Ser	Met	Ser	His	Ala	Arg	Pro	Arg	Tyr
	2975					2980					2985			
Leu	Leu	Leu	Cys	Leu	Leu	Ile	Leu	Thr	Val	Gly	Val	Gly	Ile	Phe
	2990					2995					3000			

SequenceListing[1].TXT

Leu Leu Pro Ala Arg
3005

<210> 9
<211> 3019
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> GenBank ABE98159 HCV 6a

<400> 9

Met Ser Thr Leu Pro Lys Pro Gln Arg Lys Thr Lys Arg Asn Thr Asn
1 5 10 15

Arg Arg Pro Met Asp Val Lys Phe Pro Gly Gly Gly Gln Ile Val Gly
20 25 30

Gly Val Tyr Leu Leu Pro Arg Arg Gly Pro Arg Leu Gly Val Arg Ala
35 40 45

Ihr Arg Lys Thr Ser Glu Arg Ser Gln Pro Arg Gly Arg Arg Gln Pro
50 55 60

Ile Pro Lys Ala Arg Gln Pro Gln Gly Arg His Trp Ala Gln Pro Gly
65 70 75 80

Tyr Pro Trp Pro Leu Tyr Gly Asn Glu Gly Cys Gly Trp Ala Gly Trp
85 90 95

Leu Leu Ser Pro Arg Gly Ser Arg Pro His Trp Gly Pro Asn Asp Pro
100 105 110

Arg Arg Arg Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Ile Asp Thr Leu Thr Cys
115 120 125

Gly Phe Ala Asp Leu Met Gly Tyr Ile Pro Val Val Gly Ala Pro Leu
130 135 140

Gly Gly Val Ala Ala Ala Leu Ala His Gly Val Arg Ala Ile Glu Asp
145 150 155 160

Gly Ile Asn Tyr Ala Thr Gly Asn Leu Pro Gly Cys Ser Phe Ser Ile
165 170 175

Phe Leu Leu Ala Leu Leu Ser Cys Leu Thr Thr Pro Ala Ser Ala Leu
180 185 190

Thr Tyr Gly Asn Ser Ser Gly Leu Tyr His Leu Thr Asn Asp Cys Pro
195 200 205

Asn Ser Ser Ile Val Leu Glu Ala Asp Ala Met Ile Leu His Leu Pro
210 215 220

Gly Cys Leu Pro Cys Val Arg Val Asp Asn Gln Ser Thr Cys Trp His
225 230 235 240

SequenceListing[1].TXT

Ala Val Ser Pro Thr Leu Ala Ile Pro Asn Ala Ser Thr Ser Ala Thr
 245 250 255
 Gly Phe Arg Arg His Val Asp Leu Leu Ala Gly Ala Ala Val Val Cys
 260 265 270
 Ser Ser Leu Tyr Ile Gly Asp Leu Cys Gly Ser Leu Phe Leu Ala Gly
 275 280 285
 Gln Leu Phe Thr Phe Gln Pro Arg Arg His Trp Thr Val Gln Asp Cys
 290 295 300
 Asn Cys Ser Ile Tyr Thr Gly His Val Thr Gly His Arg Met Ala Trp
 305 310 315 320
 Asp Met Met Met Asn Trp Ser Pro Thr Thr Thr Leu Val Leu Ser Ser
 325 330 335
 Ile Leu Arg Val Pro Glu Ile Cys Ala Ser Val Ile Phe Gly Gly His
 340 345 350
 Trp Gly Ile Leu Ile Ala Val Ala Tyr Phe Gly Met Ala Gly Asn Trp
 355 360 365
 Leu Lys Val Leu Ala Val Leu Phe Leu Phe Ala Gly Val Glu Ala Thr
 370 375 380
 Thr Thr Ile Gly Arg Glu Met Gly Ser Thr Thr Ala Gly Leu Val Arg
 385 390 395 400
 Phe Leu Ala Pro Gly Pro Lys Gln Asn Leu Gln Leu Ile Asn Thr Asn
 405 410 415
 Gly Ser Trp His Ile Asn Arg Thr Ala Leu Asn Cys Asn Asp Ser Leu
 420 425 430
 Gln Thr Gly Phe Ile Ala Ser Leu Phe Tyr Ala His Thr Phe Asn Ser
 435 440 445
 Ser Gly Cys Pro Glu Arg Met Ala Ala Cys Arg Pro Leu Ala Asp Phe
 450 455 460
 Arg Gln Gly Trp Gly Gln Ile Thr Tyr Lys Asp Asn Ile Ser Gly Pro
 465 470 475 480
 Ser Asp Asp Arg Pro Tyr Cys Trp His Tyr Ala Pro Arg Pro Cys Ser
 485 490 495
 Val Val Pro Ala Ser Thr Val Cys Gly Pro Val Tyr Cys Phe Thr Pro
 500 505 510
 Ser Pro Val Val Val Gly Thr Thr Asp Arg Arg Gly Asn Pro Thr Tyr
 515 520 525
 Thr Trp Gly Glu Asn Glu Thr Asp Val Phe Met Leu Gly Ser Leu Arg
 530 535 540

SequenceListing[1].TXT

Pro Pro Thr Gly Gly Trp Phe Gly Cys Thr Trp Met Asn Ser Thr Gly
 545 550 555 560
 Phe Thr Lys Thr Cys Gly Ala Pro Pro Cys Gln Ile Val Pro Gly Asp
 565 570 575
 Tyr Asn Ser Ser Ala Asn Glu Leu Leu Cys Pro Thr Asp Cys Phe Arg
 580 585 590
 Lys His Pro Glu Ala Thr Tyr Gln Arg Cys Gly Ser Gly Pro Trp Leu
 595 600 605
 Thr Pro Arg Cys Leu Val His Tyr Pro Tyr Arg Leu Trp His Tyr Pro
 610 615 620
 Cys Thr Ile Asn Phe Thr Val His Lys Val Arg Met Phe Val Gly Gly
 625 630 635 640
 Ile Glu His Arg Phe Asp Ala Ala Cys Asn Trp Thr Arg Gly Glu Arg
 645 650 655
 Cys Glu Leu His Asp Arg Asp Arg Ile Glu Met Ser Pro Leu Leu Phe
 660 665 670
 Ser Thr Thr Gln Leu Ser Ile Leu Pro Cys Ser Phe Ser Thr Met Pro
 675 680 685
 Ala Leu Ser Thr Gly Leu Ile His Leu His Gln Asn Ile Val Asp Val
 690 695 700
 Gln Tyr Leu Tyr Gly Val Ser Ser Ser Val Thr Ser Trp Val Val Lys
 705 710 715 720
 Trp Glu Tyr Ile Val Leu Met Phe Leu Val Leu Ala Asp Ala Arg Ile
 725 730 735
 s Thr Cys Leu Trp Leu Met Leu Leu Ile Ser Asn Val Glu Ala Ala
 740 745 750
 Val Glu Arg Leu Val Val Leu Asn Ala Ala Ser Ala Ala Gly Thr Ala
 755 760 765
 Gly Trp Trp Trp Ala Val Leu Phe Leu Cys Cys Val Trp Tyr Val Lys
 770 775 780
 Gly Arg Leu Val Pro Ala Cys Thr Tyr Thr Ala Leu Gly Met Trp Pro
 785 790 795 800
 Leu Leu Leu Thr Ile Leu Ala Leu Pro Arg Arg Ala Tyr Ala Met Asp
 805 810 815
 Asn Glu Gln Ala Ala Ser Leu Gly Ala Val Gly Leu Leu Val Ile Thr
 820 825 830
 Ile Phe Thr Ile Thr Pro Met Tyr Lys Lys Leu Leu Thr Cys Phe Ile
 835 840 845

SequenceListing[1].TXT

```

Trp Trp Asn Gln Tyr Phe Leu Ala Arg Ala Glu Ala Met Ile His Glu
850                               855                               860

Trp Val Pro Asp Leu Arg Val Arg Gly Gly Arg Asp Ser Ile Ile Leu
865                               870                               875                               880

Leu Thr Cys Leu Leu His Pro Gln Leu Gly Phe Glu Val Thr Lys Ile
885                               890                               895

Leu Leu Ala Ile Leu Ala Pro Leu Tyr Ile Leu Gln Tyr Ser Leu Leu
900                               905                               910

Lys Val Pro Tyr Phe Val Arg Ala His Ile Leu Leu Arg Ala Cys Leu
915                               920                               925

Leu Val Arg Arg Leu Ala Gly Gly Lys Tyr Val Gln Ala Cys Leu Leu
930                               935                               940

g Leu Gly Ala Trp Thr Gly Thr Tyr Val Tyr Asp His Leu Ala Pro
945                               950                               955                               960

Leu Ser Asp Trp Ala Ser Asp Gly Leu Arg Asp Leu Ala Val Ala Val
965                               970                               975

Glu Pro Val Ile Phe Ser Pro Met Glu Lys Lys Ile Ile Thr Trp Gly
980                               985                               990

Ala Asp Thr Ala Ala Cys Gly Asp Ile Leu Ser Gly Leu Pro Val Ser
995                               1000                               1005

Ala Arg Leu Gly Asn Leu Val Leu Leu Gly Pro Ala Asp Asp Met
1010                               1015                               1020

Gln Arg Gly Gly Trp Lys Leu Leu Ala Pro Ile Thr Ala Tyr Ala
1025                               1030                               1035

Gln Gln Thr Arg Gly Leu Val Gly Thr Ile Val Thr Ser Leu Thr
1040                               1045                               1050

Gly Arg Asp Lys Asn Glu Val Glu Gly Glu Val Gln Val Val Ser
1055                               1060                               1065

Thr Ala Thr Gln Ser Phe Leu Ala Thr Ser Ile Asn Gly Val Met
1070                               1075                               1080

Trp Thr Val Tyr His Gly Ala Gly Ser Lys Thr Leu Ala Gly Pro
1085                               1090                               1095

Lys Gly Pro Val Cys Gln Met Tyr Thr Asn Val Asp Gln Asp Leu
1100                               1105                               1110

Val Gly Trp Pro Ser Pro Pro Gly Ala Arg Ser Leu Thr Pro Cys
1115                               1120                               1125

Thr Cys Gly Ser Asn Asp Leu Tyr Leu Val Thr Arg Glu Ala Asp

```

SequenceListing[1].TXT

1130		1135		1140									
Val	Ile	Pro	Ala	Arg	Arg	Arg	Gly	Asp	Ser	Arg	Ala	Ala	Leu
1145						1150					1155		
Ser	Pro	Arg	Pro	Ile	Ser	Thr	Leu	Lys	Gly	Ser	Ser	Gly	Gly
1160						1165					1170		
Ile	Met	Cys	Pro	Ser	Gly	His	Val	Val	Gly	Leu	Phe	Arg	Ala
1175						1180					1185		
Val	Cys	Thr	Arg	Gly	Val	Ala	Lys	Ser	Leu	Asp	Phe	Ile	Pro
1190						1195					1200		
Glu	Asn	Met	Glu	Thr	Thr	Met	Arg	Ser	Pro	Ser	Phe	Thr	Asp
1205						1210					1215		
Ser	Thr	Pro	Pro	Ala	Val	Pro	Gln	Thr	Tyr	Gln	Val	Gly	Tyr
1220						1225					1230		
His	Ala	Pro	Thr	Gly	Ser	Gly	Lys	Ser	Thr	Arg	Val	Pro	Ala
1235						1240					1245		
Tyr	Ala	Ser	Gln	Gly	Tyr	Lys	Val	Leu	Val	Leu	Asn	Pro	Ser
1250						1255					1260		
Ala	Ala	Thr	Leu	Ser	Phe	Gly	Ser	Tyr	Met	Arg	Gln	Ala	Tyr
1265						1270					1275		
Val	Glu	Pro	Asn	Val	Arg	Thr	Gly	Val	Arg	Thr	Ile	Thr	Thr
1280						1285					1290		
Gly	Ala	Ile	Thr	Tyr	Ser	Thr	Tyr	Gly	Lys	Phe	Leu	Ala	Asp
1295						1300					1305		
Gly	Cys	Ser	Gly	Gly	Ala	Tyr	Asp	Ile	Ile	Ile	Cys	Asp	Glu
1310						1315					1320		
His	Ser	Thr	Asp	Pro	Thr	Thr	Val	Leu	Gly	Ile	Gly	Thr	Val
1325						1330					1335		
Asp	Gln	Ala	Glu	Thr	Ala	Gly	Val	Arg	Leu	Thr	Val	Leu	Ala
1340						1345					1350		
Ala	Thr	Pro	Pro	Gly	Ser	Val	Thr	Val	Pro	His	Pro	Asn	Ile
1355						1360					1365		
Glu	Thr	Ala	Leu	Pro	Thr	Thr	Gly	Glu	Ile	Pro	Phe	Tyr	Gly
1370						1375					1380		
Ala	Ile	Pro	Leu	Glu	Tyr	Ile	Lys	Gly	Gly	Arg	His	Leu	Ile
1385						1390					1395		
Cys	His	Ser	Lys	Lys	Lys	Cys	Asp	Glu	Leu	Ala	Gly	Lys	Leu
1400						1405					1410		

SequenceListing[1].TXT

Ser	Leu	Gly	Leu	Asn	Ala	Val	Ala	Phe	Tyr	Arg	Gly	Val	Asp	Val
1415						1420					1425			
Ser	Val	Ile	Pro	Thr	Ser	Gly	Asp	Val	Val	Val	Cys	Ala	Thr	Asp
1430						1435					1440			
Ala	Leu	Met	Thr	Gly	Tyr	Thr	Gly	Asp	Phe	Asp	Ser	Val	Ile	Asp
1445						1450					1455			
Cys	Asn	Val	Ala	Val	Thr	Gln	Val	Val	Asp	Phe	Ser	Leu	Asp	Pro
1460						1465					1470			
Thr	Phe	Ser	Ile	Glu	Thr	Thr	Thr	Val	Pro	Gln	Asp	Ala	Val	Ser
1475						1480					1485			
Arg	Ser	Gln	Arg	Arg	Gly	Arg	Thr	Gly	Arg	Gly	Lys	Pro	Gly	Val
1490						1495					1500			
Tyr	Arg	Phe	Val	Ser	Gln	Gly	Glu	Arg	Pro	Ser	Gly	Met	Phe	Asp
1505						1510					1515			
Thr	Val	Val	Leu	Cys	Glu	Ala	Tyr	Asp	Thr	Gly	Cys	Ala	Trp	Tyr
1520						1525					1530			
Glu	Leu	Thr	Pro	Ser	Glu	Thr	Thr	Val	Arg	Leu	Arg	Ala	Tyr	Leu
1535						1540					1545			
Asn	Thr	Pro	Gly	Leu	Pro	Val	Cys	Gln	Asp	His	Leu	Glu	Phe	Trp
1550						1555					1560			
Glu	Gly	Val	Phe	Thr	Gly	Leu	Thr	His	Ile	Asp	Ala	His	Phe	Leu
1565						1570					1575			
Ser	Gln	Thr	Lys	Gln	Gly	Gly	Glu	Asn	Phe	Ala	Tyr	Leu	Val	Ala
1580						1585					1590			
Tyr	Gln	Ala	Thr	Val	Cys	Ala	Arg	Ala	Lys	Ala	Pro	Pro	Pro	Ser
1595						1600					1605			
Trp	Asp	Thr	Met	Trp	Lys	Cys	Leu	Ile	Arg	Leu	Lys	Pro	Thr	Leu
1610						1615					1620			
Thr	Gly	Pro	Thr	Pro	Leu	Leu	Tyr	Arg	Leu	Gly	Ala	Val	Gln	Asn
1625						1630					1635			
Glu	Ile	Ile	Thr	Thr	His	Pro	Ile	Thr	Lys	Tyr	Ile	Met	Thr	Cys
1640						1645					1650			
Met	Ser	Ala	Asp	Leu	Glu	Val	Ile	Thr	Ser	Thr	Trp	Val	Ile	Val
1655						1660					1665			
Gly	Gly	Val	Leu	Ala	Ala	Leu	Ala	Ala	Tyr	Cys	Leu	Ser	Val	Gly
1670						1675					1680			
Cys	Val	Val	Ile	Cys	Gly	Arg	Ile	Thr	Leu	Thr	Gly	Lys	Pro	Val
1685						1690					1695			

SequenceListing[1].TXT

```

Val Val  Pro Asp Arg Glu Val  Leu Tyr Gln Gln Phe  Asp Glu Met
 1700      1705      1710

Glu Glu  Cys Ser Arg His Ile  Pro Tyr Leu Ala Glu  Gly Gln Gln
 1715      1720      1725

Ile Ala  Glu Gln Phe Arg Gln  Lys Val Leu Gly Leu  Leu Gln Ala
 1730      1735      1740

Ser Ala  Lys Gln Ala Glu Glu  Leu Lys Pro Ala Val  His Ser Ala
 1745      1750      1755

Trp Pro  Arg Val Glu Glu Phe  Trp Arg Lys His Met  Trp Asn Phe
 1760      1765      1770

Val Ser  Gly Ile Gln Tyr Leu  Ala Gly Leu Ser Ile  Trp Pro Gly
 1775      1780      1785

Asn Pro  Ala Val Ala Ser Leu  Met Ser Phe Thr Ala  Ser Leu Thr
 1790      1795      1800

Ser Pro  Leu Arg Thr Ser Gln  Thr Leu Leu Leu Asn  Ile Leu Gly
 1805      1810      1815

Gly Trp  Ile Ala Thr Gln Val  Ala Pro Pro Pro Ala  Ser Thr Ala
 1820      1825      1830

Phe Val  Val Ser Gly Leu Ala  Gly Ala Thr Val Gly  Ser Ile Gly
 1835      1840      1845

Leu Gly  Arg Val Leu Val Asp  Val Leu Ala Gly Tyr  Gly Ala Gly
 1850      1855      1860

Val Ser  Gly Ala Leu Val Ala  Phe Lys Ile Met Ser  Gly Glu Cys
 1865      1870      1875

  Ser  Thr Glu Asp Met Val  Asn Leu Leu Pro Ala  Leu Leu Ser
 1880      1885      1890

Pro Gly  Ala Leu Val Val Gly  Val Val Cys Ala Ala  Ile Leu Arg
 1895      1900      1905

Arg His  Val Gly Pro Ala Glu  Gly Ala Asn Gln Trp  Met Asn Arg
 1910      1915      1920

Leu Ile  Ala Phe Ala Ser Arg  Gly Asn His Val Ser  Pro Thr His
 1925      1930      1935

Tyr Val  Pro Glu Thr Asp Ala  Ser Lys Asn Val Thr  Gln Ile Leu
 1940      1945      1950

Thr Ser  Leu Thr Ile Thr Ser  Leu Leu Arg Arg Leu  His Gln Trp
 1955      1960      1965

Val Thr  Glu Asp Thr Ala Thr  Pro Cys Ala Thr Ser  Trp Leu Arg
 1970      1975      1980

```

SequenceListing[1].TXT

Asp Val 1985	Trp Asp Trp Val	Cys 1990	Thr Val Leu Ser	Asp 1995	Phe Lys Val
Trp Leu 2000	Lys Ala Lys Leu	Leu 2005	Pro Arg Leu Pro	Gly 2010	Ile Pro Phe
Leu Ser 2015	Cys Gln Thr Gly	Tyr 2020	Arg Gly Val Trp	Ala 2025	Gly Asp Gly
Val Cys 2030	His Thr Thr Cys	Thr 2035	Cys Gly Ala Val	Ile 2040	Ala Gly His
Val Lys 2045	Asn Gly Ser Met	Lys 2050	Ile Thr Gly Pro	Lys 2055	Thr Cys Ser
Asn Thr 2060	Trp His Gly Thr	Phe 2065	Pro Ile Asn Ala	Thr 2070	Thr Thr Gly
o Ser 2075	Thr Pro Arg Pro	Ala 2080	Pro Asn Tyr Gln	Arg 2085	Ala Leu Trp
Arg Val 2090	Ser Ala Glu Asp	Tyr 2095	Val Glu Val Arg	Arg 2100	Leu Gly Asp
Cys His 2105	Tyr Val Val Gly	Ala 2110	Thr Ala Glu Gly	Leu 2115	Lys Cys Pro
Cys Gln 2120	Val Pro Ala Pro	Glu 2125	Phe Phe Thr Glu	Val 2130	Asp Gly Val
Arg Ile 2135	His Arg Tyr Ala	Pro 2140	Pro Cys Lys Pro	Leu 2145	Leu Arg Asp
Glu Val 2150	Thr Phe Ser Val	Gly 2155	Leu Ser Thr Tyr	Ala 2160	Ile Gly Ser
Gln Leu 2165	Pro Cys Glu Pro	Glu 2170	Pro Asp Val Thr	Val 2175	Val Thr Ser
Met Leu 2180	Thr Asp Pro Thr	His 2185	Ile Thr Ala Glu	Thr 2190	Ala Ala Arg
Arg Leu 2195	Lys Arg Gly Ser	Pro 2200	Pro Ser Leu Ala	Ser 2205	Ser Ser Ala
Ser Gln 2210	Leu Ser Ala Pro	Ser 2215	Leu Lys Ala Thr	Cys 2220	Thr Thr Ser
Lys Asp 2225	His Pro Asp Met	Glu 2230	Leu Ile Glu Ala	Asn 2235	Leu Leu Trp
Arg Gln 2240	Glu Met Gly Gly	Asn 2245	Ile Thr Arg Val	Glu 2250	Ser Glu Asn
Lys Val	Val Ile Leu Asp Ser	Phe Glu	Pro Leu Thr	Ala Asp Tyr	

SequenceListing[1].TXT														
2255						2260		2265						
Asp	Glu	Arg	Glu	Ile	Ser	Val	Ser	Ala	Glu	Cys	His	Arg	Pro	Pro
	2270					2275					2280			
Arg	His	Lys	Phe	Pro	Pro	Ala	Leu	Pro	Ile	Trp	Ala	Arg	Pro	Asp
	2285					2290					2295			
Tyr	Asn	Pro	Pro	Leu	Ile	Gln	Ala	Trp	Gln	Met	Pro	Gly	Tyr	Glu
	2300					2305					2310			
Pro	Pro	Val	Val	Ser	Gly	Cys	Ala	Val	Ala	Pro	Pro	Lys	Pro	Ala
	2315					2320					2325			
Pro	Ile	Pro	Pro	Pro	Arg	Arg	Lys	Arg	Leu	Val	His	Leu	Asp	Glu
	2330					2335					2340			
Ser	Thr	Val	Ser	His	Ala	Leu	Ala	Gln	Leu	Ala	Asp	Lys	Val	Phe
	2345					2350					2355			
Val	Glu	Ser	Ser	Asp	Gly	Pro	Gly	Pro	Ser	Ser	Asp	Ser	Gly	Leu
	2360					2365					2370			
Ser	Ile	Thr	Ser	Pro	Val	Pro	Pro	Thr	Pro	Thr	Thr	Pro	Asp	Asp
	2375					2380					2385			
Ala	Cys	Ser	Glu	Ala	Glu	Ser	Tyr	Ser	Ser	Met	Pro	Pro	Leu	Glu
	2390					2395					2400			
Gly	Glu	Pro	Gly	Asp	Pro	Asp	Leu	Ser	Ser	Gly	Ser	Trp	Ser	Thr
	2405					2410					2415			
Val	Ser	Asp	Gln	Asp	Asp	Val	Val	Cys	Cys	Ser	Met	Ser	Tyr	Ser
	2420					2425					2430			
Trp	Thr	Gly	Ala	Leu	Ile	Thr	Pro	Cys	Ala	Ala	Glu	Glu	Glu	Lys
	2435					2440					2445			
Leu	Pro	Ile	Asn	Pro	Leu	Ser	Asn	Ser	Leu	Ile	Arg	His	His	Asn
	2450					2455					2460			
Met	Val	Tyr	Ser	Thr	Thr	Ser	Arg	Ser	Ala	Ser	Leu	Arg	Gln	Lys
	2465					2470					2475			
Lys	Val	Thr	Phe	Asp	Arg	Val	Gln	Val	Phe	Asp	Gln	His	Tyr	Gln
	2480					2485					2490			
Glu	Val	Leu	Lys	Glu	Ile	Lys	Leu	Arg	Ala	Ser	Thr	Val	Gln	Ala
	2495					2500					2505			
Lys	Leu	Leu	Ser	Ile	Glu	Glu	Ala	Cys	Asp	Leu	Thr	Pro	Ser	His
	2510					2515					2520			
Ser	Ala	Arg	Ser	Lys	Tyr	Gly	Tyr	Gly	Ala	Lys	Asp	Val	Arg	Ser
	2525					2530					2535			

SequenceListing[1].TXT

His	Ala	Ser	Lys	Ala	Val	Asp	His	Ile	Arg	Ser	Val	Trp	Glu	Asp
	2540					2545					2550			
Leu	Leu	Glu	Asp	Ser	Asp	Thr	Pro	Ile	Pro	Thr	Thr	Ile	Met	Ala
	2555					2560					2565			
Lys	Asn	Glu	Val	Phe	Cys	Val	Asp	Pro	Ser	Lys	Gly	Gly	Arg	Lys
	2570					2575					2580			
Pro	Ala	Arg	Leu	Ile	Val	Phe	Pro	Asp	Leu	Gly	Val	Arg	Val	Cys
	2585					2590					2595			
Glu	Lys	Met	Ala	Leu	Tyr	Asp	Val	Thr	Arg	Lys	Leu	Pro	Gln	Ala
	2600					2605					2610			
Val	Met	Gly	Pro	Ala	Tyr	Gly	Phe	Gln	Tyr	Ser	Pro	Asn	Gln	Arg
	2615					2620					2625			
Val	Glu	Tyr	Leu	Leu	Lys	Met	Trp	Arg	Ser	Lys	Lys	Val	Pro	Met
	2630					2635					2640			
Gly	Phe	Ser	Tyr	Asp	Thr	Arg	Cys	Phe	Asp	Ser	Thr	Val	Thr	Glu
	2645					2650					2655			
Arg	Asp	Ile	Arg	Thr	Glu	Asn	Glu	Ile	Tyr	Gln	Ser	Cys	Gln	Leu
	2660					2665					2670			
Asp	Pro	Met	Ala	Arg	Lys	Ala	Val	Ser	Ser	Leu	Thr	Glu	Arg	Leu
	2675					2680					2685			
Tyr	Val	Gly	Gly	Pro	Met	Val	Asn	Ser	Lys	Gly	Gln	Ser	Cys	Gly
	2690					2695					2700			
Tyr	Arg	Arg	Cys	Arg	Ala	Ser	Gly	Val	Leu	Pro	Thr	Ser	Met	Gly
	2705					2710					2715			
Asn	Thr	Leu	Thr	Cys	Tyr	Leu	Lys	Ala	Gln	Ala	Ala	Cys	Arg	Ala
	2720					2725					2730			
Ala	Asn	Ile	Lys	Asp	Tyr	Asp	Met	Leu	Val	Cys	Gly	Asp	Asp	Leu
	2735					2740					2745			
Val	Val	Ile	Cys	Glu	Ser	Ala	Gly	Val	Gln	Glu	Asp	Thr	Ala	Ser
	2750					2755					2760			
Leu	Arg	Ala	Phe	Thr	Asp	Ala	Met	Thr	Arg	Tyr	Ser	Ala	Pro	Pro
	2765					2770					2775			
Gly	Asp	Ala	Pro	Gln	Pro	Thr	Tyr	Asp	Leu	Glu	Leu	Ile	Thr	Ser
	2780					2785					2790			
Cys	Ser	Ser	Asn	Val	Ser	Val	Ala	His	Asp	Gly	Asn	Gly	Lys	Arg
	2795					2800					2805			
Tyr	Tyr	Tyr	Leu	Thr	Arg	Asp	Cys	Thr	Thr	Pro	Leu	Ala	Arg	Ala
	2810					2815					2820			

SequenceListing[1].TXT

Ala Trp Glu Thr Ala Arg His Thr Pro Val Asn Ser Trp Leu Gly
 2825 2830 2835

Asn Ile Ile Met Phe Ala Pro Thr Ile Trp Val Arg Met Val Leu
 2840 2845 2850

Met Thr His Phe Phe Ser Ile Leu Gln Ser Gln Glu Gln Leu Glu
 2855 2860 2865

Lys Ala Leu Asp Phe Asp Ile Tyr Gly Val Thr Tyr Ser Val Ser
 2870 2875 2880

Pro Leu Asp Leu Pro Ala Ile Ile Gln Arg Leu His Gly Met Ala
 2885 2890 2895

Ala Phe Ser Leu His Gly Tyr Ser Pro Val Glu Leu Asn Arg Val
 2900 2905 2910

Gly Ala Cys Leu Arg Lys Leu Gly Ala Pro Pro Leu Arg Ala Trp
 2915 2920 2925

Arg His Arg Ala Arg Ala Val Arg Ala Lys Leu Ile Ala Gln Gly
 2930 2935 2940

Gly Lys Ala Ala Ile Cys Gly Lys Tyr Leu Phe Asn Trp Ala Val
 2945 2950 2955

Lys Thr Lys Leu Lys Leu Thr Pro Leu Ala Ser Ala Ser Lys Leu
 2960 2965 2970

Asp Leu Ser Asp Trp Phe Val Ala Gly Tyr Asp Gly Gly Asp Ile
 2975 2980 2985

Tyr His Ser Val Ser Leu Ala Arg Pro Arg Leu Leu Leu Leu Gly
 2990 2995 3000

u Leu Leu Leu Thr Val Gly Val Gly Ile Phe Leu Leu Pro Ala
 3005 3010 3015

Arg

<210> 10
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> HC-1 Heavy Chain CDR1

<400> 10

Gly Gly Thr Tyr Asn Ser Glu Val
 1 5

<210> 11
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

SequenceListing[1].TXT

<220>

<223> HC-1 Heavy Chain CDR2

<400> 11

Phe Ile Pro Met Phe Gly Thr Ala
1 5

<210> 12

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> HC-1 Heavy Chain CDR3

<400> 12

Ala Lys Val Leu Gln Val Gly Gly Asn Leu Val Val Arg Pro Leu
1 5 10 15

<210> 13

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> HC-3 Heavy Chain CDR1

<400> 13

Gly Phe Ser Leu Ser Thr Thr Gly Val Gly
1 5 10

<210> 14

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> HC-3 Heavy Chain CDR2

<400> 14

Phe Tyr Trp Asp Asp Asp Lys
5

<210> 15

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> HC-3 Heavy Chain CDR3

<400> 15

Ala Leu Asn Ser Tyr Arg Ser Gly Thr Ile Leu Tyr Arg Glu Leu Glu
1 5 10 15Leu Arg Gly Leu Phe Tyr Ile
20

<210> 16

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

SequenceListing[1].TXT

<220>

<223> HC-11 Heavy Chain CDR1

<400> 16

Gly Ala Thr Phe Ser Ser Phe Ile
1 5

<210> 17

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> HC-11 Heavy Chain CDR2

<400> 17

Ile Ile Pro Met Phe Gly Thr Ala
1 5

<210> 18

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> HC-11 Heavy Chain CDR3

<400> 18

Ala Met Glu Val Pro Phe Gly Cys Arg Gly Gly Ser Cys Ser Gly Tyr
1 5 10 15

Met Asp Val

<210> 19

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> CBH-23 Heavy Chain CDR1

<400> 19

Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Ala
1 5

<210> 20

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> CBH-23 Heavy Chain CDR2

<400> 20

Ile Val Pro Met Phe Gly Thr Glu
1 5

<210> 21

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

SequenceListing[1].TXT
<223> CBH-23 Heavy Chain CDR3

<400> 21

Ala Arg His Glu Asn Ile Tyr Gly Thr Pro Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 22

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> HC-1 Light Chain CDR1

<400> 22

Gln Thr Ile Ser Ser Thr His
1 5

<210> 23

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> HC-1 Light Chain CDR3

<400> 23

His Gln Tyr Gly Asn Ser Pro Gln Thr
1 5

<210> 24

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> HC-3 Light Chain CDR1

<400> 24

Gln Ser Ile Ser Ser Trp
1 5

<210> 25

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> HC-3 Light Chain CDR3

<400> 25

Gln Gln Tyr Glu Ser Ser Ser Trp Thr
1 5

<210> 26

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> HC-11 Light Chain CDR1

<400> 26

His Ser Val Ser Ser Ser Asn

SequenceListing[1].TXT

1

5

<210> 27
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> HC-11 Light Chain CDR3

<400> 27

Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Ile Thr
 1 5

<210> 28
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> CBH-23 Light Chain CDR1

<400> 28

His Ser Ile Thr Arg Tyr
 1 5

<210> 29
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> CBH-23 Light Chain CDR3

<400> 29

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Leu Leu Thr
 1 5

HCVpp								
HMAbs	1a	1b	2A	2B	3A	4	5	6
HC-1	+	+	+	+	+	+	+	+
HC-3	+	+	+	+	+	+	+	+
HC-11	+	+	+	+	+	+	+	+
CBH-23	+	+	+	+	+	+	+	+
RO4	--	--	--	--	--	--	--	--

a: Indirect immunofluorescent assay against E1E2 transfected 293T cells

FIG. 1

Heavy Chain

	<u>CDR1</u>	<u>CDR2</u>	<u>CDR3</u>
HC-1	GGTYNSEV	FIPMFGTA	AKVLQVGGNLVVRPL
HC-3	GFSLSTTGVG	IYWDDDK	ALNSYRSGTILYRELELRGLFYI
HC-11	GATFSSFI	IIPMFGTA	AMEVPGFCRGGSCSGYMDV
CBH-23	GGTFSSYA	IVPMFGTE	ARHENIYGTPFDY

Light Chain

	<u>CDR1</u>	<u>CDR2</u>	<u>CDR3</u>
HC-1	QTISSTH	GVS	HQYGNSPQT
HC-3	QSISSW	ESS	QQYESSSWT
HC-11	HSVSSSN	GAS	QQYGSSPIT
CBH-23	HSITRY	AAS	QQSYSTLLT

FIG. 2

	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4
HC-1	--	+++	--	--
HC-3	+++	--	--	--
HC-11	+++	--	--	--
CBH-23	+++	--	--	--

FIG. 3

HMAb	HCVpp ^a						HCVcc ^b			
	1a	1b	2a	2b	3a	4	5	6	1a	2a
HC-1	86 ^c	78	38	41	39	29	58	48	95	100
HC-3	70	18	NA ^d	NA	NA	NA	NA	NA	NA	100
HC-11	90	87	58	52	37	52	11	45	90	100
CBH-23	82	40	42	25	21	20	7	-10	NA	85
RO4	5	5	0	4	2	0	0	0	0	0

^a: HCVpp is HCV pseudoparticles
^b: HCVcc is cell cultured infectious HCV virions
^c: Number is percent neutralization
^d: Not available

FIG. 4

5/11

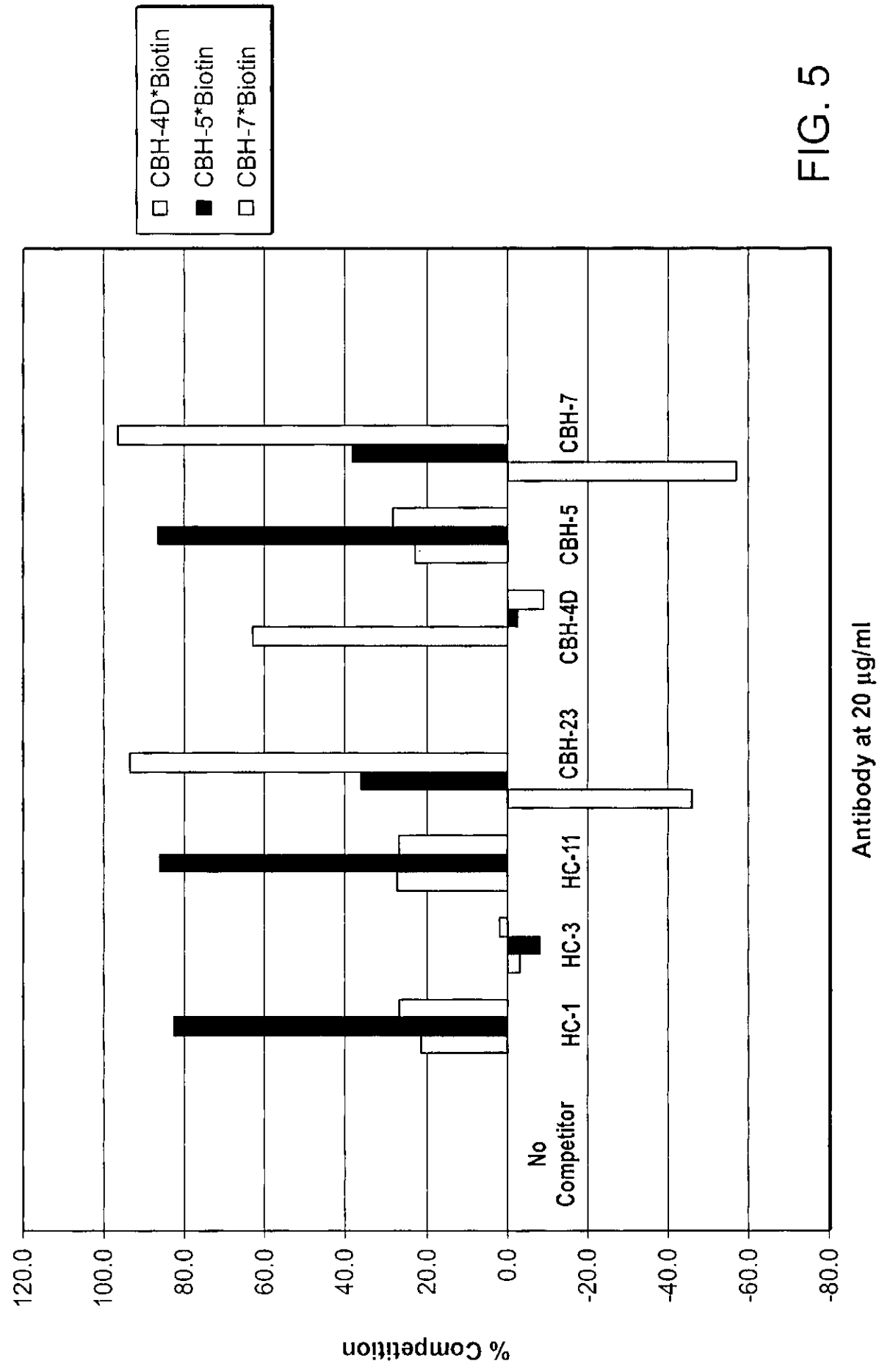


FIG. 5

6/11

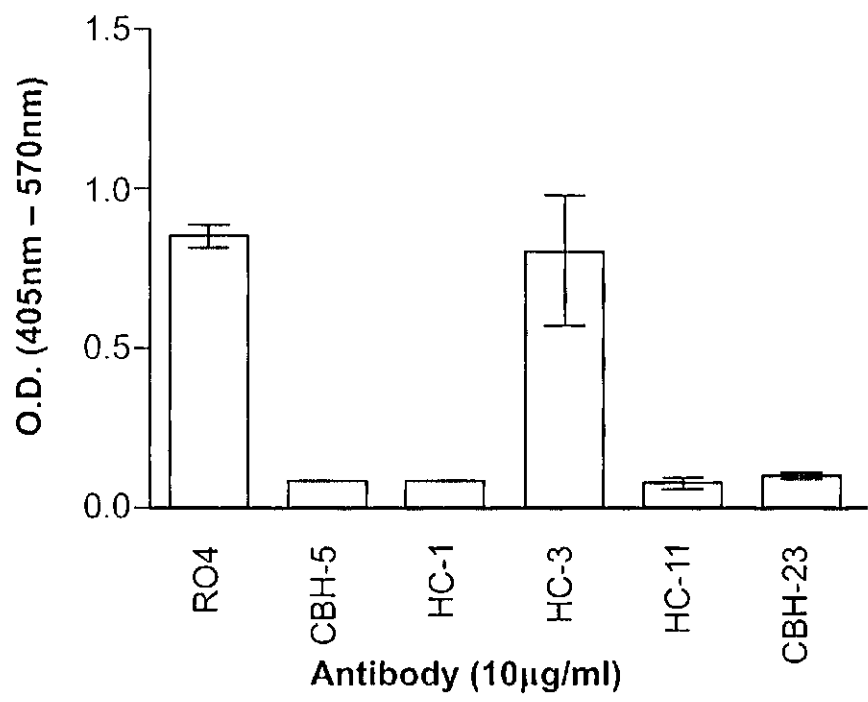


FIG. 6

7/11

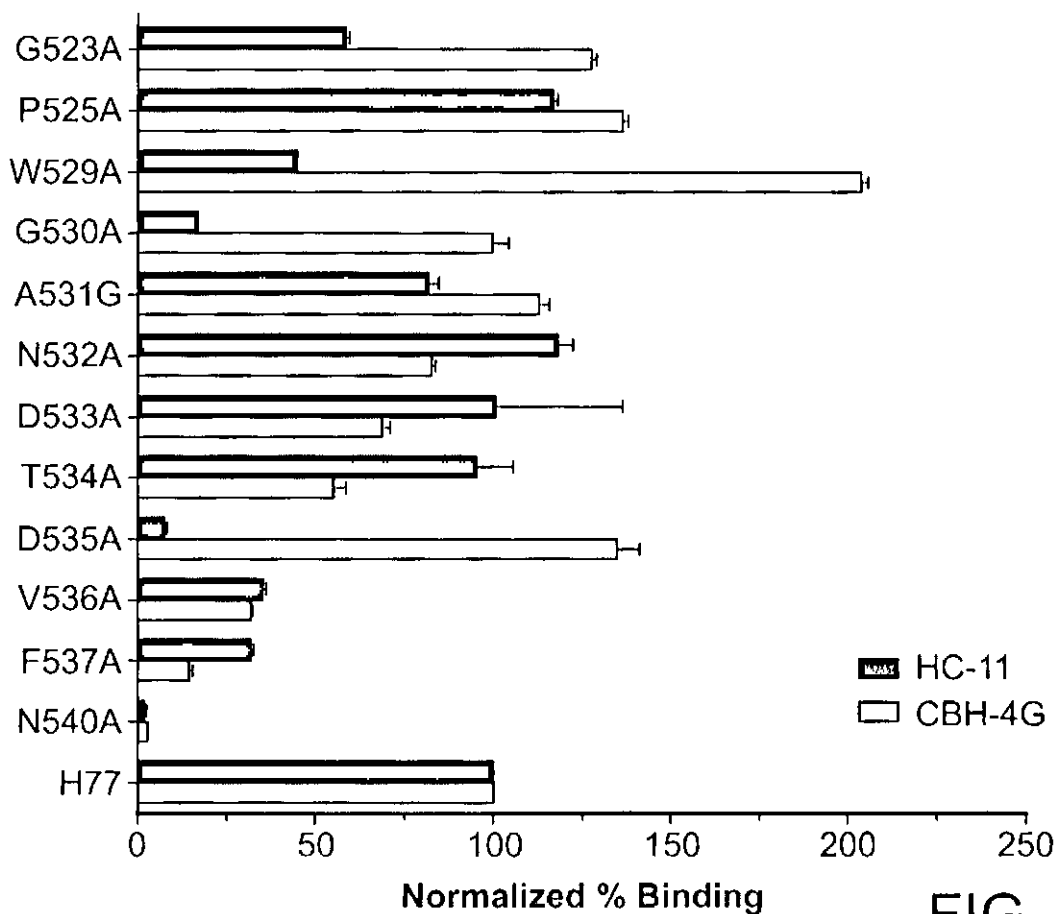
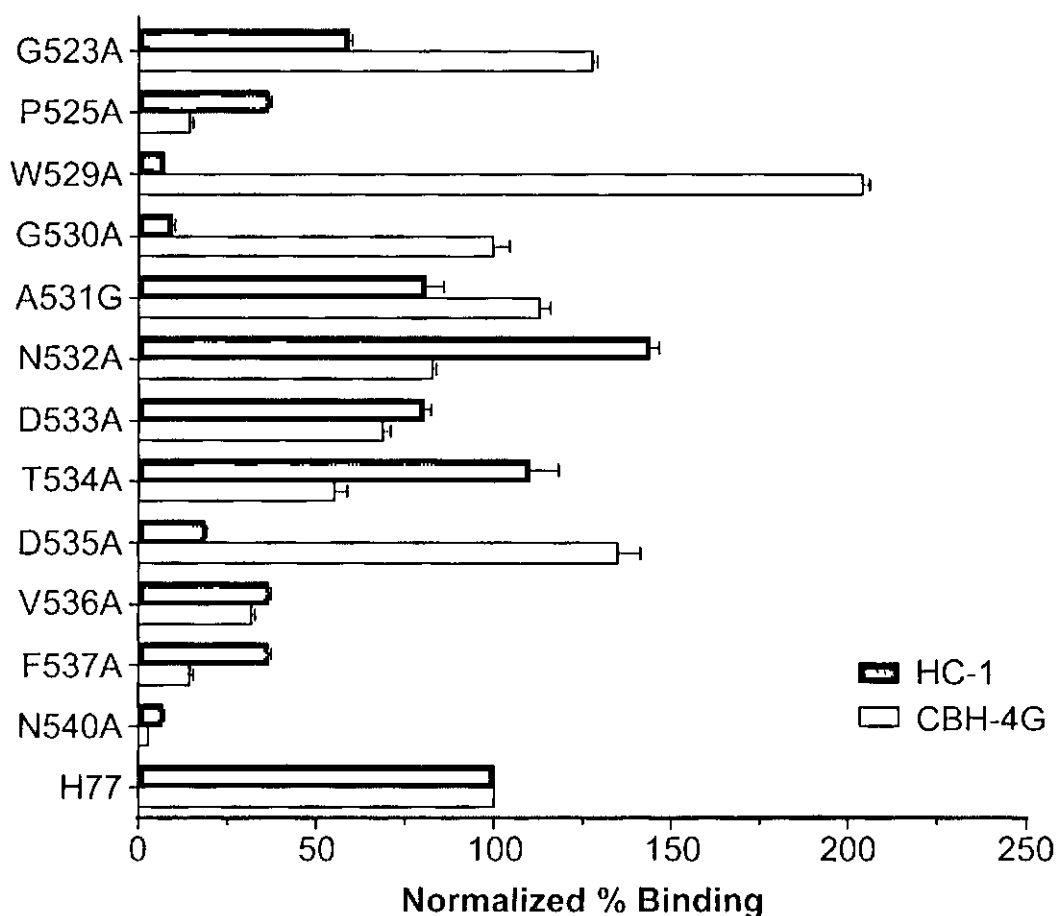
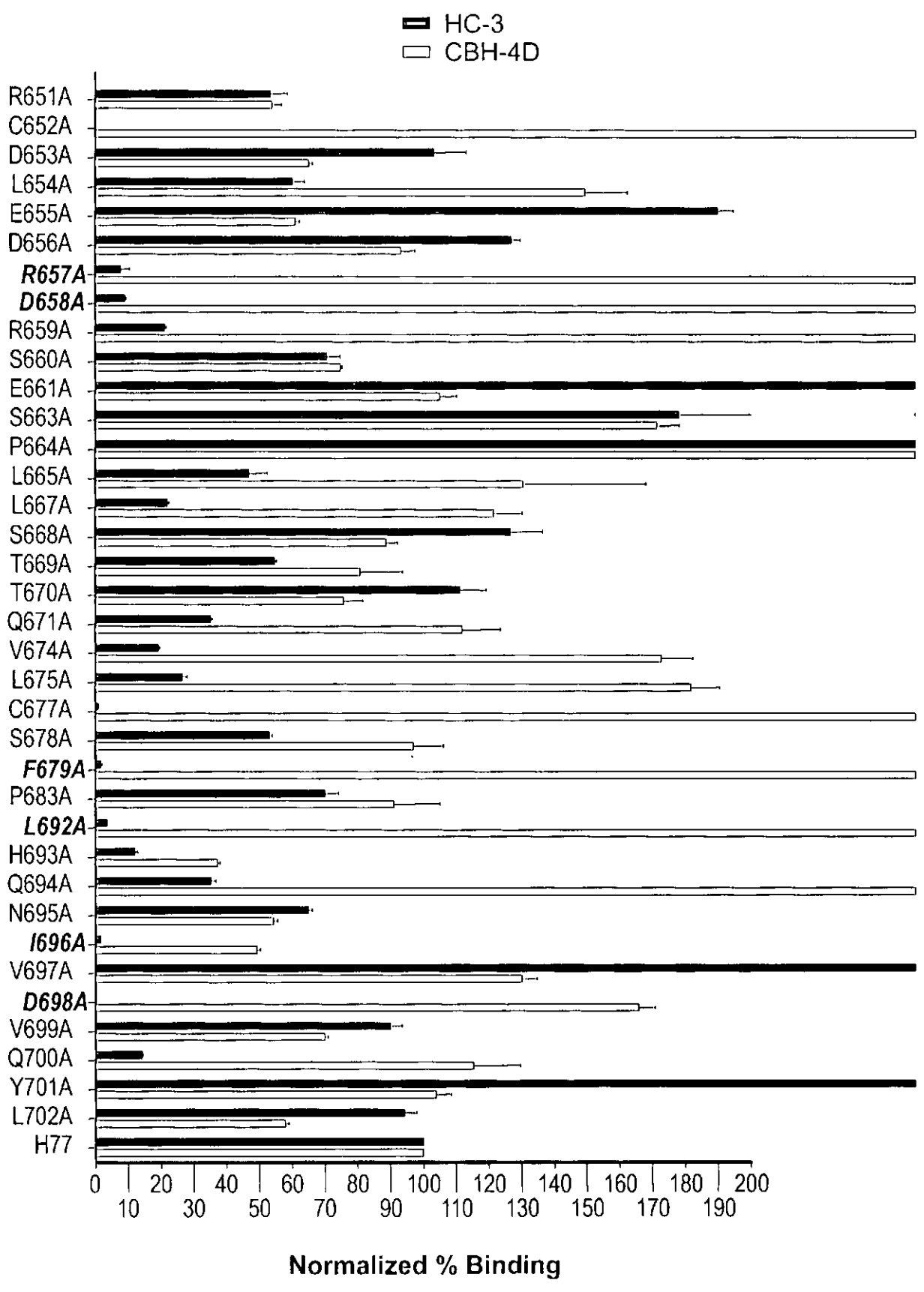


FIG. 7

8/11

FIG. 8



9/11

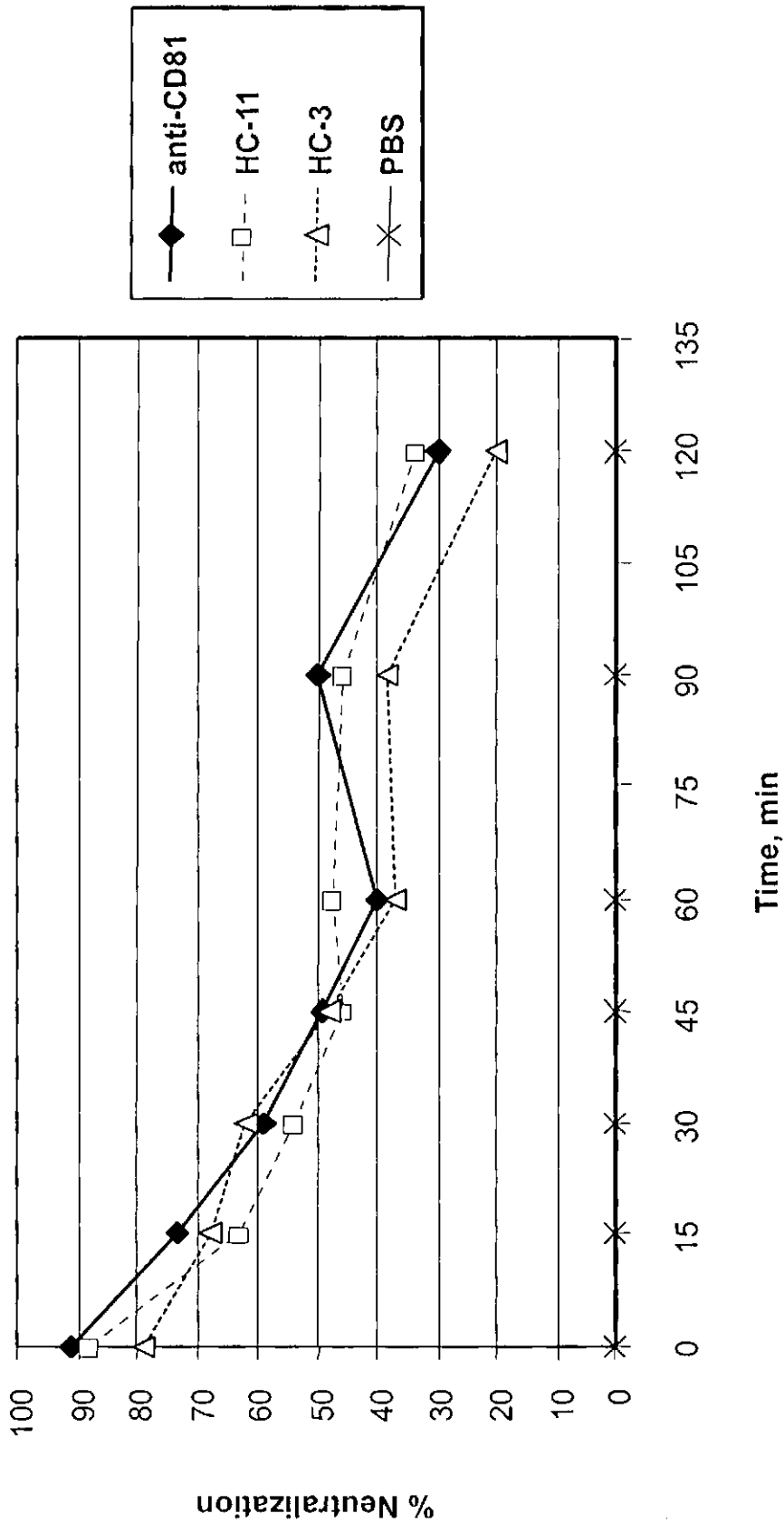


FIG. 9

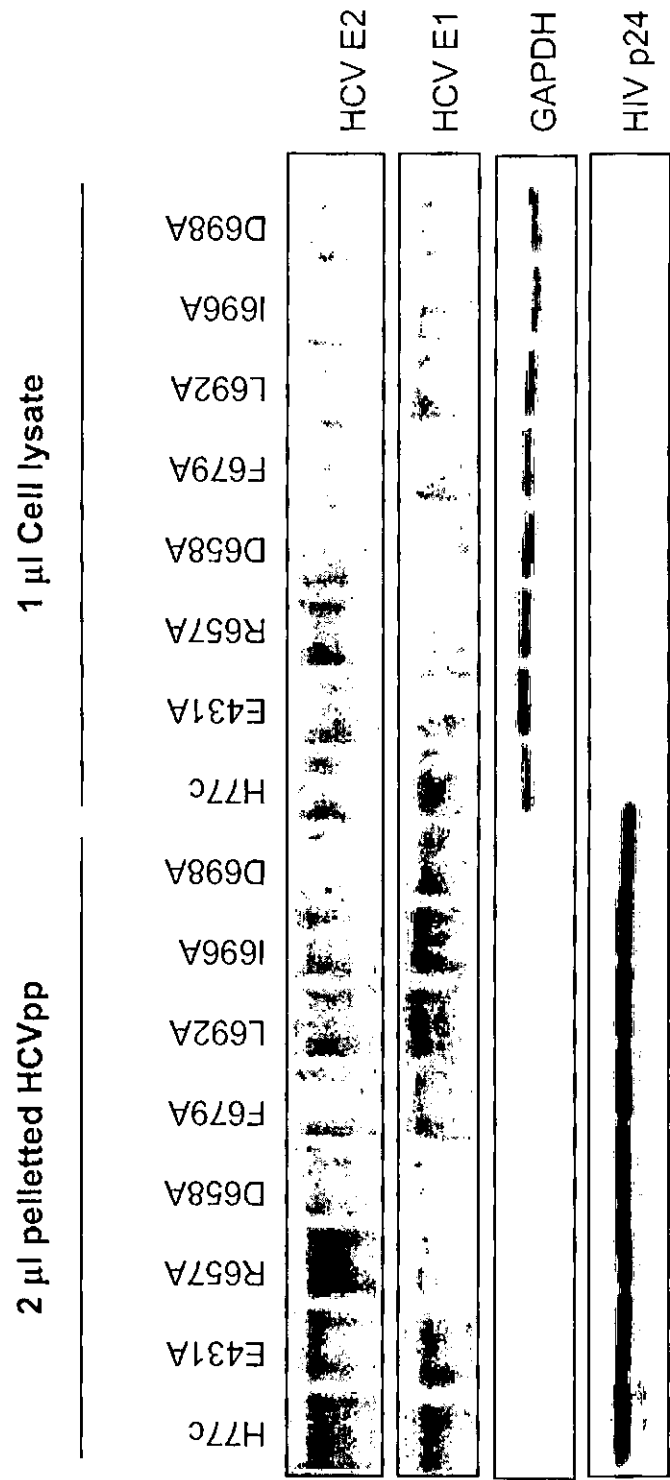


FIG. 10

11/11

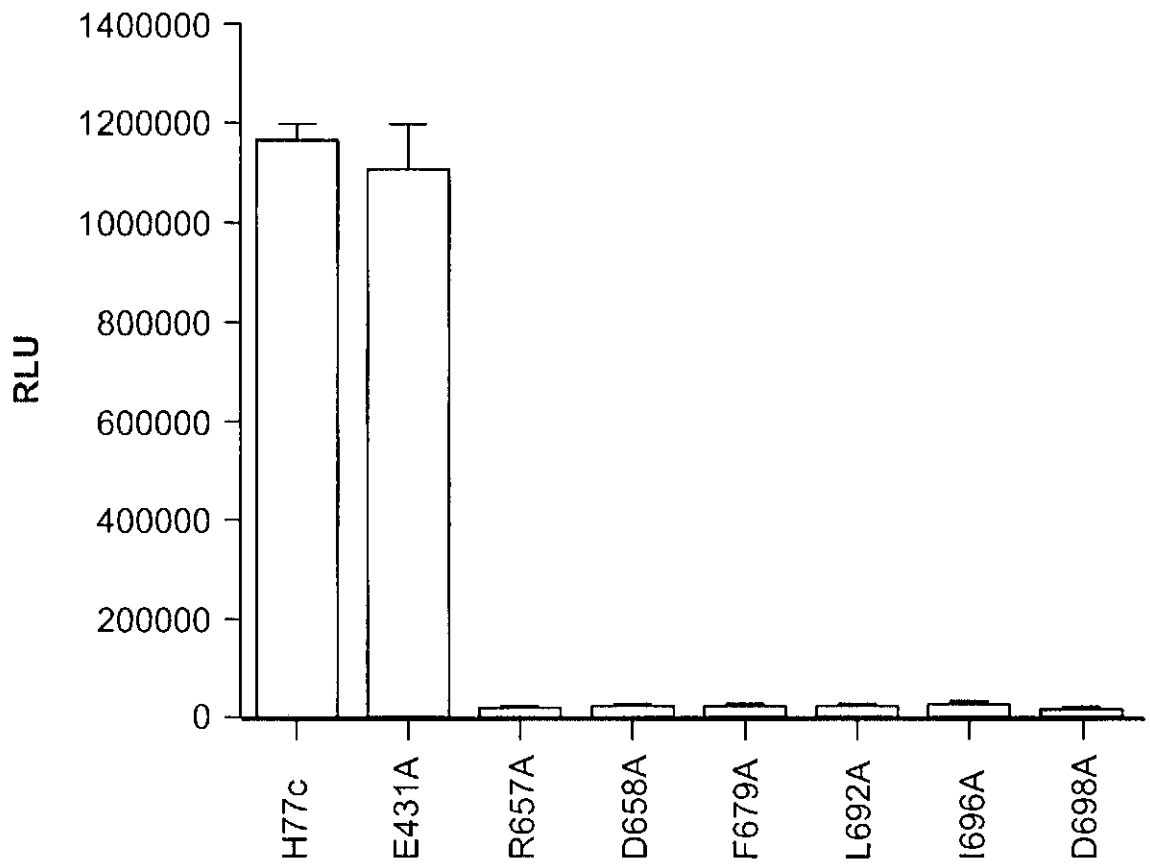


FIG. 11

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Founq, Steven K.H.
 5 <120> Anticuerpos de Hepatitis C y sus usos
 <130> 2002850-0058 (S07-168)
 <140> PCT/US 08/078884
 10 <141> 2008-10-05
 <160> 29
 <170> PatentIn version 3.5
 15 <210> 1
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 20 <220>
 <223> Epítopo FLAG
 <400> 1
 25 Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
 1 5
 <210> 2
 30 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 35 <223> Secuencia de etiqueta T7
 <400> 2
 Met Ala Ser Met Thr Gly Gly Gln Met Gly
 40 1 5 10
 <210> 3
 <211> 15
 <212> PRT
 45 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Secuencia de etiqueta S
 50 <400> 3

Lys Glu Thr Ala Ala Ala Lys Phe Glu Arg Gln His Met Asp Ser
 1 5 10 15
 <210> 4
 5 <211> 3011
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 10 <223> GenBank AAB67038 VCH 1a (H77)
 <400> 4
 Met Ser Thr Asn Pro Lys Pro Gln Arg Lys Thr Lys Arg Asn Thr Asn
 15 1 5 10 15
 Arg Arg Pro Gln Asp Val Lys Phe Pro Gly Gly Gly Gln Ile Val Gly
 20 20 25 30
 Gly Val Tyr Leu Leu Pro Arg Arg Gly Pro Arg Leu Gly Val Arg Ala
 35 40 45
 Thr Arg Lys Thr Ser Glu Arg Ser Gln Pro Arg Gly Arg Arg Gln Pro
 50 55 60
 25 Ile Pro Lys Ala Arg Arg Pro Glu Gly Arg Thr Trp Ala Gln Pro Gly
 65 70 75 80
 Tyr Pro Trp Pro Leu Tyr Gly Asn Glu Gly Cys Gly Trp Ala Gly Trp
 30 85 90 95
 Leu Leu Ser Pro Arg Gly Ser Arg Pro Ser Trp Gly Pro Thr Asp Pro
 100 105 110
 35 Arg Arg Arg Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Ile Asp Thr Leu Thr Cys
 115 120 125
 Gly Phe Ala Asp Leu Met Gly Tyr Ile Pro Leu Val Gly Ala Pro Leu
 130 135 140
 40 Gly Gly Ala Ala Arg Ala Leu Ala His Gly Val Arg Val Leu Glu Asp
 145 150 155 160
 Gly Val Asn Tyr Ala Thr Gly Asn Leu Pro Gly Cys Ser Phe Ser Ile
 45 165 170 175
 Phe Leu Leu Ala Leu Leu Ser Cys Leu Thr Val Pro Ala Ser Ala Tyr
 180 185 190
 50 Gln Val Arg Asn Ser Ser Gly Leu Tyr His Val Thr Asn Asp Cys Pro
 195 200 205

	Asn	Ser	Ser	Ile	Val	Tyr	Glu	Ala	Ala	Asp	Ala	Ile	Leu	His	Thr	Pro
	210						215					220				
5	Gly	Cys	Val	Pro	Cys	Val	Arg	Glu	Gly	Asn	Ala	Ser	Arg	Cys	Trp	Val
	225					230					235					240
	Ala	Val	Thr	Pro	Thr	Val	Ala	Thr	Arg	Asp	Gly	Lys	Leu	Pro	Thr	Thr
					245					250					255	
10	Gln	Leu	Arg	Arg	His	Ile	Asp	Leu	Leu	Val	Gly	Ser	Ala	Thr	Leu	Cys
				260					265					270		
	Ser	Ala	Leu	Tyr	Val	Gly	Asp	Leu	Cys	Gly	Ser	Val	Phe	Leu	Val	Gly
			275					280					285			
15	Gln	Leu	Phe	Thr	Phe	Ser	Pro	Arg	Arg	His	Trp	Thr	Thr	Gln	Asp	Cys
		290					295					300				
20	Asn	Cys	Ser	Ile	Tyr	Pro	Gly	His	Ile	Thr	Gly	His	Arg	Met	Ala	Trp
	305					310					315					320
	Asp	Met	Met	Met	Asn	Trp	Ser	Pro	Thr	Ala	Ala	Leu	Val	Val	Ala	Gln
					325					330					335	
25	Leu	Leu	Arg	Ile	Pro	Gln	Ala	Ile	Met	Asp	Met	Ile	Ala	Gly	Ala	His
				340					345					350		
	Trp	Gly	Val	Leu	Ala	Gly	Ile	Ala	Tyr	Phe	Ser	Met	Val	Gly	Asn	Trp
			355					360					365			
30	Ala	Lys	Val	Leu	Val	Val	Leu	Leu	Leu	Phe	Ala	Gly	Val	Asp	Ala	Glu
		370					375					380				
	Thr	His	Val	Thr	Gly	Gly	Asn	Ala	Gly	Arg	Thr	Thr	Ala	Gly	Leu	Val
35	385					390					395					400
	Gly	Leu	Leu	Thr	Pro	Gly	Ala	Lys	Gln	Asn	Ile	Gln	Leu	Ile	Asn	Thr
					405					410					415	
40	Asn	Gly	Ser	Trp	His	Ile	Asn	Ser	Thr	Ala	Leu	Asn	Cys	Asn	Glu	Ser
				420					425					430		
	Leu	Asn	Thr	Gly	Trp	Leu	Ala	Gly	Leu	Phe	Tyr	Gln	His	Lys	Phe	Asn
			435					440					445			
45	Ser	Ser	Gly	Cys	Pro	Glu	Arg	Leu	Thr	Ser	Cys	Arg	Arg	Leu	Thr	Asp
		450					455					460				
	Phe	Ala	Gln	Gly	Trp	Gly	Pro	Ile	Ser	Tyr	Ala	Asn	Gly	Ser	Gly	Leu
50	465					470					475					480

	Asp	Glu	Arg	Pro	Tyr	Cys	Trp	His	Tyr	Pro	Pro	Arg	Pro	Cys	Gly	Ile
					485					490					495	
5	Val	Pro	Ala	Lys	Ser	Val	Cys	Gly	Pro	Val	Tyr	Cys	Phe	Thr	Pro	Ser
				500					505					510		
	Pro	Val	Val	Val	Gly	Thr	Thr	Asp	Arg	Ser	Gly	Ala	Pro	Thr	Tyr	Ser
			515					520					525			
10	Trp	Gly	Ala	Asn	Asp	Thr	Asp	Val	Phe	Val	Leu	Asn	Asn	Thr	Arg	Pro
		530					535					540				
	Pro	Leu	Gly	Asn	Trp	Phe	Gly	Cys	Thr	Trp	Met	Asn	Ser	Thr	Gly	Phe
	545					550					555					560
15	Thr	Lys	Val	Cys	Gly	Ala	Pro	Pro	Cys	Val	Ile	Gly	Gly	Val	Gly	Asn
					565					570					575	
	Asn	Thr	Leu	Leu	Cys	Pro	Thr	Asp	Cys	Phe	Arg	Lys	His	Pro	Glu	Ala
20				580					585					590		
	Thr	Tyr	Ser	Arg	Cys	Gly	Ser	Gly	Pro	Trp	Ile	Thr	Pro	Arg	Cys	Met
			595					600					605			
25	Val	Asp	Tyr	Pro	Tyr	Arg	Leu	Trp	His	Tyr	Pro	Cys	Thr	Ile	Asn	Tyr
		610					615					620				
	Thr	Ile	Phe	Lys	Val	Arg	Met	Tyr	Val	Gly	Gly	Val	Glu	His	Arg	Leu
	625					630					635					640
30	Glu	Ala	Ala	Cys	Asn	Trp	Thr	Arg	Gly	Glu	Arg	Cys	Asp	Leu	Glu	Asp
					645					650					655	
	Arg	Asp	Arg	Ser	Glu	Leu	Ser	Pro	Leu	Leu	Leu	Ser	Thr	Thr	Gln	Trp
35				660					665					670		
	Gln	Val	Leu	Pro	Cys	Ser	Phe	Thr	Thr	Leu	Pro	Ala	Leu	Ser	Thr	Gly
			675					680					685			
40	Leu	Ile	His	Leu	His	Gln	Asn	Ile	Val	Asp	Val	Gln	Tyr	Leu	Tyr	Gly
		690					695					700				
	Val	Gly	Ser	Ser	Ile	Ala	Ser	Trp	Ala	Ile	Lys	Trp	Glu	Tyr	Val	Val
	705					710					715					720
45	Leu	Leu	Phe	Leu	Leu	Leu	Ala	Asp	Ala	Arg	Val	Cys	Ser	Cys	Leu	Trp
					725					730					735	
	Met	Met	Leu	Leu	Ile	Ser	Gln	Ala	Glu	Ala	Ala	Leu	Glu	Asn	Leu	Val
50				740					745					750		

	Ile	Leu	Asn	Ala	Ala	Ser	Leu	Ala	Gly	Thr	His	Gly	Leu	Val	Ser	Phe	
			755					760					765				
5	Leu	Val	Phe	Phe	Cys	Phe	Ala	Trp	Tyr	Leu	Lys	Gly	Arg	Trp	Val	Pro	
		770					775					780					
	Gly	Ala	Ala	Tyr	Ala	Phe	Tyr	Gly	Met	Trp	Pro	Leu	Leu	Leu	Leu	Leu	
	785					790					795					800	
10	Leu	Ala	Leu	Pro	Gln	Arg	Ala	Tyr	Ala	Leu	Asp	Thr	Glu	Val	Ala	Ala	
					805					810					815		
	Ser	Cys	Gly	Gly	Val	Val	Leu	Val	Gly	Leu	Met	Ala	Leu	Thr	Leu	Ser	
				820					825					830			
15	Pro	Tyr	Tyr	Lys	Arg	Tyr	Ile	Ser	Trp	Cys	Met	Trp	Trp	Leu	Gln	Tyr	
			835					840					845				
	Phe	Leu	Thr	Arg	Val	Glu	Ala	Gln	Leu	His	Val	Trp	Val	Pro	Pro	Leu	
20		850					855					860					
	Asn	Val	Arg	Gly	Gly	Arg	Asp	Ala	Val	Ile	Leu	Leu	Met	Cys	Val	Val	
	865					870					875					880	
25	His	Pro	Thr	Leu	Val	Phe	Asp	Ile	Thr	Lys	Leu	Leu	Leu	Ala	Ile	Phe	
					885					890					895		
	Gly	Pro	Leu	Trp	Ile	Leu	Gln	Ala	Ser	Leu	Leu	Lys	Val	Pro	Tyr	Phe	
				900					905					910			
30	Val	Arg	Val	Gln	Gly	Leu	Leu	Arg	Ile	Cys	Ala	Leu	Ala	Arg	Lys	Ile	
			915					920					925				
	Ala	Gly	Gly	His	Tyr	Val	Gln	Met	Ala	Ile	Ile	Lys	Leu	Gly	Ala	Leu	
35		930					935					940					
	Thr	Gly	Thr	Tyr	Val	Tyr	Asn	His	Leu	Thr	Pro	Leu	Arg	Asp	Trp	Ala	
	945					950					955					960	
40	His	Asn	Gly	Leu	Arg	Asp	Leu	Ala	Val	Ala	Val	Glu	Pro	Val	Val	Phe	
					965					970					975		
	Ser	Arg	Met	Glu	Thr	Lys	Leu	Ile	Thr	Trp	Gly	Ala	Asp	Thr	Ala	Ala	
				980					985					990			
45	Cys	Gly	Asp	Ile	Ile	Asn	Gly	Leu	Pro	Val	Ser	Ala	Arg	Arg	Gly	Gln	
			995					1000					1005				
	Glu	Ile	Leu	Leu	Gly	Pro	Ala	Asp	Gly	Met	Val	Ser	Lys	Gly	Trp		
50		1010					1015					1020					

	Arg	Leu	Gln	Ala	Pro	Ile	Thr	Ala	Tyr	Thr	Gln	Gln	Thr	Arg	Gly
	1025						1030					1035			
5	Leu	Leu	Gly	Cys	Ile	Ile	Thr	Ser	Leu	Thr	Gly	Arg	Asp	Lys	Asn
	1040						1045					1050			
	Gln	Val	Glu	Gly	Glu	Val	Gln	Ile	Val	Ser	Thr	Ala	Thr	Gln	Thr
	1055						1060					1065			
10	Phe	Leu	Ala	Thr	Cys	Ile	Asn	Gly	Val	Cys	Trp	Thr	Val	Tyr	His
	1070						1075					1080			
	Gly	Ala	Gly	Thr	Arg	Thr	Ile	Ala	Ser	Pro	Lys	Gly	Pro	Val	Ile
	1085						1090					1095			
15	Gln	Met	Tyr	Thr	Asn	Val	Asp	Gln	Asp	Leu	Val	Gly	Trp	Pro	Ala
	1100						1105					1110			
	Pro	Gln	Gly	Ser	Arg	Ser	Leu	Ala	Pro	Cys	Thr	Cys	Gly	Ser	Ser
20	1115						1120					1125			
	Asp	Leu	Tyr	Leu	Val	Thr	Arg	His	Ala	Asp	Val	Ile	Pro	Val	Arg
	1130						1135					1140			
25	Arg	Arg	Gly	Asp	Ser	Arg	Gly	Ser	Leu	Leu	Ser	Pro	Arg	Pro	Ile
	1145						1150					1155			
	Ser	Tyr	Leu	Lys	Gly	Ser	Ser	Gly	Gly	Pro	Leu	Leu	Cys	Pro	Ala
	1160						1165					1170			
30	Gly	His	Ala	Val	Gly	Leu	Phe	Arg	Ala	Ala	Val	Cys	Thr	Arg	Gly
	1175						1180					1185			
	Val	Ala	Lys	Ala	Val	Asp	Phe	Ile	Pro	Val	Glu	Asn	Leu	Gly	Thr
35	1190						1195					1200			
	Thr	Met	Arg	Ser	Pro	Val	Phe	Thr	Asp	Asn	Ser	Ser	Pro	Pro	Ala
	1205						1210					1215			
40	Val	Pro	Gln	Ser	Phe	Gln	Val	Ala	His	Leu	His	Ala	Pro	Thr	Gly
	1220						1225					1230			
	Ser	Gly	Lys	Ser	Thr	Lys	Val	Pro	Ala	Ala	Tyr	Ala	Ala	Gln	Gly
	1235						1240					1245			
45	Tyr	Lys	Val	Leu	Val	Leu	Asn	Pro	Ser	Val	Ala	Ala	Thr	Leu	Gly
	1250						1255					1260			
	Phe	Gly	Ala	Tyr	Met	Ser	Lys	Ala	His	Gly	Val	Asp	Pro	Asn	Ile
50	1265						1270					1275			

	Arg	Thr	Gly	Val	Arg	Thr	Ile	Thr	Thr	Gly	Ser	Pro	Ile	Thr	Tyr
	1280						1285					1290			
5	Ser	Thr	Tyr	Gly	Lys	Phe	Leu	Ala	Asp	Gly	Gly	Cys	Ser	Gly	Gly
	1295						1300					1305			
	Ala	Tyr	Asp	Ile	Ile	Ile	Cys	Asp	Glu	Cys	His	Ser	Thr	Asp	Ala
	1310						1315					1320			
10	Thr	Ser	Ile	Leu	Gly	Ile	Gly	Thr	Val	Leu	Asp	Gln	Ala	Glu	Thr
	1325						1330					1335			
	Ala	Gly	Ala	Arg	Leu	Val	Val	Leu	Ala	Thr	Ala	Thr	Pro	Pro	Gly
15	1340						1345					1350			
	Ser	Val	Thr	Val	Ser	His	Pro	Asn	Ile	Glu	Glu	Val	Ala	Leu	Ser
	1355						1360					1365			
20	Thr	Thr	Gly	Glu	Ile	Pro	Phe	Tyr	Gly	Lys	Ala	Ile	Pro	Leu	Glu
	1370						1375					1380			
	Val	Ile	Lys	Gly	Gly	Arg	His	Leu	Ile	Phe	Cys	His	Ser	Lys	Lys
	1385						1390					1395			
25	Lys	Cys	Asp	Glu	Leu	Ala	Ala	Lys	Leu	Val	Ala	Leu	Gly	Ile	Asn
	1400						1405					1410			
	Ala	Val	Ala	Tyr	Tyr	Arg	Gly	Leu	Asp	Val	Ser	Val	Ile	Pro	Thr
30	1415						1420					1425			
	Ser	Gly	Asp	Val	Val	Val	Val	Ser	Thr	Asp	Ala	Leu	Met	Thr	Gly
	1430						1435					1440			
35	Phe	Thr	Gly	Asp	Phe	Asp	Ser	Val	Ile	Asp	Cys	Asn	Thr	Cys	Val
	1445						1450					1455			
	Thr	Gln	Thr	Val	Asp	Phe	Ser	Leu	Asp	Pro	Thr	Phe	Thr	Ile	Glu
	1460						1465					1470			
40	Thr	Thr	Thr	Leu	Pro	Gln	Asp	Ala	Val	Ser	Arg	Thr	Gln	Arg	Arg
	1475						1480					1485			
	Gly	Arg	Thr	Gly	Arg	Gly	Lys	Pro	Gly	Ile	Tyr	Arg	Phe	Val	Ala
45	1490						1495					1500			
	Pro	Gly	Glu	Arg	Pro	Ser	Gly	Met	Phe	Asp	Ser	Ser	Val	Leu	Cys
	1505						1510					1515			
50	Glu	Cys	Tyr	Asp	Ala	Gly	Cys	Ala	Trp	Tyr	Glu	Leu	Thr	Pro	Ala
	1520						1525					1530			

	Glu	Thr	Thr	Val	Arg	Leu	Arg	Ala	Tyr	Met	Asn	Thr	Pro	Gly	Leu
	1535						1540					1545			
5	Pro	Val	Cys	Gln	Asp	His	Leu	Glu	Phe	Trp	Glu	Gly	Val	Phe	Thr
	1550						1555					1560			
	Gly	Leu	Thr	His	Ile	Asp	Ala	His	Phe	Leu	Ser	Gln	Thr	Lys	Gln
	1565						1570					1575			
10	Ser	Gly	Glu	Asn	Phe	Pro	Tyr	Leu	Val	Ala	Tyr	Gln	Ala	Thr	Val
	1580						1585					1590			
	Cys	Ala	Arg	Ala	Gln	Ala	Pro	Pro	Pro	Ser	Trp	Asp	Gln	Met	Trp
15	1595						1600					1605			
	Lys	Cys	Leu	Ile	Arg	Leu	Lys	Pro	Thr	Leu	His	Gly	Pro	Thr	Pro
	1610						1615					1620			
20	Leu	Leu	Tyr	Arg	Leu	Gly	Ala	Val	Gln	Asn	Glu	Val	Thr	Leu	Thr
	1625						1630					1635			
	His	Pro	Ile	Thr	Lys	Tyr	Ile	Met	Thr	Cys	Met	Ser	Ala	Asp	Leu
	1640						1645					1650			
25	Glu	Val	Val	Thr	Ser	Thr	Trp	Val	Leu	Val	Gly	Gly	Val	Leu	Ala
	1655						1660					1665			
	Ala	Leu	Ala	Ala	Tyr	Cys	Leu	Ser	Thr	Gly	Cys	Val	Val	Ile	Val
30	1670						1675					1680			
	Gly	Arg	Ile	Val	Leu	Ser	Gly	Lys	Pro	Ala	Ile	Ile	Pro	Asp	Arg
	1685						1690					1695			
35	Glu	Val	Leu	Tyr	Gln	Glu	Phe	Asp	Glu	Met	Glu	Glu	Cys	Ser	Gln
	1700						1705					1710			
	His	Leu	Pro	Tyr	Ile	Glu	Gln	Gly	Met	Met	Leu	Ala	Glu	Gln	Phe
	1715						1720					1725			
40	Lys	Gln	Lys	Ala	Leu	Gly	Leu	Leu	Gln	Thr	Ala	Ser	Arg	His	Ala
	1730						1735					1740			
	Glu	Val	Ile	Thr	Pro	Ala	Val	Gln	Thr	Asn	Trp	Gln	Lys	Leu	Glu
45	1745						1750					1755			
	Val	Phe	Trp	Ala	Lys	His	Met	Trp	Asn	Phe	Ile	Ser	Gly	Ile	Gln
	1760						1765					1770			
50	Tyr	Leu	Ala	Gly	Leu	Ser	Thr	Leu	Pro	Gly	Asn	Pro	Ala	Ile	Ala
	1775						1780					1785			

	Ser	Leu	Met	Ala	Phe	Thr	Ala	Ala	Val	Thr	Ser	Pro	Leu	Thr	Thr
	1790						1795					1800			
5	Gly	Gln	Thr	Leu	Leu	Phe	Asn	Ile	Leu	Gly	Gly	Trp	Val	Ala	Ala
	1805						1810					1815			
	Gln	Leu	Ala	Ala	Pro	Gly	Ala	Ala	Thr	Ala	Phe	Val	Gly	Ala	Gly
	1820						1825					1830			
10	Leu	Ala	Gly	Ala	Ala	Ile	Gly	Ser	Val	Gly	Leu	Gly	Lys	Val	Leu
	1835						1840					1845			
	Val	Asp	Ile	Leu	Ala	Gly	Tyr	Gly	Ala	Gly	Val	Ala	Gly	Ala	Leu
15	1850						1855					1860			
	Val	Ala	Phe	Lys	Ile	Met	Ser	Gly	Glu	Val	Pro	Ser	Thr	Glu	Asp
	1865						1870					1875			
20	Leu	Val	Asn	Leu	Leu	Pro	Ala	Ile	Leu	Ser	Pro	Gly	Ala	Leu	Val
	1880						1885					1890			
	Val	Gly	Val	Val	Cys	Ala	Ala	Ile	Leu	Arg	Arg	His	Val	Gly	Pro
	1895						1900					1905			
25	Gly	Glu	Gly	Ala	Val	Gln	Trp	Met	Asn	Arg	Leu	Ile	Ala	Phe	Ala
	1910						1915					1920			
	Ser	Arg	Gly	Asn	His	Val	Ser	Pro	Thr	His	Tyr	Val	Pro	Glu	Ser
30	1925						1930					1935			
	Asp	Ala	Ala	Ala	Arg	Val	Thr	Ala	Ile	Leu	Ser	Ser	Leu	Thr	Val
	1940						1945					1950			
35	Thr	Gln	Leu	Leu	Arg	Arg	Leu	His	Gln	Trp	Ile	Ser	Ser	Glu	Cys
	1955						1960					1965			
	Thr	Thr	Pro	Cys	Ser	Gly	Ser	Trp	Leu	Arg	Asp	Ile	Trp	Asp	Trp
	1970						1975					1980			
40	Ile	Cys	Glu	Val	Leu	Ser	Asp	Phe	Lys	Thr	Trp	Leu	Lys	Ala	Lys
	1985						1990					1995			
	Leu	Met	Pro	Gln	Leu	Pro	Gly	Ile	Pro	Phe	Val	Ser	Cys	Gln	Arg
45	2000						2005					2010			
	Gly	Tyr	Arg	Gly	Val	Trp	Arg	Gly	Asp	Gly	Ile	Met	His	Thr	Arg
	2015						2020					2025			
50	Cys	His	Cys	Gly	Ala	Glu	Ile	Thr	Gly	His	Val	Lys	Asn	Gly	Thr
	2030						2035					2040			

	Met	Arg	Ile	Val	Gly	Pro	Arg	Thr	Cys	Arg	Asn	Met	Trp	Ser	Gly
	2045						2050					2055			
5	Thr	Phe	Pro	Ile	Asn	Ala	Tyr	Thr	Thr	Gly	Pro	Cys	Thr	Pro	Leu
	2060						2065					2070			
	Pro	Ala	Pro	Asn	Tyr	Lys	Phe	Ala	Leu	Trp	Arg	Val	Ser	Ala	Glu
	2075						2080					2085			
10	Glu	Tyr	Val	Glu	Ile	Arg	Arg	Val	Gly	Asp	Phe	His	Tyr	Val	Ser
	2090						2095					2100			
	Gly	Met	Thr	Thr	Asp	Asn	Leu	Lys	Cys	Pro	Cys	Gln	Ile	Pro	Ser
15	2105						2110					2115			
	Pro	Glu	Phe	Phe	Thr	Glu	Leu	Asp	Gly	Val	Arg	Leu	His	Arg	Phe
	2120						2125					2130			
	Ala	Pro	Pro	Cys	Lys	Pro	Leu	Leu	Arg	Glu	Glu	Val	Ser	Phe	Arg
20	2135						2140					2145			
	Val	Gly	Leu	His	Glu	Tyr	Pro	Val	Gly	Ser	Gln	Leu	Pro	Cys	Glu
	2150						2155					2160			
25	Pro	Glu	Pro	Asp	Val	Ala	Val	Leu	Thr	Ser	Met	Leu	Thr	Asp	Pro
	2165						2170					2175			
	Ser	His	Ile	Thr	Ala	Glu	Ala	Ala	Gly	Arg	Arg	Leu	Ala	Arg	Gly
30	2180						2185					2190			
	Ser	Pro	Pro	Ser	Met	Ala	Ser	Ser	Ser	Ala	Ser	Gln	Leu	Ser	Ala
	2195						2200					2205			
	Pro	Ser	Leu	Lys	Ala	Thr	Cys	Thr	Ala	Asn	His	Asp	Ser	Pro	Asp
35	2210						2215					2220			
	Ala	Glu	Leu	Ile	Glu	Ala	Asn	Leu	Leu	Trp	Arg	Gln	Glu	Met	Gly
	2225						2230					2235			
40	Gly	Asn	Ile	Thr	Arg	Val	Glu	Ser	Glu	Asn	Lys	Val	Val	Ile	Leu
	2240						2245					2250			
	Asp	Ser	Phe	Asp	Pro	Leu	Val	Ala	Glu	Glu	Asp	Glu	Arg	Glu	Val
45	2255						2260					2265			
	Ser	Val	Pro	Ala	Glu	Ile	Leu	Arg	Lys	Ser	Arg	Arg	Phe	Ala	Arg
	2270						2275					2280			
	Ala	Leu	Pro	Val	Trp	Ala	Arg	Pro	Asp	Tyr	Asn	Pro	Pro	Leu	Val
50	2285						2290					2295			

	Glu	Thr	Trp	Lys	Lys	Pro	Asp	Tyr	Glu	Pro	Pro	Val	Val	His	Gly
	2300						2305					2310			
5	Cys	Pro	Leu	Pro	Pro	Pro	Arg	Ser	Pro	Pro	Val	Pro	Pro	Pro	Arg
	2315						2320					2325			
	Lys	Lys	Arg	Thr	Val	Val	Leu	Thr	Glu	Ser	Thr	Leu	Ser	Thr	Ala
	2330						2335					2340			
10	Leu	Ala	Glu	Leu	Ala	Thr	Lys	Ser	Phe	Gly	Ser	Ser	Ser	Thr	Ser
	2345						2350					2355			
	Gly	Ile	Thr	Gly	Asp	Asn	Thr	Thr	Thr	Ser	Ser	Glu	Pro	Ala	Pro
15	2360						2365					2370			
	Ser	Gly	Cys	Pro	Pro	Asp	Ser	Asp	Val	Glu	Ser	Tyr	Ser	Ser	Met
	2375						2380					2385			
20	Pro	Pro	Leu	Glu	Gly	Glu	Pro	Gly	Asp	Pro	Asp	Leu	Ser	Asp	Gly
	2390						2395					2400			
	Ser	Trp	Ser	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Ala	Asp	Thr	Glu	Asp	Val	Val
	2405						2410					2415			
25	Cys	Cys	Ser	Met	Ser	Tyr	Ser	Trp	Thr	Gly	Ala	Leu	Val	Thr	Pro
	2420						2425					2430			
	Cys	Ala	Ala	Glu	Glu	Gln	Lys	Leu	Pro	Ile	Asn	Ala	Leu	Ser	Asn
30	2435						2440					2445			
	Ser	Leu	Leu	Arg	His	His	Asn	Leu	Val	Tyr	Ser	Thr	Thr	Ser	Arg
	2450						2455					2460			
35	Ser	Ala	Cys	Gln	Arg	Gln	Lys	Lys	Val	Thr	Phe	Asp	Arg	Leu	Gln
	2465						2470					2475			
	Val	Leu	Asp	Ser	His	Tyr	Gln	Asp	Val	Leu	Lys	Glu	Val	Lys	Ala
	2480						2485					2490			
40	Ala	Ala	Ser	Lys	Val	Lys	Ala	Asn	Leu	Leu	Ser	Val	Glu	Glu	Ala
	2495						2500					2505			
	Cys	Ser	Leu	Thr	Pro	Pro	His	Ser	Ala	Lys	Ser	Lys	Phe	Gly	Tyr
45	2510						2515					2520			
	Gly	Ala	Lys	Asp	Val	Arg	Cys	His	Ala	Arg	Lys	Ala	Val	Ala	His
	2525						2530					2535			
50	Ile	Asn	Ser	Val	Trp	Lys	Asp	Leu	Leu	Glu	Asp	Ser	Val	Thr	Pro
	2540						2545					2550			

	Ile	Asp	Thr	Thr	Ile	Met	Ala	Lys	Asn	Glu	Val	Phe	Cys	Val	Gln
	2555						2560					2565			
5	Pro	Glu	Lys	Gly	Gly	Arg	Lys	Pro	Ala	Arg	Leu	Ile	Val	Phe	Pro
	2570						2575					2580			
	Asp	Leu	Gly	Val	Arg	Val	Cys	Glu	Lys	Met	Ala	Leu	Tyr	Asp	Val
	2585						2590					2595			
10	Val	Ser	Lys	Leu	Pro	Leu	Ala	Val	Met	Gly	Ser	Ser	Tyr	Gly	Phe
	2600						2605					2610			
	Gln	Tyr	Ser	Pro	Gly	Gln	Arg	Val	Glu	Phe	Leu	Val	Gln	Ala	Trp
	2615						2620					2625			
15	Lys	Ser	Lys	Lys	Thr	Pro	Met	Gly	Phe	Ser	Tyr	Asp	Thr	Arg	Cys
	2630						2635					2640			
20	Phe	Asp	Ser	Thr	Val	Thr	Glu	Ser	Asp	Ile	Arg	Thr	Glu	Glu	Ala
	2645						2650					2655			
	Ile	Tyr	Gln	Cys	Cys	Asp	Leu	Asp	Pro	Gln	Ala	Arg	Val	Ala	Ile
	2660						2665					2670			
25	Lys	Ser	Leu	Thr	Glu	Arg	Leu	Tyr	Val	Gly	Gly	Pro	Leu	Thr	Asn
	2675						2680					2685			
	Ser	Arg	Gly	Glu	Asn	Cys	Gly	Tyr	Arg	Arg	Cys	Arg	Ala	Ser	Gly
	2690						2695					2700			
30	Val	Leu	Thr	Thr	Ser	Cys	Gly	Asn	Thr	Leu	Thr	Cys	Tyr	Ile	Lys
	2705						2710					2715			
	Ala	Arg	Ala	Ala	Cys	Arg	Ala	Ala	Gly	Leu	Gln	Asp	Cys	Thr	Met
35	2720						2725					2730			
	Leu	Val	Cys	Gly	Asp	Asp	Leu	Val	Val	Ile	Cys	Glu	Ser	Ala	Gly
	2735						2740					2745			
40	Val	Gln	Glu	Asp	Ala	Ala	Asn	Leu	Arg	Ala	Phe	Thr	Glu	Ala	Met
	2750						2755					2760			
	Thr	Arg	Tyr	Ser	Ala	Pro	Pro	Gly	Asp	Pro	Pro	Gln	Pro	Glu	Tyr
45	2765						2770					2775			
	Asp	Leu	Glu	Leu	Ile	Thr	Ser	Cys	Ser	Ser	Asn	Val	Ser	Val	Ala
	2780						2785					2790			
50	His	Asp	Gly	Ala	Gly	Lys	Arg	Val	Tyr	Tyr	Leu	Thr	Arg	Asp	Pro
	2795						2800					2805			

[illegible]

<400> 5

[illegible]

	Thr	Ile	Arg	Arg	His	Val	Asp	Leu	Leu	Val	Gly	Ala	Ala	Ala	Leu	Cys
				260					265					270		
5	Ser	Ala	Met	Tyr	Val	Gly	Asp	Leu	Cys	Gly	Ser	Val	Phe	Leu	Val	Ser
			275					280					285			
	Gln	Leu	Phe	Thr	Phe	Ser	Pro	Arg	Arg	Tyr	Glu	Thr	Val	Gln	Asp	Cys
		290					295					300				
10	Asn	Cys	Ser	Ile	Tyr	Pro	Gly	His	Val	Ser	Gly	His	Arg	Met	Ala	Trp
	305					310					315					320
	Asp	Met	Met	Met	Asn	Trp	Ser	Pro	Thr	Thr	Ala	Leu	Val	Val	Ser	Gln
					325					330					335	
15	Leu	Leu	Arg	Ile	Pro	Gln	Ala	Val	Val	Asp	Met	Val	Ala	Gly	Ala	His
				340					345					350		
20	Trp	Gly	Val	Leu	Ala	Gly	Leu	Ala	Tyr	Tyr	Ser	Met	Val	Gly	Asn	Trp
			355					360					365			
	Ala	Lys	Val	Leu	Ile	Val	Met	Leu	Leu	Phe	Ala	Gly	Val	Asp	Gly	His
		370					375					380				
25	Thr	His	Val	Thr	Gly	Gly	Arg	Val	Ala	Ser	Ser	Thr	Gln	Ser	Leu	Val
	385					390					395					400
	Ser	Trp	Leu	Ser	Gln	Gly	Pro	Ser	Gln	Lys	Ile	Gln	Leu	Val	Asn	Thr
					405					410					415	
30	Asn	Gly	Ser	Trp	His	Ile	Asn	Arg	Thr	Ala	Leu	Asn	Cys	Asn	Asp	Ser
				420					425					430		
	Leu	Gln	Thr	Gly	Phe	Ile	Ala	Ala	Leu	Phe	Tyr	Ala	His	Arg	Phe	Asn
35			435					440					445			
	Ala	Ser	Gly	Cys	Pro	Glu	Arg	Met	Ala	Ser	Cys	Arg	Pro	Ile	Asp	Lys
		450					455					460				
40	Phe	Ala	Gln	Gly	Trp	Gly	Pro	Ile	Thr	His	Val	Val	Pro	Asn	Ile	Ser
	465					470					475					480
	Asp	Gln	Arg	Pro	Tyr	Cys	Trp	His	Tyr	Ala	Pro	Gln	Pro	Cys	Gly	Ile
					485					490					495	
45	Val	Pro	Ala	Ser	Gln	Val	Cys	Gly	Pro	Val	Tyr	Cys	Phe	Thr	Pro	Ser
				500					505					510		
	Pro	Val	Val	Val	Gly	Thr	Thr	Asp	Arg	Ser	Gly	Val	Pro	Thr	Tyr	Ser
50			515					520					525			

	Trp	Gly	Glu	Asn	Glu	Thr	Asp	Val	Leu	Leu	Leu	Asn	Asn	Thr	Arg	Pro
	530						535					540				
5	Pro	Gln	Gly	Asn	Trp	Phe	Gly	Cys	Thr	Trp	Met	Asn	Ser	Thr	Gly	Phe
	545					550					555					560
	Thr	Lys	Thr	Cys	Gly	Gly	Pro	Pro	Cys	Asn	Ile	Gly	Gly	Val	Gly	Asn
					565					570					575	
10	Asn	Thr	Leu	Ile	Cys	Pro	Thr	Asp	Cys	Phe	Arg	Lys	His	Pro	Glu	Ala
				580					585					590		
	Thr	Tyr	Thr	Lys	Cys	Gly	Ser	Gly	Pro	Trp	Leu	Thr	Pro	Arg	Cys	Leu
			595					600					605			
15	Val	Asp	Tyr	Pro	Tyr	Arg	Leu	Trp	His	Tyr	Pro	Cys	Thr	Ile	Asn	Phe
	610						615					620				
	Thr	Ile	Phe	Lys	Val	Arg	Met	Tyr	Val	Gly	Gly	Val	Glu	His	Arg	Leu
20	625					630					635					640
	Asn	Ala	Ala	Cys	Asn	Trp	Thr	Arg	Gly	Glu	Arg	Cys	Asp	Leu	Glu	Asp
					645					650					655	
25	Arg	Asp	Arg	Ser	Glu	Leu	Ser	Pro	Leu	Leu	Leu	Ser	Thr	Thr	Glu	Trp
				660					665					670		
	Gln	Val	Leu	Pro	Cys	Ser	Phe	Thr	Thr	Leu	Pro	Ala	Leu	Ser	Thr	Gly
			675					680					685			
30	Leu	Ile	His	Leu	His	Gln	Asn	Ile	Val	Asp	Val	Gln	Tyr	Leu	Tyr	Gly
		690					695					700				
	Val	Gly	Ser	Val	Val	Val	Ser	Val	Val	Ile	Lys	Trp	Glu	Tyr	Val	Leu
35	705					710					715					720
	Leu	Leu	Phe	Leu	Leu	Leu	Ala	Asp	Ala	Arg	Val	Cys	Ala	Cys	Leu	Trp
					725					730					735	
40	Met	Met	Leu	Leu	Ile	Ala	Gln	Ala	Glu	Ala	Thr	Leu	Glu	Asn	Leu	Val
				740					745					750		
	Val	Leu	Asn	Ala	Ala	Ser	Val	Ala	Gly	Ala	His	Gly	Leu	Leu	Ser	Phe
			755					760					765			
45	Leu	Val	Phe	Phe	Cys	Ala	Ala	Trp	Tyr	Ile	Lys	Gly	Arg	Leu	Val	Pro
		770					775					780				
	Gly	Ala	Ala	Tyr	Ala	Leu	Tyr	Gly	Val	Trp	Pro	Leu	Leu	Leu	Leu	Leu
50	785					790					795					800

	Leu	Ala	Leu	Pro	Pro	Arg	Ala	Tyr	Ala	Met	Asp	Arg	Glu	Met	Ala	Ala	
					805					810					815		
5	Ser	Cys	Gly	Gly	Ala	Val	Phe	Val	Gly	Leu	Val	Leu	Leu	Thr	Leu	Ser	
				820					825					830			
	Pro	Tyr	Tyr	Lys	Val	Phe	Leu	Ala	Arg	Leu	Ile	Trp	Trp	Leu	Gln	Tyr	
			835					840					845				
10	Phe	Ile	Thr	Arg	Ala	Glu	Ala	His	Leu	Gln	Val	Trp	Val	Pro	Pro	Leu	
		850						855				860					
	Asn	Val	Arg	Gly	Gly	Arg	Asp	Ala	Ile	Ile	Leu	Leu	Thr	Cys	Ala	Val	
	865					870					875					880	
15	His	Pro	Glu	Leu	Ile	Phe	Asp	Ile	Thr	Lys	Leu	Leu	Leu	Ala	Ile	Leu	
					885					890					895		
	Gly	Pro	Leu	Met	Val	Leu	Gln	Ala	Gly	Ile	Thr	Arg	Val	Pro	Tyr	Phe	
20				900					905					910			
	Val	Arg	Ala	Gln	Gly	Leu	Ile	His	Ala	Cys	Met	Leu	Val	Arg	Lys	Val	
			915					920					925				
25	Ala	Gly	Gly	His	Tyr	Val	Gln	Met	Ala	Phe	Met	Lys	Leu	Gly	Ala	Leu	
		930					935					940					
	Thr	Gly	Thr	Tyr	Ile	Tyr	Asn	His	Leu	Thr	Pro	Leu	Arg	Asp	Trp	Ala	
	945				950						955					960	
30	His	Ala	Gly	Leu	Arg	Asp	Leu	Ala	Val	Ala	Val	Glu	Pro	Val	Val	Phe	
					965					970					975		
	Ser	Asp	Met	Glu	Thr	Lys	Ile	Ile	Thr	Trp	Gly	Ala	Asp	Thr	Ala	Ala	
35				980					985					990			
	Cys	Gly	Asp	Ile	Ile	Leu	Gly	Leu	Pro	Val	Ser	Ala	Arg	Arg	Gly	Lys	
			995					1000					1005				
40	Glu	Ile	Leu	Leu	Gly	Pro	Ala	Asp	Ser	Leu	Glu	Gly	Arg	Gly	Trp		
		1010					1015					1020					
	Arg	Leu	Leu	Ala	Pro	Ile	Thr	Ala	Tyr	Ser	Gln	Gln	Thr	Arg	Gly		
		1025					1030					1035					
45	Leu	Leu	Gly	Cys	Ile	Ile	Thr	Ser	Leu	Thr	Gly	Arg	Asp	Lys	Asn		
		1040					1045					1050					
	Gln	Val	Glu	Gly	Glu	Val	Gln	Val	Val	Ser	Thr	Ala	Thr	Gln	Ser		
50		1055					1060					1065					

	Phe	Leu	Ala	Thr	Cys	Val	Asn	Gly	Val	Cys	Trp	Thr	Val	Tyr	His
	1070						1075					1080			
5	Gly	Ala	Gly	Ser	Lys	Thr	Leu	Ala	Gly	Pro	Lys	Gly	Pro	Ile	Thr
	1085						1090					1095			
	Gln	Met	Tyr	Thr	Asn	Val	Asp	Gln	Asp	Leu	Val	Gly	Trp	Gln	Ala
	1100						1105					1110			
10	Pro	Pro	Gly	Ala	Arg	Ser	Leu	Thr	Pro	Cys	Thr	Cys	Gly	Ser	Ser
	1115						1120					1125			
	Asp	Leu	Tyr	Leu	Val	Thr	Arg	His	Ala	Asp	Val	Ile	Pro	Val	Arg
15	1130						1135					1140			
	Arg	Arg	Gly	Asp	Ser	Arg	Gly	Ser	Leu	Leu	Ser	Pro	Arg	Pro	Val
	1145						1150					1155			
20	Ser	Tyr	Leu	Lys	Gly	Ser	Ser	Gly	Gly	Pro	Leu	Leu	Cys	Pro	Ser
	1160						1165					1170			
	Gly	His	Ala	Val	Gly	Ile	Phe	Arg	Ala	Ala	Val	Cys	Thr	Arg	Gly
	1175						1180					1185			
25	Val	Ala	Lys	Ala	Val	Asp	Phe	Val	Pro	Val	Glu	Ser	Met	Glu	Thr
	1190						1195					1200			
	Thr	Met	Arg	Ser	Pro	Val	Phe	Thr	Asp	Asn	Ser	Ser	Pro	Pro	Ala
30	1205						1210					1215			
	Val	Pro	Gln	Ser	Phe	Gln	Val	Ala	His	Leu	His	Ala	Pro	Thr	Gly
	1220						1225					1230			
35	Ser	Gly	Lys	Ser	Thr	Lys	Val	Pro	Ala	Ala	Tyr	Ala	Ala	Gln	Gly
	1235						1240					1245			
	Tyr	Lys	Val	Leu	Val	Leu	Asn	Pro	Ser	Val	Ala	Ala	Thr	Leu	Gly
	1250						1255					1260			
40	Phe	Gly	Ala	Tyr	Met	Ser	Lys	Ala	His	Gly	Ile	Asp	Pro	Asn	Ile
	1265						1270					1275			
	Arg	Thr	Gly	Val	Arg	Thr	Ile	Thr	Thr	Gly	Ala	Pro	Val	Thr	Tyr
45	1280						1285					1290			
	Ser	Thr	Tyr	Gly	Lys	Phe	Leu	Ala	Asp	Gly	Gly	Cys	Ser	Gly	Gly
	1295						1300					1305			
50	Ala	Tyr	Asp	Ile	Ile	Ile	Cys	Asp	Glu	Cys	His	Ser	Thr	Asp	Ser
	1310						1315					1320			

	Thr	Thr	Ile	Leu	Gly	Ile	Gly	Thr	Val	Leu	Asp	Gln	Ala	Glu	Thr
	1325						1330					1335			
5	Ala	Gly	Ala	Arg	Leu	Val	Val	Leu	Ala	Thr	Ala	Thr	Pro	Pro	Gly
	1340						1345					1350			
	Ser	Val	Thr	Val	Pro	His	Pro	Asn	Ile	Glu	Glu	Val	Ala	Leu	Ser
	1355						1360					1365			
10	Asn	Thr	Gly	Glu	Ile	Pro	Phe	Tyr	Gly	Lys	Ala	Ile	Pro	Ile	Glu
	1370						1375					1380			
	Ala	Ile	Arg	Gly	Gly	Arg	His	Leu	Ile	Phe	Cys	His	Ser	Lys	Lys
15	1385						1390					1395			
	Lys	Cys	Asp	Glu	Leu	Ala	Ala	Lys	Leu	Ser	Gly	Leu	Gly	Ile	Asn
	1400						1405					1410			
20	Ala	Val	Ala	Tyr	Tyr	Arg	Gly	Leu	Asp	Val	Ser	Val	Ile	Pro	Thr
	1415						1420					1425			
	Ile	Gly	Asp	Val	Val	Val	Val	Ala	Thr	Asp	Ala	Leu	Met	Thr	Gly
	1430						1435					1440			
25	Tyr	Thr	Gly	Asp	Phe	Asp	Ser	Val	Ile	Asp	Cys	Asn	Thr	Cys	Val
	1445						1450					1455			
	Thr	Gln	Thr	Val	Asp	Phe	Ser	Leu	Asp	Pro	Thr	Phe	Thr	Ile	Glu
30	1460						1465					1470			
	Thr	Thr	Thr	Val	Pro	Gln	Asp	Ala	Val	Ser	Arg	Ser	Gln	Arg	Arg
	1475						1480					1485			
35	Gly	Arg	Thr	Gly	Arg	Gly	Arg	Arg	Gly	Ile	Tyr	Arg	Phe	Val	Thr
	1490						1495					1500			
	Pro	Gly	Glu	Arg	Pro	Ser	Gly	Met	Phe	Asp	Ser	Ser	Val	Leu	Cys
	1505						1510					1515			
40	Glu	Cys	Tyr	Asp	Ala	Gly	Cys	Ala	Trp	Tyr	Glu	Leu	Thr	Pro	Ala
	1520						1525					1530			
	Glu	Thr	Ser	Val	Arg	Leu	Arg	Ala	Tyr	Leu	Asn	Thr	Pro	Gly	Leu
45	1535						1540					1545			
	Pro	Val	Cys	Gln	Asp	His	Leu	Glu	Phe	Trp	Glu	Ser	Val	Phe	Thr
	1550						1555					1560			
50	Gly	Leu	Thr	His	Ile	Asp	Ala	His	Phe	Leu	Ser	Gln	Thr	Lys	Gln
	1565						1570					1575			

	Ala	Gly	Asp	Asn	Phe	Pro	Tyr	Leu	Val	Ala	Tyr	Gln	Ala	Thr	Val
	1580						1585					1590			
5	Cys	Ala	Arg	Ala	Gln	Ala	Pro	Pro	Pro	Ser	Trp	Asp	Gln	Met	Trp
	1595						1600					1605			
	Lys	Cys	Leu	Ile	Arg	Leu	Lys	Pro	Thr	Leu	His	Gly	Pro	Thr	Pro
	1610						1615					1620			
10	Leu	Leu	Tyr	Arg	Leu	Gly	Ala	Val	Gln	Asn	Glu	Val	Thr	Leu	Thr
	1625						1630					1635			
	His	Pro	Ile	Thr	Lys	Tyr	Ile	Met	Ala	Cys	Met	Ser	Ala	Asp	Leu
	1640						1645					1650			
15	Glu	Val	Val	Thr	Ser	Thr	Trp	Val	Leu	Val	Gly	Gly	Val	Leu	Ala
	1655						1660					1665			
	Ala	Leu	Ala	Ala	Tyr	Cys	Leu	Thr	Thr	Gly	Ser	Val	Val	Ile	Val
20	1670						1675					1680			
	Gly	Arg	Ile	Ile	Leu	Ser	Gly	Arg	Pro	Ala	Ile	Val	Pro	Asp	Arg
	1685						1690					1695			
25	Glu	Leu	Leu	Tyr	Gln	Glu	Phe	Asp	Glu	Met	Glu	Glu	Cys	Ala	Thr
	1700						1705					1710			
	His	Leu	Pro	Tyr	Ile	Glu	Gln	Gly	Met	Gln	Leu	Ala	Glu	Gln	Phe
	1715						1720					1725			
30	Lys	Gln	Lys	Ala	Leu	Gly	Leu	Leu	Gln	Thr	Ala	Thr	Lys	Gln	Ala
	1730						1735					1740			
	Glu	Ala	Ala	Ala	Pro	Val	Val	Glu	Ser	Lys	Trp	Arg	Ala	Leu	Glu
35	1745						1750					1755			
	Thr	Phe	Trp	Ala	Lys	His	Met	Trp	Asn	Phe	Ile	Ser	Gly	Ile	Gln
	1760						1765					1770			
40	Tyr	Leu	Ala	Gly	Leu	Ser	Thr	Leu	Pro	Gly	Asn	Pro	Ala	Ile	Ala
	1775						1780					1785			
	Ser	Leu	Met	Ala	Phe	Thr	Ala	Ser	Ile	Thr	Ser	Pro	Leu	Thr	Thr
	1790						1795					1800			
45	Gln	Ser	Thr	Leu	Leu	Phe	Asn	Ile	Leu	Gly	Gly	Trp	Val	Ala	Ala
	1805						1810					1815			
	Gln	Leu	Ala	Pro	Pro	Ser	Ala	Ala	Ser	Ala	Phe	Val	Gly	Ala	Gly
50	1820						1825					1830			

	Ile	Ala	Gly	Ala	Ala	Val	Gly	Ser	Ile	Gly	Leu	Gly	Lys	Val	Leu
	1835						1840					1845			
5	Val	Asp	Ile	Leu	Ala	Gly	Tyr	Gly	Ala	Gly	Val	Ala	Gly	Ala	Leu
	1850						1855					1860			
	Val	Ala	Phe	Lys	Val	Met	Ser	Gly	Glu	Met	Pro	Ser	Thr	Glu	Asp
	1865						1870					1875			
10	Leu	Val	Asn	Leu	Leu	Pro	Ala	Ile	Leu	Ser	Pro	Gly	Ala	Leu	Val
	1880						1885					1890			
	Val	Gly	Val	Val	Cys	Ala	Ala	Ile	Leu	Arg	Arg	His	Val	Gly	Pro
	1895						1900					1905			
15	Gly	Glu	Gly	Ala	Val	Gln	Trp	Met	Asn	Arg	Leu	Ile	Ala	Phe	Ala
	1910						1915					1920			
	Ser	Arg	Gly	Asn	His	Val	Ser	Pro	Thr	His	Tyr	Val	Pro	Glu	Ser
20	1925						1930					1935			
	Asp	Ala	Ala	Ala	Arg	Val	Thr	Gln	Ile	Leu	Ser	Ser	Leu	Thr	Ile
	1940						1945					1950			
25	Thr	Gln	Leu	Leu	Lys	Arg	Leu	His	Gln	Trp	Ile	Asn	Glu	Asp	Cys
	1955						1960					1965			
	Ser	Thr	Pro	Cys	Ser	Gly	Ser	Trp	Leu	Arg	Asp	Val	Trp	Asp	Trp
	1970						1975					1980			
30	Ile	Cys	Thr	Val	Leu	Thr	Asp	Phe	Lys	Thr	Trp	Leu	Gln	Ser	Lys
	1985						1990					1995			
	Leu	Leu	Pro	Gln	Leu	Pro	Gly	Val	Pro	Phe	Phe	Ser	Cys	Gln	Arg
35	2000						2005					2010			
	Gly	Tyr	Lys	Gly	Val	Trp	Arg	Gly	Asp	Gly	Ile	Met	Gln	Thr	Thr
	2015						2020					2025			
40	Cys	Pro	Cys	Gly	Ala	Gln	Ile	Thr	Gly	His	Val	Lys	Asn	Gly	Ser
	2030						2035					2040			
	Met	Arg	Ile	Val	Gly	Pro	Lys	Thr	Cys	Ser	Asn	Thr	Trp	His	Gly
	2045						2050					2055			
45	Thr	Phe	Pro	Ile	Asn	Ala	Tyr	Thr	Thr	Gly	Pro	Cys	Thr	Pro	Ser
	2060						2065					2070			
	Pro	Ala	Pro	Asn	Tyr	Ser	Arg	Ala	Leu	Trp	Arg	Val	Ala	Ala	Glu
50	2075						2080					2085			

	Glu	Tyr	Val	Glu	Val	Thr	Arg	Val	Gly	Asp	Phe	His	Tyr	Val	Thr
	2090						2095					2100			
5	Gly	Met	Thr	Thr	Asp	Asn	Val	Lys	Cys	Pro	Cys	Gln	Val	Pro	Ala
	2105						2110					2115			
	Pro	Glu	Phe	Phe	Ser	Glu	Val	Asp	Gly	Val	Arg	Leu	His	Arg	Tyr
	2120						2125					2130			
10	Ala	Pro	Ala	Cys	Arg	Pro	Leu	Leu	Arg	Glu	Glu	Val	Thr	Phe	Gln
	2135						2140					2145			
	Val	Gly	Leu	Asn	Gln	Tyr	Leu	Val	Gly	Ser	Gln	Leu	Pro	Cys	Glu
15	2150						2155					2160			
	Pro	Glu	Pro	Asp	Val	Ala	Val	Leu	Thr	Ser	Met	Leu	Thr	Asp	Pro
	2165						2170					2175			
20	Ser	His	Ile	Thr	Ala	Glu	Thr	Ala	Lys	Arg	Arg	Leu	Ala	Arg	Gly
	2180						2185					2190			
	Ser	Pro	Pro	Ser	Leu	Ala	Ser	Ser	Ser	Ala	Ser	Gln	Leu	Ser	Ala
	2195						2200					2205			
25	Pro	Ser	Leu	Lys	Ala	Thr	Cys	Thr	Thr	His	His	Val	Ser	Pro	Asp
	2210						2215					2220			
	Ala	Asp	Leu	Ile	Glu	Ala	Asn	Leu	Leu	Trp	Arg	Gln	Glu	Met	Gly
30	2225						2230					2235			
	Gly	Asn	Ile	Thr	Arg	Val	Glu	Ser	Glu	Asn	Lys	Val	Val	Val	Leu
	2240						2245					2250			
35	Asp	Ser	Phe	Asp	Pro	Leu	Arg	Ala	Glu	Glu	Asp	Glu	Arg	Glu	Val
	2255						2260					2265			
	Ser	Val	Pro	Ala	Glu	Ile	Leu	Arg	Lys	Ser	Lys	Lys	Phe	Pro	Ala
	2270						2275					2280			
40	Ala	Met	Pro	Ile	Trp	Ala	Arg	Pro	Asp	Tyr	Asn	Pro	Pro	Leu	Leu
	2285						2290					2295			
	Glu	Ser	Trp	Lys	Asp	Pro	Asp	Tyr	Val	Pro	Pro	Val	Val	His	Gly
45	2300						2305					2310			
	Cys	Pro	Leu	Pro	Pro	Ile	Lys	Ala	Pro	Pro	Ile	Pro	Pro	Pro	Arg
	2315						2320					2325			
50	Arg	Lys	Arg	Thr	Val	Val	Leu	Thr	Glu	Ser	Ser	Val	Ser	Ser	Ala
	2330						2335					2340			

	Leu	Ala	Glu	Leu	Ala	Thr	Lys	Thr	Phe	Gly	Ser	Ser	Glu	Ser	Ser
	2345						2350					2355			
5	Ala	Val	Asp	Ser	Gly	Thr	Ala	Thr	Ala	Leu	Pro	Asp	Gln	Ala	Ser
	2360						2365					2370			
	Asp	Asp	Gly	Asp	Lys	Gly	Ser	Asp	Val	Glu	Ser	Tyr	Ser	Ser	Met
	2375						2380					2385			
10	Pro	Pro	Leu	Glu	Gly	Glu	Pro	Gly	Asp	Pro	Asp	Leu	Ser	Asp	Gly
	2390						2395					2400			
	Ser	Trp	Ser	Thr	Val	Ser	Glu	Glu	Ala	Ser	Glu	Asp	Val	Val	Cys
	2405						2410					2415			
15	Cys	Ser	Met	Ser	Tyr	Thr	Trp	Thr	Gly	Ala	Leu	Ile	Thr	Pro	Cys
	2420						2425					2430			
20	Ala	Ala	Glu	Glu	Ser	Lys	Leu	Pro	Ile	Asn	Ala	Leu	Ser	Asn	Ser
	2435						2440					2445			
	Leu	Leu	Arg	His	His	Asn	Met	Val	Tyr	Ala	Thr	Thr	Ser	Arg	Ser
	2450						2455					2460			
25	Ala	Gly	Leu	Arg	Gln	Lys	Lys	Val	Thr	Phe	Asp	Arg	Leu	Gln	Val
	2465						2470					2475			
	Leu	Asp	Asp	His	Tyr	Arg	Asp	Val	Leu	Lys	Glu	Met	Lys	Ala	Lys
30	2480						2485					2490			
	Ala	Ser	Thr	Val	Lys	Ala	Lys	Leu	Leu	Ser	Val	Glu	Glu	Ala	Cys
	2495						2500					2505			
35	Lys	Leu	Thr	Pro	Pro	His	Ser	Ala	Lys	Ser	Lys	Phe	Gly	Tyr	Gly
	2510						2515					2520			
	Ala	Lys	Asp	Val	Arg	Asn	Leu	Ser	Ser	Lys	Ala	Val	Asn	His	Ile
	2525						2530					2535			
40	His	Ser	Val	Trp	Lys	Asp	Leu	Leu	Glu	Asp	Thr	Val	Thr	Pro	Ile
	2540						2545					2550			
	Asp	Thr	Thr	Ile	Met	Ala	Lys	Asn	Glu	Val	Phe	Cys	Val	Gln	Pro
45	2555						2560					2565			
	Glu	Lys	Gly	Gly	Arg	Lys	Pro	Ala	Arg	Leu	Ile	Val	Phe	Pro	Asp
	2570						2575					2580			
50	Leu	Gly	Val	Arg	Val	Cys	Glu	Lys	Met	Ala	Leu	Tyr	Asp	Val	Val
	2585						2590					2595			

	Ser	Thr	Leu	Pro	Gln	Val	Val	Met	Gly	Ser	Ser	Tyr	Gly	Phe	Gln
	2600						2605					2610			
5	Tyr	Ser	Pro	Gly	Gln	Arg	Val	Glu	Phe	Leu	Val	Asn	Thr	Trp	Lys
	2615						2620					2625			
	Ser	Lys	Lys	Asn	Pro	Met	Gly	Phe	Ser	Tyr	Asp	Thr	Arg	Cys	Phe
	2630						2635					2640			
10	Asp	Ser	Thr	Val	Thr	Glu	Asn	Asp	Ile	Arg	Val	Glu	Glu	Ser	Ile
	2645						2650					2655			
	Tyr	Gln	Cys	Cys	Asp	Leu	Ala	Pro	Glu	Ala	Arg	Gln	Ala	Ile	Lys
15	2660						2665					2670			
	Ser	Leu	Thr	Glu	Arg	Leu	Tyr	Ile	Gly	Gly	Pro	Leu	Thr	Asn	Ser
	2675						2680					2685			
20	Lys	Gly	Gln	Asn	Cys	Gly	Tyr	Arg	Arg	Cys	Arg	Ala	Ser	Gly	Val
	2690						2695					2700			
	Leu	Thr	Thr	Ser	Cys	Gly	Asn	Thr	Leu	Thr	Cys	Tyr	Leu	Lys	Ala
	2705						2710					2715			
25	Ser	Ala	Ala	Cys	Arg	Ala	Ala	Lys	Leu	Gln	Asp	Cys	Thr	Met	Leu
	2720						2725					2730			
	Val	Asn	Gly	Asp	Asp	Leu	Val	Val	Ile	Cys	Glu	Ser	Ala	Gly	Thr
30	2735						2740					2745			
	Gln	Glu	Asp	Ala	Ala	Ser	Leu	Arg	Val	Phe	Thr	Glu	Ala	Met	Thr
	2750						2755					2760			
35	Arg	Tyr	Ser	Ala	Pro	Pro	Gly	Asp	Pro	Pro	Gln	Pro	Glu	Tyr	Asp
	2765						2770					2775			
	Leu	Glu	Leu	Ile	Thr	Ser	Cys	Ser	Ser	Asn	Val	Ser	Val	Ala	His
	2780						2785					2790			
40	Asp	Ala	Ser	Gly	Lys	Arg	Val	Tyr	Tyr	Leu	Thr	Arg	Asp	Pro	Thr
	2795						2800					2805			
	Thr	Pro	Leu	Ala	Arg	Ala	Ala	Trp	Glu	Thr	Ala	Arg	His	Thr	Pro
45	2810						2815					2820			
	Val	Asn	Ser	Trp	Leu	Gly	Asn	Ile	Ile	Met	Tyr	Ala	Pro	Thr	Leu
	2825						2830					2835			
50	Trp	Ala	Arg	Met	Ile	Leu	Met	Thr	His	Phe	Phe	Ser	Ile	Leu	Leu
	2840						2845					2850			

Ala Gln Glu Gln Leu Glu Lys Ala Leu Asp Cys Gln Ile Tyr Gly
 2855 2860 2865
 5 Ala Cys Tyr Ser Ile Glu Pro Leu Asp Leu Pro Gln Ile Ile Glu
 2870 2875 2880
 Arg Leu His Gly Leu Ser Ala Phe Ser Leu His Ser Tyr Ser Pro
 2885 2890 2895
 10 Gly Glu Ile Asn Arg Val Ala Ser Cys Leu Arg Lys Leu Gly Val
 2900 2905 2910
 Pro Pro Leu Arg Val Trp Arg His Arg Ala Arg Ser Val Arg Ala
 2915 2920 2925
 15 Arg Leu Leu Ser Gln Gly Gly Arg Ala Ala Thr Cys Gly Lys Tyr
 2930 2935 2940
 Leu Phe Asn Trp Ala Val Lys Thr Lys Leu Lys Leu Thr Pro Ile
 20 2945 2950 2955
 Pro Ala Ala Ser Gln Leu Asp Leu Ser Gly Trp Phe Val Ala Gly
 2960 2965 2970
 25 Tyr Ser Gly Gly Asp Ile Tyr His Ser Leu Ser Arg Ala Arg Pro
 2975 2980 2985
 Arg Trp Phe Met Leu Cys Leu Leu Leu Leu Ser Val Gly Val Gly
 2990 2995 3000
 30 Ile Tyr Leu Leu Pro Asn Arg
 3005 3010
 <210> 6
 35 <211> 3033
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 40 <223> GenBank BAB32872 VCH 2a (JFH-1)
 <400> 6
 Met Ser Thr Asn Pro Lys Pro Gln Arg Lys Thr Lys Arg Asn Thr Asn
 45 1 5 10 15
 Arg Arg Pro Glu Asp Val Lys Phe Pro Gly Gly Gly Gln Ile Val Gly
 20 25 30
 50 Gly Val Tyr Leu Leu Pro Arg Arg Gly Pro Arg Leu Gly Val Arg Thr
 35 40 45

	Thr	Arg	Lys	Thr	Ser	Glu	Arg	Ser	Gln	Pro	Arg	Gly	Arg	Arg	Gln	Pro
	50						55					60				
5	Ile	Pro	Lys	Asp	Arg	Arg	Ser	Thr	Gly	Lys	Ala	Trp	Gly	Lys	Pro	Gly
	65					70					75					80
	Arg	Pro	Trp	Pro	Leu	Tyr	Gly	Asn	Glu	Gly	Leu	Gly	Trp	Ala	Gly	Trp
					85					90					95	
10	Leu	Leu	Ser	Pro	Arg	Gly	Ser	Arg	Pro	Ser	Trp	Gly	Pro	Thr	Asp	Pro
				100					105					110		
	Arg	His	Arg	Ser	Arg	Asn	Val	Gly	Lys	Val	Ile	Asp	Thr	Leu	Thr	Cys
			115					120					125			
15	Gly	Phe	Ala	Asp	Leu	Met	Gly	Tyr	Ile	Pro	Val	Val	Gly	Ala	Pro	Leu
		130					135					140				
20	Ser	Gly	Ala	Ala	Arg	Ala	Val	Ala	His	Gly	Val	Arg	Val	Leu	Glu	Asp
	145					150					155					160
	Gly	Val	Asn	Tyr	Ala	Thr	Gly	Asn	Leu	Pro	Gly	Phe	Pro	Phe	Ser	Ile
					165					170					175	
25	Phe	Leu	Leu	Ala	Leu	Leu	Ser	Cys	Ile	Thr	Val	Pro	Val	Ser	Ala	Ala
				180					185					190		
	Gln	Val	Lys	Asn	Thr	Ser	Ser	Ser	Tyr	Met	Val	Thr	Asn	Asp	Cys	Ser
			195					200					205			
30	Asn	Asp	Ser	Ile	Thr	Trp	Gln	Leu	Glu	Ala	Ala	Val	Leu	His	Val	Pro
		210					215					220				
35	Gly	Cys	Val	Pro	Cys	Glu	Arg	Val	Gly	Asn	Thr	Ser	Arg	Cys	Trp	Val
	225					230					235					240
	Pro	Val	Ser	Pro	Asn	Met	Ala	Val	Arg	Gln	Pro	Gly	Ala	Leu	Thr	Gln
					245					250					255	
40	Gly	Leu	Arg	Thr	His	Ile	Asp	Met	Val	Val	Met	Ser	Ala	Thr	Phe	Cys
				260					265					270		
	Ser	Ala	Leu	Tyr	Val	Gly	Asp	Leu	Cys	Gly	Gly	Val	Met	Leu	Ala	Ala
			275					280					285			
45	Gln	Val	Phe	Ile	Val	Ser	Pro	Gln	Tyr	His	Trp	Phe	Val	Gln	Glu	Cys
		290					295					300				
50	Asn	Cys	Ser	Ile	Tyr	Pro	Gly	Thr	Ile	Thr	Gly	His	Arg	Met	Ala	Trp
	305					310					315					320

	Asp	Met	Met	Met	Asn	Trp	Ser	Pro	Thr	Ala	Thr	Met	Ile	Leu	Ala	Tyr	
					325					330					335		
5	Val	Met	Arg	Val	Pro	Glu	Val	Ile	Ile	Asp	Ile	Val	Ser	Gly	Ala	His	
				340					345						350		
	Trp	Gly	Val	Met	Phe	Gly	Leu	Ala	Tyr	Phe	Ser	Met	Gln	Gly	Ala	Trp	
			355					360						365			
10	Ala	Lys	Val	Ile	Val	Ile	Leu	Leu	Leu	Ala	Ala	Gly	Val	Asp	Ala	Gly	
		370					375						380				
	Thr	Thr	Thr	Val	Gly	Gly	Ala	Val	Ala	Arg	Ser	Thr	Asn	Val	Ile	Ala	
	385					390					395					400	
15	Gly	Val	Phe	Ser	His	Gly	Pro	Gln	Gln	Asn	Ile	Gln	Leu	Ile	Asn	Thr	
					405					410						415	
	Asn	Gly	Ser	Trp	His	Ile	Asn	Arg	Thr	Ala	Leu	Asn	Cys	Asn	Asp	Ser	
20				420					425					430			
	Leu	Asn	Thr	Gly	Phe	Leu	Ala	Ala	Leu	Phe	Tyr	Thr	Asn	Arg	Phe	Asn	
			435				440						445				
25	Ser	Ser	Gly	Cys	Pro	Gly	Arg	Leu	Ser	Ala	Cys	Arg	Asn	Ile	Glu	Ala	
		450					455					460					
	Phe	Arg	Ile	Gly	Trp	Gly	Thr	Leu	Gln	Tyr	Glu	Asp	Asn	Val	Thr	Asn	
	465					470					475					480	
30	Pro	Glu	Asp	Met	Arg	Pro	Tyr	Cys	Trp	His	Tyr	Pro	Pro	Lys	Pro	Cys	
					485					490						495	
	Gly	Val	Val	Pro	Ala	Arg	Ser	Val	Cys	Gly	Pro	Val	Tyr	Cys	Phe	Thr	
35				500					505					510			
	Pro	Ser	Pro	Val	Val	Val	Gly	Thr	Thr	Asp	Arg	Arg	Gly	Val	Pro	Thr	
			515				520						525				
40	Tyr	Thr	Trp	Gly	Glu	Asn	Glu	Thr	Asp	Val	Phe	Leu	Leu	Asn	Ser	Thr	
		530					535					540					
	Arg	Pro	Pro	Gln	Gly	Ser	Trp	Phe	Gly	Cys	Thr	Trp	Met	Asn	Ser	Thr	
	545					550					555					560	
45	Gly	Phe	Thr	Lys	Thr	Cys	Gly	Ala	Pro	Pro	Cys	Arg	Thr	Arg	Ala	Asp	
					565				570						575		
	Phe	Asn	Ala	Ser	Thr	Asp	Leu	Leu	Cys	Pro	Thr	Asp	Cys	Phe	Arg	Lys	
50				580				585					590				

	His	Pro	Asp	Ala	Thr	Tyr	Ile	Lys	Cys	Gly	Ser	Gly	Pro	Trp	Leu	Thr
			595					600					605			
5	Pro	Lys	Cys	Leu	Val	His	Tyr	Pro	Tyr	Arg	Leu	Trp	His	Tyr	Pro	Cys
		610					615					620				
	Thr	Val	Asn	Phe	Thr	Ile	Phe	Lys	Ile	Arg	Met	Tyr	Val	Gly	Gly	Val
	625					630					635					640
10	Glu	His	Arg	Leu	Thr	Ala	Ala	Cys	Asn	Phe	Thr	Arg	Gly	Asp	Arg	Cys
					645					650					655	
	Asp	Leu	Glu	Asp	Arg	Asp	Arg	Ser	Gln	Leu	Ser	Pro	Leu	Leu	His	Ser
15				660					665					670		
	Thr	Thr	Glu	Trp	Ala	Ile	Leu	Pro	Cys	Thr	Tyr	Ser	Asp	Leu	Pro	Ala
			675					680					685			
20	Leu	Ser	Thr	Gly	Leu	Leu	His	Leu	His	Gln	Asn	Ile	Val	Asp	Val	Gln
		690					695					700				
	Tyr	Met	Tyr	Gly	Leu	Ser	Pro	Ala	Ile	Thr	Lys	Tyr	Val	Val	Arg	Trp
	705					710					715					720
25	Glu	Trp	Val	Val	Leu	Leu	Phe	Leu	Leu	Leu	Ala	Asp	Ala	Arg	Val	Cys
					725					730					735	
	Ala	Cys	Leu	Trp	Met	Leu	Ile	Leu	Leu	Gly	Gln	Ala	Glu	Ala	Ala	Leu
30				740					745					750		
	Glu	Lys	Leu	Val	Val	Leu	His	Ala	Ala	Ser	Ala	Ala	Asn	Cys	His	Gly
			755					760					765			
35	Leu	Leu	Tyr	Phe	Ala	Ile	Phe	Phe	Val	Ala	Ala	Trp	His	Ile	Arg	Gly
		770					775					780				
	Arg	Val	Val	Pro	Leu	Thr	Thr	Tyr	Cys	Leu	Thr	Gly	Leu	Trp	Pro	Phe
	785					790					795					800
40	Cys	Leu	Leu	Leu	Met	Ala	Leu	Pro	Arg	Gln	Ala	Tyr	Ala	Tyr	Asp	Ala
					805					810					815	
	Pro	Val	His	Gly	Gln	Ile	Gly	Val	Gly	Leu	Leu	Ile	Leu	Ile	Thr	Leu
45				820					825					830		
	Phe	Thr	Leu	Thr	Pro	Gly	Tyr	Lys	Thr	Leu	Leu	Gly	Gln	Cys	Leu	Trp
			835					840					845			
50	Trp	Leu	Cys	Tyr	Leu	Leu	Thr	Leu	Gly	Glu	Ala	Met	Ile	Gln	Glu	Trp
		850					855					860				

	Val	Pro	Pro	Met	Gln	Val	Arg	Gly	Gly	Arg	Asp	Gly	Ile	Ala	Trp	Ala	865	870	875	880
5	Val	Thr	Ile	Phe	Cys	Pro	Gly	Val	Val	Phe	Asp	Ile	Thr	Lys	Trp	Leu	885	890	895	
	Leu	Ala	Leu	Leu	Gly	Pro	Ala	Tyr	Leu	Leu	Arg	Ala	Ala	Leu	Thr	His	900	905	910	
10	Val	Pro	Tyr	Phe	Val	Arg	Ala	His	Ala	Leu	Ile	Arg	Val	Cys	Ala	Leu	915	920	925	
	Val	Lys	Gln	Leu	Ala	Gly	Gly	Arg	Tyr	Val	Gln	Val	Ala	Leu	Leu	Ala	930	935	940	
15	Leu	Gly	Arg	Trp	Thr	Gly	Thr	Tyr	Ile	Tyr	Asp	His	Leu	Thr	Pro	Met	945	950	955	960
20	Ser	Asp	Trp	Ala	Ala	Ser	Gly	Leu	Arg	Asp	Leu	Ala	Val	Ala	Val	Glu	965	970	975	
	Pro	Ile	Ile	Phe	Ser	Pro	Met	Glu	Lys	Lys	Val	Ile	Val	Trp	Gly	Ala	980	985	990	
25	Glu	Thr	Ala	Ala	Cys	Gly	Asp	Ile	Leu	His	Gly	Leu	Pro	Val	Ser	Ala	995	1000	1005	
30	Arg	Leu	Gly	Gln	Glu	Ile	Leu	Leu	Gly	Pro	Ala	Asp	Gly	Tyr	Thr		1010	1015	1020	
	Ser	Lys	Gly	Trp	Lys	Leu	Leu	Ala	Pro	Ile	Thr	Ala	Tyr	Ala	Gln		1025	1030	1035	
35	Gln	Thr	Arg	Gly	Leu	Leu	Gly	Ala	Ile	Val	Val	Ser	Met	Thr	Gly		1040	1045	1050	
	Arg	Asp	Arg	Thr	Glu	Gln	Ala	Gly	Glu	Val	Gln	Ile	Leu	Ser	Thr		1055	1060	1065	
40	Val	Ser	Gln	Ser	Phe	Leu	Gly	Thr	Thr	Ile	Ser	Gly	Val	Leu	Trp		1070	1075	1080	
	Thr	Val	Tyr	His	Gly	Ala	Gly	Asn	Lys	Thr	Leu	Ala	Gly	Leu	Arg		1085	1090	1095	
45	Gly	Pro	Val	Thr	Gln	Met	Tyr	Ser	Ser	Ala	Glu	Gly	Asp	Leu	Val		1100	1105	1110	
50	Gly	Trp	Pro	Ser	Pro	Pro	Gly	Thr	Lys	Ser	Leu	Glu	Pro	Cys	Lys		1115	1120	1125	

	Cys	Gly	Ala	Val	Asp	Leu	Tyr	Leu	Val	Thr	Arg	Asn	Ala	Asp	Val
	1130						1135					1140			
5	Ile	Pro	Ala	Arg	Arg	Arg	Gly	Asp	Lys	Arg	Gly	Ala	Leu	Leu	Ser
	1145						1150					1155			
	Pro	Arg	Pro	Ile	Ser	Thr	Leu	Lys	Gly	Ser	Ser	Gly	Gly	Pro	Val
	1160						1165					1170			
10	Leu	Cys	Pro	Arg	Gly	His	Val	Val	Gly	Leu	Phe	Arg	Ala	Ala	Val
	1175						1180					1185			
	Cys	Ser	Arg	Gly	Val	Ala	Lys	Ser	Ile	Asp	Phe	Ile	Pro	Val	Glu
	1190						1195					1200			
15	Thr	Leu	Asp	Val	Val	Thr	Arg	Ser	Pro	Thr	Phe	Ser	Asp	Asn	Ser
	1205						1210					1215			
	Thr	Pro	Pro	Ala	Val	Pro	Gln	Thr	Tyr	Gln	Val	Gly	Tyr	Leu	His
20	1220						1225					1230			
	Ala	Pro	Thr	Gly	Ser	Gly	Lys	Ser	Thr	Lys	Val	Pro	Val	Ala	Tyr
	1235						1240					1245			
25	Ala	Ala	Gln	Gly	Tyr	Lys	Val	Leu	Val	Leu	Asn	Pro	Ser	Val	Ala
	1250						1255					1260			
	Ala	Thr	Leu	Gly	Phe	Gly	Ala	Tyr	Leu	Ser	Lys	Ala	His	Gly	Ile
	1265						1270					1275			
30	Asn	Pro	Asn	Ile	Arg	Thr	Gly	Val	Arg	Thr	Val	Met	Thr	Gly	Glu
	1280						1285					1290			
	Ala	Ile	Thr	Tyr	Ser	Thr	Tyr	Gly	Lys	Phe	Leu	Ala	Asp	Gly	Gly
35	1295						1300					1305			
	Cys	Ala	Ser	Gly	Ala	Tyr	Asp	Ile	Ile	Ile	Cys	Asp	Glu	Cys	His
	1310						1315					1320			
40	Ala	Val	Asp	Ala	Thr	Ser	Ile	Leu	Gly	Ile	Gly	Thr	Val	Leu	Asp
	1325						1330					1335			
	Gln	Ala	Glu	Thr	Ala	Gly	Val	Arg	Leu	Thr	Val	Leu	Ala	Thr	Ala
	1340						1345					1350			
45	Thr	Pro	Pro	Gly	Ser	Val	Thr	Thr	Pro	His	Pro	Asp	Ile	Glu	Glu
	1355						1360					1365			
	Val	Gly	Leu	Gly	Arg	Glu	Gly	Glu	Ile	Pro	Phe	Tyr	Gly	Arg	Ala
50	1370						1375					1380			

	Ile	Pro	Leu	Ser	Cys	Ile	Lys	Gly	Gly	Arg	His	Leu	Ile	Phe	Cys
		1385					1390					1395			
5	His	Ser	Lys	Lys	Lys	Cys	Asp	Glu	Leu	Ala	Ala	Ala	Leu	Arg	Gly
		1400					1405					1410			
	Met	Gly	Leu	Asn	Ala	Val	Ala	Tyr	Tyr	Arg	Gly	Leu	Asp	Val	Ser
		1415					1420					1425			
10	Ile	Ile	Pro	Ala	Gln	Gly	Asp	Val	Val	Val	Val	Ala	Thr	Asp	Ala
		1430					1435					1440			
	Leu	Met	Thr	Gly	Tyr	Thr	Gly	Asp	Phe	Asp	Ser	Val	Ile	Asp	Cys
15		1445					1450					1455			
	Asn	Val	Ala	Val	Thr	Gln	Ala	Val	Asp	Phe	Ser	Leu	Asp	Pro	Thr
		1460					1465					1470			
20	Phe	Thr	Ile	Thr	Thr	Gln	Thr	Val	Pro	Gln	Asp	Ala	Val	Ser	Arg
		1475					1480					1485			
	Ser	Gln	Arg	Arg	Gly	Arg	Thr	Gly	Arg	Gly	Arg	Gln	Gly	Thr	Tyr
		1490					1495					1500			
25	Arg	Tyr	Val	Ser	Thr	Gly	Glu	Arg	Ala	Ser	Gly	Met	Phe	Asp	Ser
		1505					1510					1515			
	Val	Val	Leu	Cys	Glu	Cys	Tyr	Asp	Ala	Gly	Ala	Ala	Trp	Tyr	Asp
30		1520					1525					1530			
	Leu	Thr	Pro	Ala	Glu	Thr	Thr	Val	Arg	Leu	Arg	Ala	Tyr	Phe	Asn
		1535					1540					1545			
35	Thr	Pro	Gly	Leu	Pro	Val	Cys	Gln	Asp	His	Leu	Glu	Phe	Trp	Glu
		1550					1555					1560			
	Ala	Val	Phe	Thr	Gly	Leu	Thr	His	Ile	Asp	Ala	His	Phe	Leu	Ser
		1565					1570					1575			
40	Gln	Thr	Lys	Gln	Ala	Gly	Glu	Asn	Phe	Ala	Tyr	Leu	Val	Ala	Tyr
		1580					1585					1590			
	Gln	Ala	Thr	Val	Cys	Ala	Arg	Ala	Lys	Ala	Pro	Pro	Pro	Ser	Trp
45		1595					1600					1605			
	Asp	Ala	Met	Trp	Lys	Cys	Leu	Ala	Arg	Leu	Lys	Pro	Thr	Leu	Ala
		1610					1615					1620			
50	Gly	Pro	Thr	Pro	Leu	Leu	Tyr	Arg	Leu	Gly	Pro	Ile	Thr	Asn	Glu
		1625					1630					1635			

	Val	Thr	Leu	Thr	His	Pro	Gly	Thr	Lys	Tyr	Ile	Ala	Thr	Cys	Met
	1640						1645					1650			
5	Gln	Ala	Asp	Leu	Glu	Val	Met	Thr	Ser	Thr	Trp	Val	Leu	Ala	Gly
	1655						1660					1665			
	Gly	Val	Leu	Ala	Ala	Val	Ala	Ala	Tyr	Cys	Leu	Ala	Thr	Gly	Cys
	1670						1675					1680			
10	Val	Ser	Ile	Ile	Gly	Arg	Leu	His	Val	Asn	Gln	Arg	Val	Val	Val
	1685						1690					1695			
	Ala	Pro	Asp	Lys	Glu	Val	Leu	Tyr	Glu	Ala	Phe	Asp	Glu	Met	Glu
15	1700						1705					1710			
	Glu	Cys	Ala	Ser	Arg	Ala	Ala	Leu	Ile	Glu	Glu	Gly	Gln	Arg	Ile
	1715						1720					1725			
20	Ala	Glu	Met	Leu	Lys	Ser	Lys	Ile	Gln	Gly	Leu	Leu	Gln	Gln	Ala
	1730						1735					1740			
	Ser	Lys	Gln	Ala	Gln	Asp	Ile	Gln	Pro	Ala	Met	Gln	Ala	Ser	Trp
	1745						1750					1755			
25	Pro	Lys	Val	Glu	Gln	Phe	Trp	Ala	Arg	His	Met	Trp	Asn	Phe	Ile
	1760						1765					1770			
	Ser	Gly	Ile	Gln	Tyr	Leu	Ala	Gly	Leu	Ser	Thr	Leu	Pro	Gly	Asn
30	1775						1780					1785			
	Pro	Ala	Val	Ala	Ser	Met	Met	Ala	Phe	Ser	Ala	Ala	Leu	Thr	Ser
	1790						1795					1800			
35	Pro	Leu	Ser	Thr	Ser	Thr	Thr	Ile	Leu	Leu	Asn	Ile	Met	Gly	Gly
	1805						1810					1815			
	Trp	Leu	Ala	Ser	Gln	Ile	Ala	Pro	Pro	Ala	Gly	Ala	Thr	Gly	Phe
	1820						1825					1830			
40	Val	Val	Ser	Gly	Leu	Val	Gly	Ala	Ala	Val	Gly	Ser	Ile	Gly	Leu
	1835						1840					1845			
	Gly	Lys	Val	Leu	Val	Asp	Ile	Leu	Ala	Gly	Tyr	Gly	Ala	Gly	Ile
45	1850						1855					1860			
	Ser	Gly	Ala	Leu	Val	Ala	Phe	Lys	Ile	Met	Ser	Gly	Glu	Lys	Pro
	1865						1870					1875			
50	Ser	Met	Glu	Asp	Val	Ile	Asn	Leu	Leu	Pro	Gly	Ile	Leu	Ser	Pro
	1880						1885					1890			

	Gly	Ala	Leu	Val	Val	Gly	Val	Ile	Cys	Ala	Ala	Ile	Leu	Arg	Arg
	1895						1900					1905			
5	His	Val	Gly	Pro	Gly	Glu	Gly	Ala	Val	Gln	Trp	Met	Asn	Arg	Leu
	1910						1915					1920			
	Ile	Ala	Phe	Ala	Ser	Arg	Gly	Asn	His	Val	Ala	Pro	Thr	His	Tyr
	1925						1930					1935			
10	Val	Thr	Glu	Ser	Asp	Ala	Ser	Gln	Arg	Val	Thr	Gln	Leu	Leu	Gly
	1940						1945					1950			
	Ser	Leu	Thr	Ile	Thr	Ser	Leu	Leu	Arg	Arg	Leu	His	Asn	Trp	Ile
	1955						1960					1965			
15	Thr	Glu	Asp	Cys	Pro	Ile	Pro	Cys	Ser	Gly	Ser	Trp	Leu	Arg	Asp
	1970						1975					1980			
	Val	Trp	Asp	Trp	Val	Cys	Thr	Ile	Leu	Thr	Asp	Phe	Lys	Asn	Trp
20	1985						1990					1995			
	Leu	Thr	Ser	Lys	Leu	Phe	Pro	Lys	Leu	Pro	Gly	Leu	Pro	Phe	Ile
	2000						2005					2010			
25	Ser	Cys	Gln	Lys	Gly	Tyr	Lys	Gly	Val	Trp	Ala	Gly	Thr	Gly	Ile
	2015						2020					2025			
	Met	Thr	Thr	Arg	Cys	Pro	Cys	Gly	Ala	Asn	Ile	Ser	Gly	Asn	Val
	2030						2035					2040			
30	Arg	Leu	Gly	Ser	Met	Arg	Ile	Thr	Gly	Pro	Lys	Thr	Cys	Met	Asn
	2045						2050					2055			
	Thr	Trp	Gln	Gly	Thr	Phe	Pro	Ile	Asn	Cys	Tyr	Thr	Glu	Gly	Gln
35	2060						2065					2070			
	Cys	Ala	Pro	Lys	Pro	Pro	Thr	Asn	Tyr	Lys	Thr	Ala	Ile	Trp	Arg
	2075						2080					2085			
40	Val	Ala	Ala	Ser	Glu	Tyr	Ala	Glu	Val	Thr	Gln	His	Gly	Ser	Tyr
	2090						2095					2100			
	Ser	Tyr	Val	Thr	Gly	Leu	Thr	Thr	Asp	Asn	Leu	Lys	Ile	Pro	Cys
	2105						2110					2115			
45	Gln	Leu	Pro	Ser	Pro	Glu	Phe	Phe	Ser	Trp	Val	Asp	Gly	Val	Gln
	2120						2125					2130			
	Ile	His	Arg	Phe	Ala	Pro	Thr	Pro	Lys	Pro	Phe	Phe	Arg	Asp	Glu
50	2135						2140					2145			

	Val	Ser	Phe	Cys	Val	Gly	Leu	Asn	Ser	Tyr	Ala	Val	Gly	Ser	Gln
	2150						2155					2160			
5	Leu	Pro	Cys	Glu	Pro	Glu	Pro	Asp	Ala	Asp	Val	Leu	Arg	Ser	Met
	2165						2170					2175			
	Leu	Thr	Asp	Pro	Pro	His	Ile	Thr	Ala	Glu	Thr	Ala	Ala	Arg	Arg
	2180						2185					2190			
10	Leu	Ala	Arg	Gly	Ser	Pro	Pro	Ser	Glu	Ala	Ser	Ser	Ser	Val	Ser
	2195						2200					2205			
	Gln	Leu	Ser	Ala	Pro	Ser	Leu	Arg	Ala	Thr	Cys	Thr	Thr	His	Ser
	2210						2215					2220			
15	Asn	Thr	Tyr	Asp	Val	Asp	Met	Val	Asp	Ala	Asn	Leu	Leu	Met	Glu
	2225						2230					2235			
	Gly	Gly	Val	Ala	Gln	Thr	Glu	Pro	Glu	Ser	Arg	Val	Pro	Val	Leu
20	2240						2245					2250			
	Asp	Phe	Leu	Glu	Pro	Met	Ala	Glu	Glu	Glu	Ser	Asp	Leu	Glu	Pro
	2255						2260					2265			
25	Ser	Ile	Pro	Ser	Glu	Cys	Met	Leu	Pro	Arg	Ser	Gly	Phe	Pro	Arg
	2270						2275					2280			
	Ala	Leu	Pro	Ala	Trp	Ala	Arg	Pro	Asp	Tyr	Asn	Pro	Pro	Leu	Val
	2285						2290					2295			
30	Glu	Ser	Trp	Arg	Arg	Pro	Asp	Tyr	Gln	Pro	Pro	Thr	Val	Ala	Gly
	2300						2305					2310			
	Cys	Ala	Leu	Pro	Pro	Pro	Lys	Lys	Ala	Pro	Thr	Pro	Pro	Pro	Arg
35	2315						2320					2325			
	Arg	Arg	Arg	Thr	Val	Gly	Leu	Ser	Glu	Ser	Thr	Ile	Ser	Glu	Ala
	2330						2335					2340			
40	Leu	Gln	Gln	Leu	Ala	Ile	Lys	Thr	Phe	Gly	Gln	Pro	Pro	Ser	Ser
	2345						2350					2355			
	Gly	Asp	Ala	Gly	Ser	Ser	Thr	Gly	Ala	Gly	Ala	Ala	Glu	Ser	Gly
	2360						2365					2370			
45	Gly	Pro	Thr	Ser	Pro	Gly	Glu	Pro	Ala	Pro	Ser	Glu	Thr	Gly	Ser
	2375						2380					2385			
	Ala	Ser	Ser	Met	Pro	Pro	Leu	Glu	Gly	Glu	Pro	Gly	Asp	Pro	Asp
50	2390						2395					2400			

	Leu	Glu	Ser	Asp	Gln	Val	Glu	Leu	Gln	Pro	Pro	Pro	Gln	Gly	Gly
	2405						2410					2415			
5	Gly	Val	Ala	Pro	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Trp	Ser	Thr	Cys	Ser
	2420						2425					2430			
	Glu	Glu	Asp	Asp	Thr	Thr	Val	Cys	Cys	Ser	Met	Ser	Tyr	Ser	Trp
	2435						2440					2445			
10	Thr	Gly	Ala	Leu	Ile	Thr	Pro	Cys	Ser	Pro	Glu	Glu	Glu	Lys	Leu
	2450						2455					2460			
	Pro	Ile	Asn	Pro	Leu	Ser	Asn	Ser	Leu	Leu	Arg	Tyr	His	Asn	Lys
	2465						2470					2475			
15	Val	Tyr	Cys	Thr	Thr	Ser	Lys	Ser	Ala	Ser	Gln	Arg	Ala	Lys	Lys
	2480						2485					2490			
20	Val	Thr	Phe	Asp	Arg	Thr	Gln	Val	Leu	Asp	Ala	His	Tyr	Asp	Ser
	2495						2500					2505			
	Val	Leu	Lys	Asp	Ile	Lys	Leu	Ala	Ala	Ser	Lys	Val	Ser	Ala	Arg
	2510						2515					2520			
25	Leu	Leu	Thr	Leu	Glu	Glu	Ala	Cys	Gln	Leu	Thr	Pro	Pro	His	Ser
	2525						2530					2535			
	Ala	Arg	Ser	Lys	Tyr	Gly	Phe	Gly	Ala	Lys	Glu	Val	Arg	Ser	Leu
	2540						2545					2550			
30	Ser	Gly	Arg	Ala	Val	Asn	His	Ile	Lys	Ser	Val	Trp	Lys	Asp	Leu
	2555						2560					2565			
	Leu	Glu	Asp	Pro	Gln	Thr	Pro	Ile	Pro	Thr	Thr	Ile	Met	Ala	Lys
	2570						2575					2580			
35	Asn	Glu	Val	Phe	Cys	Val	Asp	Pro	Ala	Lys	Gly	Gly	Lys	Lys	Pro
	2585						2590					2595			
40	Ala	Arg	Leu	Ile	Val	Tyr	Pro	Asp	Leu	Gly	Val	Arg	Val	Cys	Glu
	2600						2605					2610			
	Lys	Met	Ala	Leu	Tyr	Asp	Ile	Thr	Gln	Lys	Leu	Pro	Gln	Ala	Val
	2615						2620					2625			
45	Met	Gly	Ala	Ser	Tyr	Gly	Phe	Gln	Tyr	Ser	Pro	Ala	Gln	Arg	Val
	2630						2635					2640			
	Glu	Tyr	Leu	Leu	Lys	Ala	Trp	Ala	Glu	Lys	Lys	Asp	Pro	Met	Gly
50	2645						2650					2655			

	Phe	Ser	Tyr	Asp	Thr	Arg	Cys	Phe	Asp	Ser	Thr	Val	Thr	Glu	Arg
	2660						2665					2670			
5	Asp	Ile	Arg	Thr	Glu	Glu	Ser	Ile	Tyr	Gln	Ala	Cys	Ser	Leu	Pro
	2675						2680					2685			
	Glu	Glu	Ala	Arg	Thr	Ala	Ile	His	Ser	Leu	Thr	Glu	Arg	Leu	Tyr
	2690						2695					2700			
10	Val	Gly	Gly	Pro	Met	Phe	Asn	Ser	Lys	Gly	Gln	Thr	Cys	Gly	Tyr
	2705						2710					2715			
	Arg	Arg	Cys	Arg	Ala	Ser	Gly	Val	Leu	Thr	Thr	Ser	Met	Gly	Asn
15	2720						2725					2730			
	Thr	Ile	Thr	Cys	Tyr	Val	Lys	Ala	Leu	Ala	Ala	Cys	Lys	Ala	Ala
	2735						2740					2745			
20	Gly	Ile	Val	Ala	Pro	Thr	Met	Leu	Val	Cys	Gly	Asp	Asp	Leu	Val
	2750						2755					2760			
	Val	Ile	Ser	Glu	Ser	Gln	Gly	Thr	Glu	Glu	Asp	Glu	Arg	Asn	Leu
	2765						2770					2775			
25	Arg	Ala	Phe	Thr	Glu	Ala	Met	Thr	Arg	Tyr	Ser	Ala	Pro	Pro	Gly
	2780						2785					2790			
	Asp	Pro	Pro	Arg	Pro	Glu	Tyr	Asp	Leu	Glu	Leu	Ile	Thr	Ser	Cys
30	2795						2800					2805			
	Ser	Ser	Asn	Val	Ser	Val	Ala	Leu	Gly	Pro	Arg	Gly	Arg	Arg	Arg
	2810						2815					2820			
35	Tyr	Tyr	Leu	Thr	Arg	Asp	Pro	Thr	Thr	Pro	Leu	Ala	Arg	Ala	Ala
	2825						2830					2835			
	Trp	Glu	Thr	Val	Arg	His	Ser	Pro	Ile	Asn	Ser	Trp	Leu	Gly	Asn
	2840						2845					2850			
40	Ile	Ile	Gln	Tyr	Ala	Pro	Thr	Ile	Trp	Val	Arg	Met	Val	Leu	Met
	2855						2860					2865			
	Thr	His	Phe	Phe	Ser	Ile	Leu	Met	Val	Gln	Asp	Thr	Leu	Asp	Gln
45	2870						2875					2880			
	Asn	Leu	Asn	Phe	Glu	Met	Tyr	Gly	Ser	Val	Tyr	Ser	Val	Asn	Pro
	2885						2890					2895			
50	Leu	Asp	Leu	Pro	Ala	Ile	Ile	Glu	Arg	Leu	His	Gly	Leu	Asp	Ala
	2900						2905					2910			

	Phe	Ser	Met	His	Thr	Tyr	Ser	His	His	Glu	Leu	Thr	Arg	Val	Ala	
	2915						2920					2925				
5	Ser	Ala	Leu	Arg	Lys	Leu	Gly	Ala	Pro	Pro	Leu	Arg	Val	Trp	Lys	
	2930						2935					2940				
	Ser	Arg	Ala	Arg	Ala	Val	Arg	Ala	Ser	Leu	Ile	Ser	Arg	Gly	Gly	
	2945						2950					2955				
10	Lys	Ala	Ala	Val	Cys	Gly	Arg	Tyr	Leu	Phe	Asn	Trp	Ala	Val	Lys	
	2960						2965					2970				
	Thr	Lys	Leu	Lys	Leu	Thr	Pro	Leu	Pro	Glu	Ala	Arg	Leu	Leu	Asp	
	2975						2980					2985				
15	Leu	Ser	Ser	Trp	Phe	Thr	Val	Gly	Ala	Gly	Gly	Gly	Asp	Ile	Phe	
	2990						2995					3000				
	His	Ser	Val	Ser	Arg	Ala	Arg	Pro	Arg	Ser	Leu	Leu	Phe	Gly	Leu	
20	3005						3010					3015				
	Leu	Leu	Leu	Phe	Val	Gly	Val	Gly	Leu	Phe	Leu	Leu	Pro	Ala	Arg	
	3020						3025					3030				
25	<210>	7														
	<211>	3033														
	<212>	PRT														
	<213>	Secuencia Artificial														
30	<220>															
	<223>	GenBank BAB08107 VCH 2b (JPUT971017)														
	<400>	7														
35	Met	Ser	Thr	Asn	Pro	Lys	Pro	Gln	Arg	Lys	Thr	Lys	Arg	Asn	Thr	Asn
	1				5					10				15		
	Arg	Arg	Pro	Gln	Asp	Val	Lys	Phe	Pro	Gly	Gly	Gly	Gln	Ile	Val	Gly
				20					25					30		
40	Gly	Val	Tyr	Leu	Leu	Pro	Arg	Arg	Gly	Pro	Arg	Leu	Gly	Val	Arg	Ala
		35					40					45				
	Thr	Arg	Lys	Thr	Ser	Glu	Arg	Ser	Gln	Pro	Arg	Gly	Arg	Arg	Gln	Pro
45	50					55						60				
	Ile	Pro	Lys	Asp	Arg	Arg	Ser	Thr	Gly	Lys	Ser	Trp	Gly	Lys	Pro	Gly
	65				70					75					80	
50	Tyr	Pro	Trp	Pro	Leu	Tyr	Gly	Asn	Glu	Gly	Cys	Gly	Trp	Ala	Gly	Trp
					85					90					95	

	Leu	Leu	Ser	Pro	Arg	Gly	Ser	Arg	Pro	Thr	Trp	Gly	Pro	Ser	Asp	Pro
				100					105					110		
5	Arg	His	Arg	Ser	Arg	Asn	Leu	Gly	Arg	Val	Ile	Asp	Thr	Ile	Thr	Cys
			115					120					125			
	Gly	Phe	Ala	Asp	Leu	Met	Gly	Tyr	Ile	Pro	Val	Val	Gly	Ala	Pro	Val
		130					135					140				
10	Gly	Gly	Val	Ala	Arg	Ala	Leu	Ala	His	Gly	Val	Arg	Val	Leu	Glu	Asp
	145					150					155					160
	Gly	Ile	Asn	Tyr	Ala	Thr	Arg	Asn	Leu	Pro	Gly	Cys	Ser	Phe	Ser	Ile
					165					170					175	
15	Phe	Leu	Leu	Ala	Leu	Leu	Ser	Cys	Val	Thr	Val	Pro	Val	Ser	Ser	Val
				180					185					190		
20	Glu	Ile	Arg	Asn	Ile	Ser	Thr	Ser	Tyr	Tyr	Ala	Thr	Asn	Asp	Cys	Ser
			195					200					205			
	Asn	Asn	Ser	Ile	Thr	Trp	Gln	Leu	Thr	Asn	Ala	Val	Leu	His	Leu	Pro
		210					215					220				
25	Gly	Cys	Val	Pro	Cys	Glu	Asn	Asp	Asn	Gly	Thr	Leu	Arg	Cys	Trp	Ile
	225					230					235					240
	Gln	Val	Thr	Pro	Asn	Val	Ala	Val	Lys	His	Arg	Gly	Ala	Leu	Thr	His
					245					250					255	
30	Asn	Leu	Arg	Ala	His	Val	Asp	Val	Ile	Val	Met	Ala	Ala	Thr	Val	Cys
				260					265					270		
35	Ser	Ala	Leu	Tyr	Val	Gly	Asp	Val	Cys	Gly	Ala	Val	Met	Ile	Val	Ser
			275					280					285			
	Gln	Ala	Leu	Ile	Val	Ser	Pro	Glu	Arg	His	Asn	Phe	Thr	Gln	Glu	Cys
		290					295					300				
40	Asn	Cys	Ser	Ile	Tyr	Gln	Gly	His	Ile	Thr	Gly	Gln	Arg	Met	Ala	Trp
	305					310					315					320
	Asp	Met	Met	Leu	Asn	Trp	Ser	Pro	Thr	Leu	Thr	Met	Ile	Leu	Ala	Tyr
				325						330				335		
45	Ala	Ala	Arg	Val	Pro	Glu	Leu	Val	Leu	Glu	Ile	Val	Phe	Gly	Gly	His
				340					345					350		
50	Trp	Gly	Val	Val	Phe	Gly	Leu	Ala	Tyr	Phe	Ser	Met	Gln	Gly	Ala	Trp
			355					360					365			

	Ala	Lys	Val	Ile	Ala	Ile	Leu	Leu	Leu	Val	Ala	Gly	Val	Asp	Ala	Thr
	370						375					380				
5	Thr	Tyr	Ser	Thr	Gly	Ala	Thr	Val	Gly	Arg	Thr	Val	Gly	Ser	Phe	Ala
	385					390					395					400
	Gly	Leu	Phe	Lys	Leu	Gly	Ala	Gln	Gln	Asn	Val	Gln	Leu	Ile	Asn	Thr
					405					410					415	
10	Asn	Gly	Ser	Trp	His	Ile	Asn	Arg	Thr	Ala	Leu	Asn	Cys	Asn	Asp	Ser
				420					425					430		
	Leu	His	Thr	Gly	Phe	Met	Ala	Ala	Leu	Phe	Tyr	Ala	Asn	Lys	Phe	Asn
				435				440					445			
15	Ser	Ser	Gly	Cys	Pro	Glu	Arg	Leu	Ser	Ser	Cys	Arg	Gly	Leu	Asp	Asp
		450					455					460				
20	Phe	Arg	Ile	Gly	Trp	Gly	Thr	Leu	Glu	Tyr	Glu	Thr	Asn	Val	Thr	Asn
	465					470					475					480
	Val	Glu	Asp	Met	Arg	Pro	Tyr	Cys	Trp	His	Tyr	Pro	Pro	Lys	Pro	Cys
					485					490					495	
25	Gly	Ile	Val	Pro	Ala	Gln	Ser	Val	Cys	Gly	Pro	Val	Tyr	Cys	Phe	Thr
				500					505					510		
	Pro	Ser	Pro	Val	Val	Val	Gly	Thr	Thr	Asp	Arg	Gln	Gly	Val	Pro	Thr
				515				520					525			
30	Tyr	Asn	Trp	Gly	Asp	Asn	Glu	Thr	Asp	Val	Phe	Leu	Leu	Asn	Ser	Thr
		530					535					540				
35	Arg	Pro	Pro	Arg	Gly	Ala	Trp	Phe	Gly	Cys	Thr	Trp	Met	Asn	Gly	Thr
	545					550					555					560
	Gly	Phe	Thr	Lys	Thr	Cys	Gly	Ala	Pro	Pro	Cys	Arg	Ile	Arg	Lys	Asp
					565					570					575	
40	Phe	Asn	Ser	Thr	Leu	Asp	Leu	Leu	Cys	Pro	Thr	Asp	Cys	Phe	Arg	Lys
				580					585					590		
	His	Pro	Asp	Ala	Thr	Tyr	Val	Lys	Cys	Gly	Ala	Gly	Pro	Trp	Leu	Thr
			595					600					605			
45	Pro	Arg	Cys	Leu	Ile	Asp	Tyr	Pro	Tyr	Arg	Leu	Trp	His	Tyr	Pro	Cys
		610					615					620				
50	Thr	Val	Asn	Phe	Thr	Ile	Phe	Lys	Val	Arg	Met	Tyr	Val	Gly	Gly	Val
	625					630					635					640

	Glu	His	Arg	Phe	Ser	Ala	Ala	Cys	Asn	Phe	Thr	Arg	Gly	Asp	Arg	Cys
					645					650					655	
5	Arg	Leu	Glu	Asp	Arg	Asp	Arg	Gly	Gln	Gln	Ser	Pro	Leu	Leu	His	Ser
				660					665					670		
	Thr	Thr	Glu	Trp	Ala	Val	Leu	Pro	Cys	Ser	Phe	Ser	Asp	Leu	Pro	Ala
			675					680					685			
10	Leu	Ser	Thr	Gly	Leu	Leu	His	Leu	His	Gln	Asn	Ile	Val	Asp	Val	Gln
		690					695					700				
	Tyr	Leu	Tyr	Gly	Leu	Ser	Pro	Ala	Val	Thr	Lys	Tyr	Ile	Val	Lys	Trp
	705					710					715					720
15	Glu	Trp	Val	Val	Leu	Leu	Phe	Leu	Leu	Leu	Ala	Asp	Ala	Arg	Ile	Cys
					725					730					735	
	Ala	Cys	Leu	Trp	Met	Leu	Ile	Ile	Leu	Gly	Gln	Ala	Glu	Ala	Ala	Leu
20				740					745					750		
	Glu	Lys	Leu	Ile	Ile	Leu	His	Ser	Ala	Ser	Ala	Ala	Ser	Ala	Asn	Gly
			755					760					765			
25	Pro	Leu	Trp	Phe	Phe	Ile	Phe	Phe	Thr	Ala	Ala	Trp	Tyr	Leu	Lys	Gly
		770					775					780				
	Arg	Val	Val	Pro	Ala	Ala	Thr	Tyr	Ser	Val	Leu	Gly	Leu	Trp	Ser	Phe
	785					790					795					800
30	Leu	Leu	Leu	Val	Leu	Ala	Leu	Pro	Gln	Gln	Ala	Tyr	Ala	Leu	Asp	Ala
					805					810					815	
	Ala	Glu	Gln	Gly	Glu	Leu	Gly	Leu	Val	Ile	Leu	Met	Ile	Ile	Ser	Ile
35				820					825					830		
	Phe	Thr	Leu	Thr	Pro	Ala	Tyr	Lys	Ile	Leu	Leu	Ser	Arg	Ser	Val	Trp
			835					840					845			
40	Trp	Leu	Ser	Tyr	Met	Leu	Val	Leu	Ala	Glu	Ala	Gln	Val	Gln	Gln	Trp
		850					855					860				
	Val	Pro	Pro	Leu	Glu	Ala	Arg	Gly	Gly	Arg	Asp	Gly	Ile	Ile	Trp	Val
	865					870					875					880
45	Ala	Val	Ile	Leu	His	Pro	His	Leu	Val	Phe	Glu	Val	Thr	Lys	Trp	Leu
					885					890					895	
	Leu	Ala	Ile	Leu	Gly	Ser	Ala	Tyr	Leu	Leu	Lys	Ala	Ser	Leu	Leu	Arg
50				900					905					910		

	Val	Pro	Tyr	Phe	Val	Arg	Ala	His	Ala	Leu	Leu	Arg	Val	Cys	Thr	Leu
			915					920						925		
5	Val	Arg	His	Leu	Ala	Gly	Ala	Arg	Tyr	Ile	Gln	Met	Leu	Leu	Ile	Thr
		930					935					940				
	Met	Gly	Arg	Trp	Thr	Gly	Thr	Tyr	Ile	Tyr	Asp	His	Leu	Ser	Pro	Leu
	945					950					955					960
10	Ser	Thr	Trp	Ala	Ala	Gln	Gly	Leu	Arg	Asp	Leu	Ala	Val	Ala	Val	Glu
					965					970					975	
	Pro	Val	Val	Phe	Ser	Pro	Met	Glu	Lys	Lys	Val	Ile	Val	Trp	Gly	Ala
15				980					985					990		
	Glu	Thr	Val	Ala	Cys	Gly	Asp	Ile	Leu	His	Gly	Leu	Pro	Val	Ser	Ala
			995					1000					1005			
20	Arg	Leu	Gly	Arg	Glu	Val	Leu	Leu	Gly	Pro	Ala	Asp	Gly	Tyr	Thr	
		1010					1015					1020				
	Ser	Lys	Gly	Trp	Lys	Leu	Leu	Ala	Pro	Ile	Thr	Ala	Tyr	Thr	Gln	
		1025					1030					1035				
25	Gln	Thr	Arg	Gly	Leu	Leu	Gly	Ala	Ile	Val	Val	Ser	Leu	Thr	Gly	
		1040					1045					1050				
	Arg	Asp	Lys	Asn	Glu	Gln	Ala	Gly	Gln	Val	Gln	Val	Leu	Ser	Ser	
30		1055					1060					1065				
	Val	Thr	Gln	Ser	Phe	Leu	Gly	Thr	Ser	Ile	Ser	Gly	Val	Leu	Trp	
		1070					1075					1080				
35	Thr	Val	Tyr	His	Gly	Ala	Gly	Asn	Lys	Thr	Leu	Ala	Ser	Pro	Arg	
		1085					1090					1095				
	Gly	Pro	Val	Thr	Gln	Met	Tyr	Thr	Ser	Ala	Glu	Gly	Asp	Leu	Val	
		1100					1105					1110				
40	Gly	Trp	Pro	Ser	Pro	Pro	Gly	Thr	Lys	Ser	Leu	Asp	Pro	Cys	Thr	
		1115					1120					1125				
	Cys	Gly	Ala	Val	Asp	Leu	Tyr	Leu	Val	Thr	Arg	Asn	Ala	Asp	Val	
45		1130					1135					1140				
	Ile	Pro	Val	Arg	Arg	Lys	Asp	Asp	Arg	Arg	Gly	Ala	Leu	Leu	Ser	
		1145					1150					1155				
50	Pro	Arg	Pro	Leu	Ser	Thr	Leu	Lys	Gly	Ser	Ser	Gly	Gly	Pro	Val	
		1160					1165					1170				

	Leu	Cys	Pro	Arg	Gly	His	Ala	Val	Gly	Leu	Phe	Arg	Ala	Ala	Val
	1175						1180					1185			
5	Cys	Ala	Arg	Gly	Val	Ala	Lys	Ser	Ile	Asp	Phe	Ile	Pro	Val	Glu
	1190						1195					1200			
	Ser	Leu	Asp	Ile	Ala	Arg	Arg	Thr	Pro	Ser	Phe	Ser	Asp	Asn	Ser
	1205						1210					1215			
10	Thr	Pro	Pro	Ala	Val	Pro	Gln	Thr	Tyr	Gln	Val	Gly	Tyr	Leu	His
	1220						1225					1230			
	Ala	Pro	Thr	Gly	Ser	Gly	Lys	Ser	Thr	Lys	Val	Pro	Ala	Ala	Tyr
15	1235						1240					1245			
	Thr	Ser	Gln	Gly	Tyr	Lys	Val	Leu	Val	Leu	Asn	Pro	Ser	Val	Ala
	1250						1255					1260			
20	Ala	Thr	Leu	Gly	Phe	Gly	Ala	Tyr	Met	Ser	Lys	Ala	His	Gly	Ile
	1265						1270					1275			
	Asn	Pro	Asn	Ile	Arg	Thr	Gly	Val	Arg	Thr	Val	Thr	Thr	Gly	Asp
	1280						1285					1290			
25	Ser	Ile	Thr	Tyr	Ser	Thr	Tyr	Gly	Lys	Phe	Leu	Ala	Asp	Gly	Gly
	1295						1300					1305			
	Cys	Ser	Ala	Gly	Ala	Tyr	Asp	Ile	Ile	Ile	Cys	Asp	Glu	Cys	His
30	1310						1315					1320			
	Ser	Val	Asp	Ala	Thr	Thr	Ile	Leu	Gly	Ile	Gly	Thr	Val	Leu	Asp
	1325						1330					1335			
	Gln	Ala	Glu	Thr	Ala	Gly	Val	Arg	Leu	Val	Val	Leu	Ala	Thr	Ala
35	1340						1345					1350			
	Thr	Pro	Pro	Gly	Thr	Val	Thr	Thr	Pro	His	Ala	Asn	Ile	Glu	Glu
	1355						1360					1365			
40	Val	Ala	Leu	Gly	His	Glu	Gly	Glu	Ile	Pro	Phe	Tyr	Gly	Lys	Ala
	1370						1375					1380			
	Ile	Pro	Leu	Ala	Ser	Ile	Lys	Gly	Gly	Arg	His	Leu	Ile	Phe	Cys
45	1385						1390					1395			
	His	Ser	Lys	Lys	Lys	Cys	Asp	Glu	Leu	Ala	Ala	Ala	Leu	Arg	Gly
	1400						1405					1410			
50	Met	Gly	Val	Asn	Ala	Val	Ala	Tyr	Tyr	Arg	Gly	Leu	Asp	Val	Ser
	1415						1420					1425			

	Val	Ile	Pro	Thr	Gln	Gly	Asp	Val	Val	Val	Val	Ala	Thr	Asp	Ala
	1430						1435					1440			
5	Leu	Met	Thr	Gly	Tyr	Thr	Gly	Asp	Phe	Asp	Ser	Val	Ile	Asp	Cys
	1445						1450					1455			
	Asn	Val	Ala	Val	Thr	Gln	Ile	Val	Asp	Phe	Ser	Leu	Asp	Pro	Thr
	1460						1465					1470			
10	Phe	Thr	Ile	Thr	Thr	Gln	Thr	Val	Pro	Gln	Asp	Ala	Val	Ser	Arg
	1475						1480					1485			
	Ser	Gln	Arg	Arg	Gly	Arg	Thr	Gly	Arg	Gly	Arg	Leu	Gly	Thr	Tyr
	1490						1495					1500			
15	Arg	Tyr	Val	Ser	Ser	Gly	Glu	Arg	Pro	Ser	Gly	Met	Phe	Asp	Ser
	1505						1510					1515			
	Val	Val	Leu	Cys	Glu	Cys	Tyr	Asp	Ala	Gly	Ala	Ala	Trp	Tyr	Glu
20	1520						1525					1530			
	Leu	Thr	Pro	Ala	Glu	Thr	Thr	Val	Arg	Leu	Arg	Ala	Tyr	Phe	Asn
	1535						1540					1545			
25	Thr	Pro	Gly	Leu	Pro	Val	Cys	Gln	Asp	His	Leu	Glu	Phe	Trp	Glu
	1550						1555					1560			
	Ala	Val	Phe	Thr	Gly	Leu	Thr	His	Ile	Asp	Ala	His	Phe	Leu	Ser
	1565						1570					1575			
30	Gln	Thr	Lys	Gln	Gly	Gly	Asp	Asn	Phe	Ala	Tyr	Leu	Thr	Ala	Tyr
	1580						1585					1590			
	Gln	Ala	Thr	Val	Cys	Ala	Arg	Ala	Lys	Ala	Pro	Pro	Pro	Ser	Trp
35	1595						1600					1605			
	Asp	Val	Met	Trp	Lys	Cys	Leu	Thr	Arg	Leu	Lys	Pro	Thr	Leu	Thr
	1610						1615					1620			
40	Gly	Pro	Thr	Pro	Leu	Leu	Tyr	Arg	Leu	Gly	Ala	Val	Thr	Asn	Glu
	1625						1630					1635			
	Ile	Thr	Leu	Thr	His	Pro	Val	Thr	Lys	Tyr	Ile	Ala	Thr	Cys	Met
	1640						1645					1650			
45	Gln	Ala	Asp	Leu	Glu	Val	Met	Thr	Ser	Thr	Trp	Val	Leu	Ala	Gly
	1655						1660					1665			
	Gly	Val	Leu	Ala	Ala	Val	Ala	Ala	Tyr	Cys	Leu	Ala	Thr	Gly	Cys
50	1670						1675					1680			

	Ile	Ser	Ile	Ile	Gly	Arg	Ile	His	Leu	Asn	Asp	Gln	Val	Val	Val
	1685						1690					1695			
5	Ala	Pro	Asp	Lys	Glu	Ile	Leu	Tyr	Glu	Ala	Phe	Asp	Glu	Met	Glu
	1700						1705					1710			
	Glu	Cys	Ala	Ser	Lys	Ala	Ala	Leu	Ile	Glu	Glu	Gly	Gln	Arg	Met
	1715						1720					1725			
10	Ala	Glu	Met	Leu	Lys	Ser	Lys	Ile	Leu	Gly	Leu	Leu	Gln	Gln	Ala
	1730						1735					1740			
	Thr	Lys	Gln	Ala	Gln	Asp	Ile	Gln	Pro	Ala	Met	Gln	Ser	Ser	Trp
	1745						1750					1755			
15	Pro	Lys	Ile	Glu	Gln	Phe	Trp	Ala	Arg	His	Met	Trp	Asn	Phe	Ile
	1760						1765					1770			
20	Ser	Gly	Ile	Gln	Tyr	Leu	Ala	Gly	Leu	Ser	Thr	Leu	Pro	Gly	Asn
	1775						1780					1785			
	Pro	Ala	Val	Ala	Ser	Met	Met	Ala	Phe	Ser	Ala	Ala	Leu	Thr	Ser
	1790						1795					1800			
25	Pro	Leu	Pro	Thr	Ser	Thr	Thr	Ile	Leu	Leu	Asn	Ile	Met	Gly	Gly
	1805						1810					1815			
	Trp	Leu	Ala	Ser	Gln	Ile	Ala	Pro	Pro	Ala	Gly	Ala	Thr	Gly	Phe
	1820						1825					1830			
30	Val	Val	Ser	Gly	Leu	Val	Gly	Ala	Ala	Val	Gly	Ser	Ile	Gly	Leu
	1835						1840					1845			
	Gly	Lys	Ile	Leu	Val	Asp	Val	Leu	Ala	Gly	Tyr	Gly	Ala	Gly	Ile
35	1850						1855					1860			
	Ser	Gly	Ala	Leu	Val	Ala	Phe	Lys	Ile	Met	Ser	Gly	Glu	Lys	Pro
	1865						1870					1875			
40	Ser	Val	Glu	Asp	Val	Val	Asn	Leu	Leu	Pro	Ala	Ile	Leu	Ser	Pro
	1880						1885					1890			
	Gly	Ala	Leu	Val	Val	Gly	Val	Ile	Cys	Ala	Ala	Ile	Leu	Arg	Arg
	1895						1900					1905			
45	His	Val	Gly	Gln	Gly	Glu	Gly	Ala	Val	Gln	Trp	Met	Asn	Arg	Leu
	1910						1915					1920			
	Ile	Ala	Phe	Ala	Ser	Arg	Gly	Asn	His	Val	Ala	Pro	Thr	His	Tyr
50	1925						1930					1935			

	Val	Ala	Glu	Ser	Asp	Ala	Ser	Leu	Arg	Val	Thr	Gln	Val	Leu	Ser
	1940						1945					1950			
5	Ser	Leu	Thr	Ile	Thr	Ser	Leu	Leu	Arg	Arg	Leu	His	Ala	Trp	Ile
	1955						1960					1965			
	Thr	Glu	Asp	Cys	Pro	Val	Pro	Cys	Ser	Gly	Ser	Trp	Leu	Arg	Asp
	1970						1975					1980			
10	Ile	Trp	Glu	Trp	Val	Cys	Ser	Ile	Leu	Thr	Asp	Phe	Lys	Asn	Trp
	1985						1990					1995			
	Leu	Ser	Ala	Lys	Leu	Leu	Pro	Lys	Met	Pro	Gly	Leu	Pro	Phe	Ile
15	2000						2005					2010			
	Ser	Cys	Gln	Lys	Gly	Tyr	Arg	Gly	Val	Trp	Ala	Gly	Thr	Gly	Val
	2015						2020					2025			
20	Met	Thr	Thr	Arg	Cys	Ser	Cys	Gly	Ala	Asn	Ile	Ser	Gly	His	Val
	2030						2035					2040			
	Arg	Leu	Gly	Thr	Met	Lys	Ile	Thr	Gly	Pro	Lys	Thr	Cys	Leu	Asn
	2045						2050					2055			
25	Met	Trp	Gln	Gly	Thr	Phe	Pro	Ile	Asn	Cys	Tyr	Thr	Glu	Gly	Pro
	2060						2065					2070			
	Cys	Val	Pro	Lys	Pro	Pro	Pro	Asn	Tyr	Lys	Thr	Ala	Ile	Trp	Arg
30	2075						2080					2085			
	Val	Ala	Ala	Ser	Glu	Tyr	Val	Glu	Val	Thr	Gln	His	Gly	Ser	Phe
	2090						2095					2100			
35	Ser	Tyr	Val	Thr	Gly	Leu	Thr	Ser	Asp	Asn	Leu	Lys	Val	Pro	Cys
	2105						2110					2115			
	Gln	Val	Pro	Ala	Pro	Glu	Phe	Phe	Ser	Trp	Val	Asp	Gly	Val	Gln
	2120						2125					2130			
40	Ile	His	Arg	Phe	Ala	Pro	Thr	Pro	Gly	Pro	Phe	Phe	Arg	Asp	Glu
	2135						2140					2145			
	Val	Thr	Phe	Thr	Val	Gly	Leu	Asn	Ser	Leu	Val	Val	Gly	Ser	Gln
45	2150						2155					2160			
	Leu	Pro	Cys	Asp	Pro	Glu	Pro	Asp	Thr	Glu	Val	Leu	Ala	Ser	Met
	2165						2170					2175			
50	Leu	Thr	Asp	Pro	Ser	His	Ile	Thr	Ala	Glu	Thr	Ala	Ala	Arg	Arg
	2180						2185					2190			

	Leu	Ala	Arg	Gly	Ser	Pro	Pro	Ser	Gln	Ala	Ser	Ser	Ser	Ala	Ser
	2195						2200					2205			
5	Gln	Leu	Ser	Ala	Pro	Ser	Leu	Lys	Ala	Thr	Cys	Thr	Thr	His	Lys
	2210						2215					2220			
	Thr	Ala	Tyr	Asp	Cys	Asp	Met	Val	Asp	Ala	Asn	Leu	Phe	Met	Gly
	2225						2230					2235			
10	Gly	Asp	Val	Thr	Arg	Ile	Glu	Ser	Asp	Ser	Lys	Val	Ile	Val	Leu
	2240						2245					2250			
	Asp	Ser	Leu	Asp	Ser	Met	Thr	Glu	Val	Glu	Asp	Asp	Arg	Glu	Pro
15	2255						2260					2265			
	Ser	Val	Pro	Ser	Glu	Tyr	Leu	Thr	Arg	Arg	Arg	Lys	Phe	Pro	Pro
	2270						2275					2280			
20	Ala	Leu	Pro	Pro	Trp	Ala	Arg	Pro	Asp	Tyr	Asn	Pro	Pro	Val	Ile
	2285						2290					2295			
	Glu	Thr	Trp	Lys	Arg	Pro	Asp	Tyr	Glu	Pro	Pro	Thr	Val	Leu	Gly
	2300						2305					2310			
25	Cys	Ala	Leu	Pro	Pro	Thr	Pro	Gln	Ala	Pro	Val	Pro	Pro	Pro	Arg
	2315						2320					2325			
	Arg	Arg	Arg	Ala	Arg	Val	Leu	Thr	Gln	Asp	Asn	Val	Glu	Gly	Val
30	2330						2335					2340			
	Leu	Arg	Glu	Met	Ala	Asp	Lys	Val	Leu	Ser	Pro	Leu	Gln	Asp	Thr
	2345						2350					2355			
35	Asn	Asp	Ser	Gly	His	Ser	Thr	Gly	Ala	Asp	Thr	Gly	Gly	Asp	Ser
	2360						2365					2370			
	Val	Gln	Gln	Pro	Ser	Gly	Glu	Thr	Ala	Ala	Ser	Asp	Ala	Gly	Ser
	2375						2380					2385			
40	Leu	Ser	Ser	Met	Pro	Pro	Leu	Glu	Gly	Glu	Pro	Gly	Asp	Pro	Asp
	2390						2395					2400			
	Leu	Glu	Phe	Glu	Pro	Ala	Arg	Ser	Ala	Pro	Pro	Ser	Glu	Gly	Glu
45	2405						2410					2415			
	Cys	Glu	Val	Ile	Asp	Ser	Asp	Ser	Lys	Ser	Trp	Ser	Thr	Val	Ser
	2420						2425					2430			
50	Asp	Gln	Glu	Asp	Ser	Val	Ile	Cys	Cys	Ser	Met	Ser	Tyr	Ser	Trp
	2435						2440					2445			

	Thr	Gly	Ala	Leu	Ile	Thr	Pro	Cys	Gly	Pro	Glu	Glu	Glu	Lys	Leu
	2450						2455					2460			
5	Pro	Ile	Ser	Pro	Leu	Ser	Asn	Ser	Leu	Met	Arg	Phe	His	Asn	Lys
	2465						2470					2475			
	Val	Tyr	Ser	Thr	Thr	Ser	Arg	Ser	Ala	Ser	Leu	Arg	Ala	Lys	Lys
	2480						2485					2490			
10	Val	Thr	Phe	Asp	Arg	Val	Gln	Val	Leu	Asp	Ala	His	Tyr	Asp	Ser
	2495						2500					2505			
	Val	Leu	Gln	Asp	Val	Lys	Arg	Ala	Ala	Ser	Lys	Val	Ser	Ala	Arg
15	2510						2515					2520			
	Leu	Leu	Ser	Val	Glu	Glu	Ala	Cys	Ala	Leu	Thr	Pro	Pro	His	Ser
	2525						2530					2535			
20	Ala	Lys	Ser	Arg	Tyr	Gly	Phe	Gly	Ala	Lys	Glu	Val	Arg	Ser	Leu
	2540						2545					2550			
	Ser	Arg	Gly	Ala	Val	Asn	His	Ile	Arg	Ser	Val	Trp	Glu	Asp	Leu
	2555						2560					2565			
25	Leu	Glu	Asp	Gln	His	Thr	Pro	Ile	Asp	Thr	Thr	Ala	Met	Ala	Lys
	2570						2575					2580			
	Asn	Glu	Val	Phe	Cys	Ile	Asp	Pro	Ala	Lys	Gly	Gly	Lys	Lys	Pro
30	2585						2590					2595			
	Ala	Arg	Leu	Ile	Val	Tyr	Pro	Asp	Leu	Gly	Val	Arg	Val	Cys	Glu
	2600						2605					2610			
35	Lys	Met	Ala	Leu	Tyr	Asp	Ile	Ala	Gln	Lys	Leu	Pro	Lys	Ala	Ile
	2615						2620					2625			
	Met	Gly	Pro	Ser	Tyr	Gly	Phe	Gln	Tyr	Ser	Pro	Ala	Glu	Arg	Val
	2630						2635					2640			
40	Asp	Phe	Leu	Leu	Lys	Ala	Trp	Gly	Ser	Lys	Lys	Asp	Pro	Met	Gly
	2645						2650					2655			
	Phe	Ser	Tyr	Asp	Thr	Arg	Cys	Phe	Asp	Ser	Thr	Val	Thr	Glu	Arg
45	2660						2665					2670			
	Asp	Ile	Arg	Thr	Glu	Glu	Ser	Ile	Tyr	Gln	Ala	Cys	Ser	Leu	Pro
	2675						2680					2685			
50	Gln	Glu	Ala	Arg	Thr	Val	Ile	His	Ser	Ile	Thr	Glu	Arg	Leu	Tyr
	2690						2695					2700			

	Val	Gly	Gly	Pro	Met	Thr	Asn	Ser	Lys	Gly	Gln	Ser	Cys	Gly	Tyr
	2705						2710					2715			
5	Arg	Arg	Cys	Arg	Ala	Ser	Gly	Val	Phe	Thr	Thr	Ser	Met	Gly	Asn
	2720						2725					2730			
	Thr	Met	Thr	Cys	Tyr	Ile	Lys	Ala	Leu	Ala	Ala	Cys	Lys	Ala	Ala
	2735						2740					2745			
10	Gly	Ile	Val	Asp	Pro	Thr	Met	Leu	Val	Cys	Gly	Asp	Asp	Leu	Val
	2750						2755					2760			
	Val	Ile	Ser	Glu	Ser	Gln	Gly	Asn	Glu	Glu	Asp	Glu	Arg	Asn	Leu
15	2765						2770					2775			
	Arg	Ala	Phe	Thr	Glu	Ala	Met	Thr	Arg	Tyr	Ser	Ala	Pro	Pro	Gly
	2780						2785					2790			
20	Asp	Leu	Pro	Arg	Pro	Glu	Tyr	Asp	Leu	Glu	Leu	Ile	Thr	Ser	Cys
	2795						2800					2805			
	Ser	Ser	Asn	Val	Ser	Val	Ala	Leu	Asp	Ser	Arg	Gly	Arg	Arg	Arg
	2810						2815					2820			
25	Tyr	Phe	Leu	Thr	Arg	Asp	Pro	Thr	Thr	Pro	Ile	Thr	Arg	Ala	Ala
	2825						2830					2835			
	Trp	Glu	Thr	Val	Arg	His	Ser	Pro	Val	Asn	Ser	Trp	Leu	Gly	Asn
30	2840						2845					2850			
	Ile	Ile	Gln	Tyr	Ala	Pro	Thr	Ile	Trp	Val	Arg	Met	Val	Ile	Met
	2855						2860					2865			
35	Thr	His	Phe	Phe	Ser	Ile	Leu	Leu	Ala	Gln	Asp	Thr	Leu	Asn	Gln
	2870						2875					2880			
	Asn	Leu	Asn	Phe	Glu	Met	Tyr	Gly	Ala	Val	Tyr	Ser	Val	Asn	Pro
	2885						2890					2895			
40	Leu	Asp	Leu	Pro	Ala	Ile	Ile	Glu	Arg	Leu	His	Gly	Leu	Asp	Ala
	2900						2905					2910			
	Phe	Ser	Leu	His	Thr	Tyr	Ser	Pro	His	Glu	Leu	Ser	Arg	Val	Ala
45	2915						2920					2925			
	Ala	Thr	Leu	Arg	Lys	Leu	Gly	Ala	Pro	Pro	Leu	Arg	Ala	Trp	Lys
	2930						2935					2940			
50	Ser	Arg	Ala	Arg	Ala	Val	Arg	Ala	Ser	Leu	Ile	Ile	Gln	Gly	Gly
	2945						2950					2955			

Arg Ala Ala Thr Cys Gly Arg Tyr Leu Phe Asn Trp Ala Val Lys
 2960 2965 2970
 5 Thr Lys Leu Lys Leu Thr Pro Leu Pro Glu Ala Ser Arg Leu Asp
 2975 2980 2985
 Leu Ser Gly Trp Phe Thr Val Gly Ala Gly Gly Gly Asp Ile Phe
 2990 2995 3000
 10 His Ser Val Ser His Ala Arg Pro Arg Leu Leu Leu Leu Cys Leu
 3005 3010 3015
 Leu Leu Leu Ser Val Gly Val Gly Ile Phe Leu Leu Pro Ala Arg
 3020 3025 3030
 15
 <210> 8
 <211> 3008
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 20
 <220>
 <223> GenBank CAA72338 VCH 4 (ED43)
 <400> 8
 25
 Met Ser Thr Asn Pro Lys Pro Gln Arg Lys Thr Lys Arg Asn Thr Asn
 1 5 10 15
 Arg Arg Pro Met Asp Val Lys Phe Pro Gly Gly Gly Gln Ile Val Gly
 30 20 25 30
 Gly Val Tyr Leu Leu Pro Arg Arg Gly Pro Arg Leu Gly Val Arg Ala
 35 35 40 45
 35 Thr Arg Lys Thr Ser Glu Arg Ser Gln Pro Arg Gly Arg Arg Gln Pro
 50 55 60
 Ile Pro Lys Ala Arg Arg Pro Glu Gly Arg Ser Trp Ala Gln Pro Gly
 65 70 75 80
 40 Tyr Pro Trp Pro Leu Tyr Gly Asn Glu Gly Cys Gly Trp Ala Gly Trp
 85 90 95
 Leu Leu Ser Pro Arg Gly Ser Arg Pro Ser Trp Gly Pro Asn Asp Pro
 45 100 105 110
 Arg Gly Arg Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Ile Asp Thr Leu Thr Cys
 115 120 125
 50 Gly Phe Ala Asp Leu Met Gly Tyr Ile Pro Leu Val Gly Ala Pro Val
 130 135 140

	Gly	Ser	Val	Ala	Arg	Ala	Leu	Ala	His	Gly	Val	Arg	Ala	Leu	Glu	Asp	
	145					150					155					160	
5	Gly	Ile	Asn	Tyr	Ala	Thr	Gly	Asn	Leu	Pro	Gly	Cys	Ser	Phe	Ser	Ile	
					165					170					175		
	Phe	Leu	Leu	Ala	Leu	Leu	Ser	Cys	Leu	Thr	Val	Pro	Ala	Ser	Ala	Val	
				180					185					190			
10	Asn	Tyr	Arg	Asn	Val	Ser	Gly	Ile	Tyr	His	Val	Thr	Asn	Asp	Cys	Pro	
			195					200					205				
	Asn	Ser	Ser	Ile	Val	Tyr	Glu	Ala	Asp	His	His	Ile	Met	His	Leu	Pro	
15		210					215					220					
	Gly	Cys	Val	Pro	Cys	Val	Arg	Glu	Gly	Asn	Gln	Ser	Arg	Cys	Trp	Val	
	225					230					235					240	
20	Ala	Leu	Thr	Pro	Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Tyr	Ile	Gly	Ala	Pro	Leu	Glu	
					245					250					255		
	Ser	Leu	Arg	Ser	His	Val	Asp	Leu	Met	Val	Gly	Ala	Ala	Thr	Val	Cys	
				260					265					270			
25	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ile	Gly	Asp	Leu	Cys	Gly	Gly	Leu	Phe	Leu	Val	Gly	
			275					280					285				
	Gln	Met	Phe	Ser	Phe	Arg	Pro	Arg	Arg	His	Trp	Thr	Thr	Gln	Asp	Cys	
30		290					295					300					
	Asn	Cys	Ser	Ile	Tyr	Thr	Gly	His	Ile	Thr	Gly	His	Arg	Met	Ala	Trp	
	305					310					315					320	
	Asp	Met	Met	Met	Asn	Trp	Ser	Pro	Thr	Thr	Thr	Leu	Val	Leu	Ala	Gln	
35					325					330					335		
	Val	Met	Arg	Ile	Pro	Thr	Thr	Leu	Val	Asp	Leu	Leu	Ser	Gly	Gly	His	
				340					345					350			
40	Trp	Gly	Val	Leu	Val	Gly	Val	Ala	Tyr	Phe	Ser	Met	Gln	Ala	Asn	Trp	
			355					360					365				
	Ala	Lys	Val	Ile	Leu	Val	Leu	Phe	Leu	Phe	Ala	Gly	Val	Asp	Ala	Glu	
45		370					375					380					
	Thr	His	Val	Ser	Gly	Ala	Ala	Val	Gly	Arg	Ser	Thr	Ala	Gly	Leu	Ala	
	385					390					395					400	
50	Asn	Leu	Phe	Ser	Ser	Gly	Ser	Lys	Gln	Asn	Leu	Gln	Leu	Ile	Asn	Ser	
					405					410					415		

	Asn	Gly	Ser	Trp	His	Ile	Asn	Arg	Thr	Ala	Leu	Asn	Cys	Asn	Asp	Ser
				420					425					430		
5	Leu	Asn	Thr	Gly	Phe	Leu	Ala	Ser	Leu	Phe	Tyr	Thr	His	Lys	Phe	Asn
			435					440					445			
	Ser	Ser	Gly	Cys	Ser	Glu	Arg	Leu	Ala	Cys	Cys	Lys	Ser	Leu	Asp	Ser
		450					455					460				
10	Tyr	Gly	Gln	Gly	Trp	Gly	Pro	Leu	Gly	Val	Ala	Asn	Ile	Ser	Gly	Ser
	465					470					475					480
	Ser	Asp	Asp	Arg	Pro	Tyr	Cys	Trp	His	Tyr	Ala	Pro	Arg	Pro	Cys	Gly
					485					490					495	
15	Ile	Val	Pro	Ala	Ser	Ser	Val	Cys	Gly	Pro	Val	Tyr	Cys	Phe	Thr	Pro
				500					505					510		
	Ser	Pro	Val	Val	Val	Gly	Thr	Thr	Asp	His	Val	Gly	Val	Pro	Thr	Tyr
20			515					520					525			
	Thr	Trp	Gly	Glu	Asn	Glu	Thr	Asp	Val	Phe	Leu	Leu	Asn	Ser	Thr	Arg
		530					535					540				
25	Pro	Pro	His	Gly	Ala	Trp	Phe	Gly	Cys	Val	Trp	Met	Asn	Ser	Thr	Gly
	545					550					555					560
	Phe	Thr	Lys	Thr	Cys	Gly	Ala	Pro	Pro	Cys	Glu	Val	Asn	Thr	Asn	Asn
					565					570					575	
30	Gly	Thr	Trp	His	Cys	Pro	Thr	Asp	Cys	Phe	Arg	Lys	His	Pro	Glu	Thr
				580					585					590		
	Thr	Tyr	Ala	Lys	Cys	Gly	Ser	Gly	Pro	Trp	Ile	Thr	Pro	Arg	Cys	Leu
35			595					600					605			
	Ile	Asp	Tyr	Pro	Tyr	Arg	Leu	Trp	His	Phe	Pro	Cys	Thr	Ala	Asn	Phe
		610					615					620				
40	Ser	Val	Phe	Asn	Ile	Arg	Thr	Phe	Val	Gly	Gly	Ile	Glu	His	Arg	Met
	625					630					635					640
	Gln	Ala	Ala	Cys	Asn	Trp	Thr	Arg	Gly	Glu	Val	Cys	Gly	Leu	Glu	His
					645					650					655	
45	Arg	Asp	Arg	Val	Glu	Leu	Ser	Pro	Leu	Leu	Leu	Thr	Thr	Thr	Ala	Trp
				660					665						670	
	Gln	Ile	Leu	Pro	Cys	Ser	Phe	Thr	Thr	Leu	Pro	Ala	Leu	Ser	Thr	Gly
50			675					680					685			

	Leu	Ile	His	Leu	His	Gln	Asn	Ile	Val	Asp	Val	Gln	Tyr	Leu	Tyr	Gly
	690						695					700				
5	Val	Gly	Ser	Ala	Val	Val	Ser	Trp	Ala	Leu	Lys	Trp	Glu	Tyr	Val	Val
	705					710					715					720
	Leu	Ala	Phe	Leu	Leu	Leu	Ala	Asp	Ala	Arg	Val	Ser	Ala	Tyr	Leu	Trp
					725					730					735	
10	Met	Met	Phe	Met	Val	Ser	Gln	Val	Glu	Ala	Ala	Leu	Ser	Asn	Leu	Ile
				740					745					750		
	Asn	Ile	Asn	Ala	Ala	Ser	Ala	Ala	Gly	Ala	Gln	Gly	Phe	Trp	Tyr	Ala
			755					760					765			
15	Ile	Leu	Phe	Ile	Cys	Ile	Val	Trp	His	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Pro	Ala
	770					775						780				
20	Ala	Ala	Ala	Tyr	Ala	Ala	Cys	Gly	Leu	Trp	Pro	Cys	Phe	Leu	Leu	Leu
	785					790					795					800
	Leu	Met	Leu	Pro	Glu	Arg	Ala	Tyr	Ala	Tyr	Asp	Gln	Glu	Val	Ala	Gly
					805					810					815	
25	Ser	Leu	Gly	Gly	Ala	Ile	Val	Val	Met	Leu	Thr	Ile	Leu	Thr	Leu	Ser
				820					825					830		
	Pro	His	Tyr	Lys	Leu	Trp	Leu	Ala	Arg	Gly	Leu	Trp	Trp	Ile	Gln	Tyr
			835					840					845			
30	Phe	Ile	Ala	Arg	Thr	Glu	Ala	Val	Leu	His	Val	Tyr	Ile	Pro	Ser	Phe
			850				855					860				
35	Asn	Val	Arg	Gly	Pro	Arg	Asp	Ser	Val	Ile	Val	Leu	Ala	Val	Leu	Val
	865					870					875					880
	Cys	Pro	Asp	Leu	Val	Phe	Asp	Ile	Thr	Lys	Tyr	Leu	Leu	Ala	Ile	Leu
				885						890					895	
40	Gly	Pro	Leu	His	Ile	Leu	Gln	Ala	Ser	Leu	Leu	Arg	Ile	Pro	Tyr	Phe
				900					905					910		
	Val	Arg	Ala	Gln	Ala	Leu	Val	Lys	Ile	Cys	Ser	Leu	Leu	Arg	Gly	Val
			915					920					925			
45	Val	Tyr	Gly	Lys	Tyr	Phe	Gln	Met	Val	Val	Leu	Lys	Ser	Arg	Gly	Leu
		930					935					940				
50	Thr	Gly	Thr	Tyr	Ile	Tyr	Asp	His	Leu	Thr	Pro	Met	Ser	Asp	Trp	Pro
	945					950					955					960

	Pro	Tyr	Gly	Leu	Arg	Asp	Leu	Ala	Val	Ala	Leu	Glu	Pro	Val	Val	Phe
					965					970					975	
5	Thr	Pro	Met	Glu	Lys	Lys	Val	Ile	Val	Trp	Gly	Ala	Asp	Thr	Ala	Ala
				980				985					990			
	Cys	Gly	Asp	Ile	Ile	Arg	Gly	Leu	Pro	Val	Ser	Ala	Arg	Leu	Gly	Asn
			995					1000					1005			
10	Glu	Ile	Leu	Leu	Gly	Pro	Ala	Asp	Thr	Glu	Thr	Ser	Lys	Gly	Trp	
		1010					1015					1020				
	Arg	Leu	Leu	Ala	Pro	Ile	Thr	Ala	Tyr	Ala	Gln	Gln	Thr	Arg	Gly	
		1025					1030					1035				
15	Leu	Phe	Ser	Thr	Ile	Val	Thr	Ser	Leu	Thr	Gly	Arg	Asp	Thr	Asn	
		1040					1045					1050				
	Glu	Asn	Cys	Gly	Glu	Val	Gln	Val	Leu	Ser	Thr	Ala	Thr	Gln	Ser	
20		1055					1060					1065				
	Phe	Leu	Gly	Thr	Ala	Val	Asn	Gly	Val	Met	Trp	Thr	Val	Tyr	His	
		1070					1075					1080				
25	Gly	Ala	Gly	Ala	Lys	Thr	Ile	Ser	Gly	Pro	Lys	Gly	Pro	Val	Asn	
		1085					1090					1095				
	Gln	Met	Tyr	Thr	Asn	Val	Asp	Gln	Asp	Leu	Val	Gly	Trp	Pro	Ala	
		1100					1105					1110				
30	Pro	Pro	Gly	Val	Arg	Ser	Leu	Ala	Pro	Cys	Thr	Cys	Gly	Ser	Ala	
		1115					1120					1125				
	Asp	Leu	Tyr	Leu	Val	Thr	Arg	His	Ala	Asp	Val	Ile	Pro	Val	Arg	
35		1130					1135					1140				
	Arg	Arg	Gly	Asp	Thr	Arg	Gly	Ala	Leu	Leu	Ser	Pro	Arg	Pro	Ile	
		1145					1150					1155				
40	Ser	Ile	Leu	Lys	Gly	Ser	Ser	Gly	Gly	Pro	Leu	Leu	Cys	Pro	Met	
		1160					1165					1170				
	Gly	His	Arg	Ala	Gly	Ile	Phe	Arg	Ala	Ala	Val	Cys	Thr	Arg	Gly	
		1175					1180					1185				
45	Val	Ala	Lys	Ala	Val	Asp	Phe	Val	Pro	Val	Glu	Ser	Leu	Glu	Thr	
		1190					1195					1200				
	Thr	Met	Arg	Ser	Pro	Val	Phe	Thr	Asp	Asn	Ser	Thr	Pro	Pro	Ala	
50		1205					1210					1215				

	Val	Pro	Gln	Thr	Tyr	Gln	Val	Ala	His	Leu	His	Ala	Pro	Thr	Gly
	1220						1225					1230			
5	Ser	Gly	Lys	Ser	Thr	Lys	Val	Pro	Ala	Ala	His	Ala	Ala	Gln	Gly
	1235						1240					1245			
	Tyr	Lys	Val	Leu	Val	Leu	Asn	Pro	Ser	Val	Ala	Ala	Thr	Leu	Gly
	1250						1255					1260			
10	Phe	Gly	Val	Tyr	Met	Ser	Lys	Ala	Tyr	Gly	Ile	Asp	Pro	Asn	Ile
	1265						1270					1275			
	Arg	Ser	Gly	Val	Arg	Thr	Ile	Thr	Thr	Gly	Ala	Pro	Ile	Thr	Tyr
15		1280					1285					1290			
	Ser	Thr	Tyr	Gly	Lys	Phe	Leu	Ala	Asp	Gly	Gly	Cys	Ser	Gly	Gly
	1295						1300					1305			
	Ala	Tyr	Asp	Ile	Ile	Ile	Cys	Asp	Glu	Cys	Tyr	Ser	Thr	Asp	Ser
20		1310					1315					1320			
	Thr	Thr	Ile	Leu	Gly	Ile	Gly	Thr	Val	Leu	Asp	Gln	Ala	Glu	Thr
	1325						1330					1335			
25	Ala	Gly	Val	Arg	Leu	Thr	Val	Leu	Ala	Thr	Ala	Thr	Pro	Pro	Gly
	1340						1345					1350			
	Ser	Val	Thr	Thr	Pro	His	Ser	Asn	Ile	Glu	Glu	Val	Ala	Leu	Pro
30		1355					1360					1365			
	Thr	Thr	Gly	Glu	Ile	Pro	Phe	Tyr	Gly	Lys	Ala	Ile	Pro	Leu	Glu
	1370						1375					1380			
	Leu	Ile	Lys	Gly	Gly	Arg	His	Leu	Ile	Phe	Cys	His	Ser	Lys	Lys
35		1385					1390					1395			
	Lys	Cys	Asp	Glu	Leu	Ala	Arg	Gln	Leu	Thr	Ser	Leu	Gly	Leu	Asn
	1400						1405					1410			
40	Ala	Val	Ala	Tyr	Tyr	Arg	Gly	Leu	Asp	Val	Ser	Val	Ile	Pro	Thr
	1415						1420					1425			
	Ser	Gly	Asp	Val	Val	Val	Cys	Ala	Thr	Asp	Ala	Leu	Met	Thr	Gly
45		1430					1435					1440			
	Phe	Thr	Gly	Asp	Phe	Asp	Ser	Val	Ile	Asp	Cys	Asn	Thr	Ser	Val
	1445						1450					1455			
50	Ile	Gln	Thr	Val	Asp	Phe	Ser	Leu	Asp	Pro	Thr	Phe	Ser	Ile	Glu
	1460						1465					1470			

	Ile	Thr	Thr	Val	Pro	Gln	Asp	Ala	Val	Ser	Arg	Ser	Gln	Arg	Arg
	1475						1480					1485			
5	Gly	Arg	Thr	Gly	Arg	Gly	Arg	Leu	Gly	Thr	Tyr	Arg	Tyr	Val	Thr
	1490						1495					1500			
	Pro	Gly	Glu	Arg	Pro	Ser	Gly	Met	Phe	Asp	Thr	Ala	Glu	Leu	Cys
	1505						1510					1515			
10	Glu	Cys	Tyr	Asp	Ala	Gly	Cys	Ala	Trp	Tyr	Glu	Leu	Thr	Pro	Ala
	1520						1525					1530			
	Glu	Thr	Thr	Thr	Arg	Leu	Lys	Ala	Tyr	Phe	Asp	Thr	Pro	Gly	Leu
15	1535						1540					1545			
	Pro	Val	Cys	Gln	Asp	His	Leu	Glu	Phe	Trp	Glu	Ser	Val	Phe	Thr
	1550						1555					1560			
20	Gly	Leu	Thr	His	Ile	Asp	Gly	His	Phe	Leu	Ser	Gln	Thr	Lys	Gln
	1565						1570					1575			
	Ser	Gly	Glu	Asn	Phe	Pro	Tyr	Leu	Val	Ala	Tyr	Gln	Ala	Thr	Val
	1580						1585					1590			
25	Ser	Ala	Lys	Val	Trp	Leu	Ala	Pro	Pro	Ser	Trp	Asp	Thr	Met	Trp
	1595						1600					1605			
	Lys	Cys	Leu	Ile	Arg	Leu	Lys	Pro	Thr	Leu	His	Gly	Pro	Thr	Pro
30	1610						1615					1620			
	Leu	Leu	Tyr	Arg	Leu	Gly	Ser	Val	Gln	Asn	Glu	Val	Val	Leu	Thr
	1625						1630					1635			
35	His	Pro	Ile	Thr	Lys	Tyr	Ile	Met	Ala	Cys	Met	Ser	Ala	Asp	Leu
	1640						1645					1650			
	Glu	Val	Val	Thr	Ser	Thr	Trp	Val	Leu	Val	Gly	Gly	Val	Leu	Ala
	1655						1660					1665			
40	Ala	Leu	Ala	Ala	Tyr	Cys	Leu	Ser	Val	Gly	Ser	Val	Val	Ile	Val
	1670						1675					1680			
	Gly	Arg	Val	Val	Leu	Ser	Gly	Gln	Pro	Ala	Val	Ile	Pro	Asp	Arg
45	1685						1690					1695			
	Glu	Val	Leu	Tyr	Gln	Gln	Phe	Asp	Glu	Met	Glu	Glu	Cys	Ser	Lys
	1700						1705					1710			
50	His	Leu	Pro	Leu	Val	Glu	His	Gly	Leu	Gln	Leu	Ala	Glu	Gln	Phe
	1715						1720					1725			

	Lys	Gln	Lys	Ala	Leu	Gly	Leu	Leu	Asn	Phe	Ala	Gly	Lys	Gln	Ala
	1730						1735					1740			
5	Gln	Glu	Ala	Thr	Pro	Val	Ile	Gln	Ser	Asn	Phe	Ala	Lys	Leu	Glu
	1745						1750					1755			
	Gln	Phe	Trp	Ala	Asn	Asp	Met	Trp	Asn	Phe	Ile	Ser	Gly	Ile	Gln
	1760						1765					1770			
10	Tyr	Leu	Ala	Gly	Leu	Ser	Thr	Leu	Pro	Gly	Asn	Pro	Ala	Ile	Ala
	1775						1780					1785			
	Ser	Leu	Met	Ser	Phe	Thr	Ala	Ala	Val	Thr	Ser	Pro	Leu	Thr	Thr
	1790						1795					1800			
15	Gln	Gln	Thr	Leu	Leu	Phe	Asn	Ile	Leu	Gly	Gly	Trp	Val	Ala	Ser
	1805						1810					1815			
	Gln	Ile	Arg	Asp	Ser	Asp	Ala	Ser	Thr	Ala	Phe	Val	Val	Ser	Gly
20	1820						1825					1830			
	Leu	Ala	Gly	Ala	Ala	Val	Gly	Ser	Val	Gly	Leu	Gly	Lys	Ile	Leu
	1835						1840					1845			
25	Val	Asp	Ile	Leu	Pro	Gly	Tyr	Gly	Ala	Gly	Val	Arg	Gly	Ala	Val
	1850						1855					1860			
	Val	Thr	Phe	Lys	Ile	Met	Ser	Gly	Glu	Met	Pro	Ser	Thr	Glu	Asp
	1865						1870					1875			
30	Leu	Val	Asn	Leu	Leu	Pro	Ala	Ile	Leu	Ser	Pro	Gly	Ala	Leu	Val
	1880						1885					1890			
	Val	Glu	Val	Val	Cys	Pro	Ala	Ile	Leu	Arg	Arg	His	Val	Gly	Pro
35	1895						1900					1905			
	Gly	Glu	Gly	Ala	Val	Gln	Trp	Met	Asn	Arg	Leu	Ile	Ala	Phe	Ala
	1910						1915					1920			
40	Ser	Arg	Gly	Asn	His	Val	Ser	Pro	Thr	His	Tyr	Val	Pro	Glu	Ser
	1925						1930					1935			
	Asp	Ala	Ala	Arg	Arg	Val	Thr	Thr	Ile	Leu	Ser	Ser	Leu	Thr	Val
	1940						1945					1950			
45	Thr	Ser	Leu	Leu	Arg	Arg	Leu	His	Lys	Trp	Ile	Asn	Glu	Asp	Cys
	1955						1960					1965			
	Ser	Thr	Pro	Cys	Ala	Glu	Ser	Trp	Leu	Trp	Glu	Val	Trp	Asp	Trp
50	1970						1975					1980			

	Val	Leu	His	Val	Leu	Ser	Asp	Phe	Lys	Thr	Cys	Leu	Lys	Ala	Lys
	1985						1990					1995			
5	Phe	Val	Pro	Leu	Met	Pro	Gly	Ile	Pro	Leu	Leu	Ser	Trp	Pro	Arg
	2000						2005					2010			
	Gly	Tyr	Lys	Gly	Glu	Trp	Arg	Gly	Asp	Gly	Val	Met	His	Thr	Thr
	2015						2020					2025			
10	Cys	Pro	Cys	Gly	Ala	Asp	Leu	Ala	Gly	His	Ile	Lys	Asn	Gly	Ser
	2030						2035					2040			
	Met	Arg	Ile	Thr	Gly	Pro	Lys	Thr	Cys	Ser	Asn	Thr	Trp	His	Gly
15	2045						2050					2055			
	Thr	Phe	Pro	Ile	Asn	Ala	Tyr	Thr	Thr	Gly	Pro	Gly	Val	Pro	Ile
	2060						2065					2070			
20	Pro	Ala	Pro	Asn	Tyr	Lys	Phe	Ala	Leu	Trp	Arg	Val	Ser	Ala	Glu
	2075						2080					2085			
	Asp	Tyr	Val	Glu	Val	Arg	Arg	Val	Gly	Asp	Phe	His	Tyr	Val	Thr
	2090						2095					2100			
25	Gly	Val	Thr	Gln	Asp	Asn	Ile	Lys	Phe	Pro	Cys	Gln	Val	Pro	Ala
	2105						2110					2115			
	Pro	Glu	Leu	Phe	Thr	Glu	Val	Asp	Gly	Ile	Arg	Ile	His	Arg	His
30	2120						2125					2130			
	Ala	Pro	Lys	Cys	Lys	Pro	Leu	Leu	Arg	Asp	Glu	Val	Ser	Phe	Ser
	2135						2140					2145			
35	Val	Gly	Leu	Asn	Ser	Phe	Val	Val	Gly	Ser	Gln	Leu	Pro	Cys	Glu
	2150						2155					2160			
	Pro	Glu	Pro	Asp	Val	Ala	Val	Leu	Thr	Ser	Met	Leu	Thr	Asp	Pro
	2165						2170					2175			
40	Ser	His	Ile	Thr	Ala	Glu	Ser	Ala	Arg	Arg	Arg	Leu	Ala	Arg	Gly
	2180						2185					2190			
	Ser	Arg	Pro	Ser	Leu	Ala	Ser	Ser	Ser	Ala	Ser	Gln	Leu	Ser	Pro
45	2195						2200					2205			
	Arg	Leu	Leu	Gln	Ala	Thr	Cys	Thr	Ala	Pro	His	Asp	Ser	Pro	Gly
	2210						2215					2220			
50	Thr	Asp	Leu	Leu	Glu	Ala	Asn	Leu	Leu	Trp	Gly	Ser	Thr	Ala	Thr
	2225						2230					2235			

	Arg	Val	Glu	Thr	Asp	Glu	Lys	Val	Ile	Ile	Leu	Asp	Ser	Phe	Glu
	2240						2245					2250			
5	Ser	Cys	Val	Ala	Glu	Gln	Asn	Asp	Asp	Arg	Glu	Val	Ser	Val	Ala
	2255						2260					2265			
	Ala	Glu	Ile	Leu	Arg	Pro	Thr	Lys	Lys	Phe	Pro	Pro	Ala	Leu	Pro
	2270						2275					2280			
10	Ile	Trp	Ala	Arg	Pro	Asp	Tyr	Asn	Pro	Pro	Leu	Thr	Glu	Thr	Trp
	2285						2290					2295			
	Lys	Gln	Gln	Asp	Tyr	Gln	Ala	Pro	Thr	Val	His	Gly	Cys	Ala	Leu
15	2300						2305					2310			
	Pro	Pro	Ala	Lys	Gln	Pro	Pro	Val	Pro	Ser	Pro	Arg	Arg	Lys	Arg
	2315						2320					2325			
20	Thr	Val	Gln	Leu	Thr	Glu	Ser	Val	Val	Ser	Thr	Ala	Leu	Ala	Glu
	2330						2335					2340			
	Leu	Ala	Ala	Lys	Thr	Phe	Gly	Gln	Ser	Glu	Pro	Ser	Ser	Asp	Arg
	2345						2350					2355			
25	Asp	Thr	Asp	Leu	Thr	Thr	Pro	Thr	Glu	Thr	Thr	Asp	Ser	Gly	Pro
	2360						2365					2370			
	Ile	Val	Val	Asp	Asp	Ala	Ser	Asp	Asp	Gly	Ser	Tyr	Ser	Ser	Met
30	2375						2380					2385			
	Pro	Pro	Leu	Glu	Gly	Glu	Pro	Gly	Asp	Pro	Asp	Leu	Thr	Ser	Asp
	2390						2395					2400			
35	Ser	Trp	Ser	Thr	Val	Ser	Gly	Ser	Glu	Asp	Val	Val	Cys	Cys	Ser
	2405						2410					2415			
	Met	Ser	Tyr	Ser	Trp	Thr	Gly	Ala	Leu	Val	Thr	Pro	Cys	Ala	Ala
	2420						2425					2430			
40	Glu	Glu	Ser	Lys	Leu	Pro	Ile	Ser	Pro	Leu	Ser	Asn	Ser	Leu	Leu
	2435						2440					2445			
	Arg	His	His	Asn	Met	Val	Tyr	Ala	Thr	Thr	Thr	Arg	Ser	Ala	Val
45	2450						2455					2460			
	Thr	Arg	Gln	Lys	Lys	Val	Thr	Phe	Asp	Arg	Leu	Gln	Val	Val	Asp
	2465						2470					2475			
50	Ser	Thr	Tyr	Asn	Glu	Val	Leu	Lys	Glu	Ile	Lys	Ala	Arg	Ala	Ser
	2480						2485					2490			

	Arg	Val	Lys	Pro	Arg	Leu	Leu	Thr	Thr	Glu	Glu	Ala	Cys	Asp	Leu
	2495						2500					2505			
5	Thr	Pro	Pro	His	Ser	Ala	Arg	Ser	Lys	Phe	Gly	Tyr	Gly	Lys	Lys
	2510						2515					2520			
	Asp	Val	Arg	Ser	His	Ser	Arg	Lys	Ala	Ile	Asn	His	Ile	Ser	Ser
	2525						2530					2535			
10	Val	Trp	Lys	Asp	Leu	Leu	Asp	Asp	Asn	Asn	Thr	Pro	Ile	Pro	Thr
	2540						2545					2550			
	Thr	Ile	Met	Ala	Lys	Asn	Glu	Val	Phe	Ala	Val	Asn	Pro	Ala	Lys
15	2555						2560					2565			
	Gly	Gly	Arg	Lys	Pro	Ala	Arg	Leu	Ile	Val	Tyr	Pro	Asp	Leu	Gly
	2570						2575					2580			
	Ser	Arg	Val	Cys	Glu	Lys	Arg	Ala	Leu	His	Asp	Val	Ile	Lys	Lys
20	2585						2590					2595			
	Thr	Ala	Leu	Ala	Val	Met	Gly	Ala	Ala	Tyr	Gly	Phe	Gln	Tyr	Ser
	2600						2605					2610			
25	Pro	Ala	Gln	Arg	Val	Glu	Phe	Leu	Leu	Thr	Ala	Trp	Lys	Ser	Lys
	2615						2620					2625			
	Asn	Asp	Pro	Met	Gly	Phe	Ser	Tyr	Asp	Thr	Arg	Cys	Phe	Asp	Ser
30	2630						2635					2640			
	Thr	Val	Thr	Glu	Lys	Asp	Ile	Arg	Val	Glu	Glu	Glu	Val	Tyr	Gln
	2645						2650					2655			
	Cys	Cys	Asp	Leu	Glu	Pro	Glu	Ala	Arg	Lys	Val	Ile	Thr	Ala	Leu
35	2660						2665					2670			
	Thr	Asp	Arg	Leu	Tyr	Val	Gly	Gly	Pro	Met	His	Asn	Ser	Lys	Gly
	2675						2680					2685			
40	Asp	Leu	Cys	Gly	Tyr	Arg	Arg	Cys	Arg	Ala	Thr	Gly	Val	Tyr	Thr
	2690						2695					2700			
	Thr	Ser	Phe	Gly	Asn	Thr	Leu	Thr	Cys	Tyr	Leu	Lys	Ala	Thr	Ala
45	2705						2710					2715			
	Ala	Ile	Arg	Ala	Ala	Ala	Leu	Arg	Asp	Cys	Thr	Met	Leu	Val	Cys
	2720						2725					2730			
	Gly	Asp	Asp	Leu	Val	Val	Ile	Ala	Glu	Ser	Asp	Gly	Val	Glu	Glu
50	2735						2740					2745			

	Asp	Asn	Arg	Ala	Leu	Arg	Ala	Phe	Thr	Glu	Ala	Met	Thr	Arg	Tyr
	2750						2755					2760			
5	Ser	Ala	Pro	Pro	Gly	Asp	Ala	Pro	Gln	Pro	Ala	Tyr	Asp	Leu	Glu
	2765						2770					2775			
	Leu	Ile	Thr	Ser	Cys	Ser	Ser	Asn	Val	Ser	Val	Ala	His	Asp	Val
	2780						2785					2790			
10	Thr	Gly	Lys	Lys	Val	Tyr	Tyr	Leu	Thr	Arg	Asp	Pro	Glu	Thr	Pro
	2795						2800					2805			
	Leu	Ala	Arg	Ala	Val	Trp	Glu	Thr	Val	Arg	His	Thr	Pro	Val	Asn
15	2810						2815					2820			
	Ser	Trp	Leu	Gly	Asn	Ile	Ile	Val	Tyr	Ala	Pro	Thr	Ile	Trp	Val
	2825						2830					2835			
20	Arg	Met	Ile	Leu	Met	Thr	His	Phe	Phe	Ser	Ile	Leu	Gln	Ser	Gln
	2840						2845					2850			
	Glu	Ala	Leu	Glu	Lys	Ala	Leu	Asp	Phe	Asp	Met	Tyr	Gly	Val	Thr
	2855						2860					2865			
25	Tyr	Ser	Ile	Thr	Pro	Leu	Asp	Leu	Pro	Ala	Ile	Ile	Gln	Arg	Leu
	2870						2875					2880			
	His	Gly	Leu	Ser	Ala	Phe	Thr	Leu	His	Gly	Tyr	Ser	Pro	His	Glu
30	2885						2890					2895			
	Leu	Asn	Arg	Val	Ala	Gly	Ala	Leu	Arg	Lys	Leu	Gly	Val	Pro	Pro
	2900						2905					2910			
35	Leu	Arg	Ala	Trp	Arg	His	Arg	Ala	Arg	Ala	Val	Arg	Ala	Lys	Leu
	2915						2920					2925			
	Ile	Ala	Gln	Gly	Gly	Arg	Ala	Lys	Ile	Cys	Gly	Ile	Tyr	Leu	Phe
	2930						2935					2940			
40	Asn	Trp	Ala	Val	Lys	Thr	Lys	Leu	Lys	Leu	Thr	Pro	Leu	Pro	Ala
	2945						2950					2955			
	Ala	Ala	Lys	Leu	Asp	Leu	Ser	Gly	Trp	Phe	Thr	Val	Gly	Ala	Gly
45	2960						2965					2970			
	Gly	Gly	Asp	Ile	Tyr	His	Ser	Met	Ser	His	Ala	Arg	Pro	Arg	Tyr
	2975						2980					2985			
50	Leu	Leu	Leu	Cys	Leu	Leu	Ile	Leu	Thr	Val	Gly	Val	Gly	Ile	Phe
	2990						2995					3000			

Leu Leu Pro Ala Arg
3005

<210> 9
5 <211> 3019
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
10 <223> GenBank ABE98159 VCH 6a

<400> 9

15 Met Ser Thr Leu Pro Lys Pro Gln Arg Lys Thr Lys Arg Asn Thr Asn
1 5 10 15

Arg Arg Pro Met Asp Val Lys Phe Pro Gly Gly Gly Gln Ile Val Gly
20 20 25 30

20 Gly Val Tyr Leu Leu Pro Arg Arg Gly Pro Arg Leu Gly Val Arg Ala
35 40 45

Thr Arg Lys Thr Ser Glu Arg Ser Gln Pro Arg Gly Arg Arg Gln Pro
25 50 55 60

Ile Pro Lys Ala Arg Gln Pro Gln Gly Arg His Trp Ala Gln Pro Gly
65 70 75 80

30 Tyr Pro Trp Pro Leu Tyr Gly Asn Glu Gly Cys Gly Trp Ala Gly Trp
85 90 95

Leu Leu Ser Pro Arg Gly Ser Arg Pro His Trp Gly Pro Asn Asp Pro
100 105 110

35 Arg Arg Arg Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Ile Asp Thr Leu Thr Cys
115 120 125

Gly Phe Ala Asp Leu Met Gly Tyr Ile Pro Val Val Gly Ala Pro Leu
40 130 135 140

Gly Gly Val Ala Ala Ala Leu Ala His Gly Val Arg Ala Ile Glu Asp
145 150 155 160

45 Gly Ile Asn Tyr Ala Thr Gly Asn Leu Pro Gly Cys Ser Phe Ser Ile
165 170 175

Phe Leu Leu Ala Leu Leu Ser Cys Leu Thr Thr Pro Ala Ser Ala Leu
180 185 190

50 Thr Tyr Gly Asn Ser Ser Gly Leu Tyr His Leu Thr Asn Asp Cys Pro
195 200 205

	Asn	Ser	Ser	Ile	Val	Leu	Glu	Ala	Asp	Ala	Met	Ile	Leu	His	Leu	Pro
	210						215					220				
5	Gly	Cys	Leu	Pro	Cys	Val	Arg	Val	Asp	Asn	Gln	Ser	Thr	Cys	Trp	His
	225					230					235					240
	Ala	Val	Ser	Pro	Thr	Leu	Ala	Ile	Pro	Asn	Ala	Ser	Thr	Ser	Ala	Thr
					245					250					255	
10	Gly	Phe	Arg	Arg	His	Val	Asp	Leu	Leu	Ala	Gly	Ala	Ala	Val	Val	Cys
				260					265					270		
	Ser	Ser	Leu	Tyr	Ile	Gly	Asp	Leu	Cys	Gly	Ser	Leu	Phe	Leu	Ala	Gly
15			275					280					285			
	Gln	Leu	Phe	Thr	Phe	Gln	Pro	Arg	Arg	His	Trp	Thr	Val	Gln	Asp	Cys
	290						295					300				
20	Asn	Cys	Ser	Ile	Tyr	Thr	Gly	His	Val	Thr	Gly	His	Arg	Met	Ala	Trp
	305					310					315					320
	Asp	Met	Met	Met	Asn	Trp	Ser	Pro	Thr	Thr	Thr	Leu	Val	Leu	Ser	Ser
					325					330					335	
25	Ile	Leu	Arg	Val	Pro	Glu	Ile	Cys	Ala	Ser	Val	Ile	Phe	Gly	Gly	His
				340					345					350		
	Trp	Gly	Ile	Leu	Ile	Ala	Val	Ala	Tyr	Phe	Gly	Met	Ala	Gly	Asn	Trp
30			355					360					365			
	Leu	Lys	Val	Leu	Ala	Val	Leu	Phe	Leu	Phe	Ala	Gly	Val	Glu	Ala	Thr
	370						375					380				
35	Thr	Thr	Ile	Gly	Arg	Glu	Met	Gly	Ser	Thr	Thr	Ala	Gly	Leu	Val	Arg
	385					390					395					400
	Phe	Leu	Ala	Pro	Gly	Pro	Lys	Gln	Asn	Leu	Gln	Leu	Ile	Asn	Thr	Asn
					405					410					415	
40	Gly	Ser	Trp	His	Ile	Asn	Arg	Thr	Ala	Leu	Asn	Cys	Asn	Asp	Ser	Leu
				420					425					430		
	Gln	Thr	Gly	Phe	Ile	Ala	Ser	Leu	Phe	Tyr	Ala	His	Thr	Phe	Asn	Ser
45			435					440					445			
	Ser	Gly	Cys	Pro	Glu	Arg	Met	Ala	Ala	Cys	Arg	Pro	Leu	Ala	Asp	Phe
	450						455					460				
50	Arg	Gln	Gly	Trp	Gly	Gln	Ile	Thr	Tyr	Lys	Asp	Asn	Ile	Ser	Gly	Pro
	465					470					475					480

	Ser	Asp	Asp	Arg	Pro	Tyr	Cys	Trp	His	Tyr	Ala	Pro	Arg	Pro	Cys	Ser
					485					490					495	
5	Val	Val	Pro	Ala	Ser	Thr	Val	Cys	Gly	Pro	Val	Tyr	Cys	Phe	Thr	Pro
				500					505					510		
	Ser	Pro	Val	Val	Val	Gly	Thr	Thr	Asp	Arg	Arg	Gly	Asn	Pro	Thr	Tyr
			515					520					525			
10	Thr	Trp	Gly	Glu	Asn	Glu	Thr	Asp	Val	Phe	Met	Leu	Gly	Ser	Leu	Arg
		530					535					540				
	Pro	Pro	Thr	Gly	Gly	Trp	Phe	Gly	Cys	Thr	Trp	Met	Asn	Ser	Thr	Gly
	545					550					555					560
15	Phe	Thr	Lys	Thr	Cys	Gly	Ala	Pro	Pro	Cys	Gln	Ile	Val	Pro	Gly	Asp
					565					570					575	
	Tyr	Asn	Ser	Ser	Ala	Asn	Glu	Leu	Leu	Cys	Pro	Thr	Asp	Cys	Phe	Arg
20				580					585					590		
	Lys	His	Pro	Glu	Ala	Thr	Tyr	Gln	Arg	Cys	Gly	Ser	Gly	Pro	Trp	Leu
			595					600					605			
25	Thr	Pro	Arg	Cys	Leu	Val	His	Tyr	Pro	Tyr	Arg	Leu	Trp	His	Tyr	Pro
		610					615					620				
	Cys	Thr	Ile	Asn	Phe	Thr	Val	His	Lys	Val	Arg	Met	Phe	Val	Gly	Gly
	625					630					635					640
30	Ile	Glu	His	Arg	Phe	Asp	Ala	Ala	Cys	Asn	Trp	Thr	Arg	Gly	Glu	Arg
					645					650					655	
	Cys	Glu	Leu	His	Asp	Arg	Asp	Arg	Ile	Glu	Met	Ser	Pro	Leu	Leu	Phe
35				660					665					670		
	Ser	Thr	Thr	Gln	Leu	Ser	Ile	Leu	Pro	Cys	Ser	Phe	Ser	Thr	Met	Pro
			675					680					685			
40	Ala	Leu	Ser	Thr	Gly	Leu	Ile	His	Leu	His	Gln	Asn	Ile	Val	Asp	Val
		690					695					700				
	Gln	Tyr	Leu	Tyr	Gly	Val	Ser	Ser	Ser	Val	Thr	Ser	Trp	Val	Val	Lys
	705					710					715					720
45	Trp	Glu	Tyr	Ile	Val	Leu	Met	Phe	Leu	Val	Leu	Ala	Asp	Ala	Arg	Ile
					725					730					735	
	Cys	Thr	Cys	Leu	Trp	Leu	Met	Leu	Leu	Ile	Ser	Asn	Val	Glu	Ala	Ala
50				740					745					750		

	Val	Glu	Arg	Leu	Val	Val	Leu	Asn	Ala	Ala	Ser	Ala	Ala	Gly	Thr	Ala	
			755					760					765				
5	Gly	Trp	Trp	Trp	Ala	Val	Leu	Phe	Leu	Cys	Cys	Val	Trp	Tyr	Val	Lys	
		770					775					780					
	Gly	Arg	Leu	Val	Pro	Ala	Cys	Thr	Tyr	Thr	Ala	Leu	Gly	Met	Trp	Pro	
	785					790					795					800	
10	Leu	Leu	Leu	Thr	Ile	Leu	Ala	Leu	Pro	Arg	Arg	Ala	Tyr	Ala	Met	Asp	
					805					810					815		
	Asn	Glu	Gln	Ala	Ala	Ser	Leu	Gly	Ala	Val	Gly	Leu	Leu	Val	Ile	Thr	
				820					825					830			
15	Ile	Phe	Thr	Ile	Thr	Pro	Met	Tyr	Lys	Lys	Leu	Leu	Thr	Cys	Phe	Ile	
			835					840					845				
	Trp	Trp	Asn	Gln	Tyr	Phe	Leu	Ala	Arg	Ala	Glu	Ala	Met	Ile	His	Glu	
20		850					855					860					
	Trp	Val	Pro	Asp	Leu	Arg	Val	Arg	Gly	Gly	Arg	Asp	Ser	Ile	Ile	Leu	
	865					870					875					880	
25	Leu	Thr	Cys	Leu	Leu	His	Pro	Gln	Leu	Gly	Phe	Glu	Val	Thr	Lys	Ile	
					885					890					895		
	Leu	Leu	Ala	Ile	Leu	Ala	Pro	Leu	Tyr	Ile	Leu	Gln	Tyr	Ser	Leu	Leu	
				900					905					910			
30	Lys	Val	Pro	Tyr	Phe	Val	Arg	Ala	His	Ile	Leu	Leu	Arg	Ala	Cys	Leu	
			915					920					925				
	Leu	Val	Arg	Arg	Leu	Ala	Gly	Gly	Lys	Tyr	Val	Gln	Ala	Cys	Leu	Leu	
35		930					935					940					
	Arg	Leu	Gly	Ala	Trp	Thr	Gly	Thr	Tyr	Val	Tyr	Asp	His	Leu	Ala	Pro	
	945					950					955					960	
40	Leu	Ser	Asp	Trp	Ala	Ser	Asp	Gly	Leu	Arg	Asp	Leu	Ala	Val	Ala	Val	
					965					970					975		
	Glu	Pro	Val	Ile	Phe	Ser	Pro	Met	Glu	Lys	Lys	Ile	Ile	Thr	Trp	Gly	
				980					985					990			
45	Ala	Asp	Thr	Ala	Ala	Cys	Gly	Asp	Ile	Leu	Ser	Gly	Leu	Pro	Val	Ser	
			995					1000					1005				
	Ala	Arg	Leu	Gly	Asn	Leu	Val	Leu	Leu	Gly	Pro	Ala	Asp	Asp	Met		
50		1010					1015					1020					

	Gln	Arg	Gly	Gly	Trp	Lys	Leu	Leu	Ala	Pro	Ile	Thr	Ala	Tyr	Ala
	1025						1030					1035			
5	Gln	Gln	Thr	Arg	Gly	Leu	Val	Gly	Thr	Ile	Val	Thr	Ser	Leu	Thr
	1040						1045					1050			
	Gly	Arg	Asp	Lys	Asn	Glu	Val	Glu	Gly	Glu	Val	Gln	Val	Val	Ser
	1055						1060					1065			
10	Thr	Ala	Thr	Gln	Ser	Phe	Leu	Ala	Thr	Ser	Ile	Asn	Gly	Val	Met
	1070						1075					1080			
	Trp	Thr	Val	Tyr	His	Gly	Ala	Gly	Ser	Lys	Thr	Leu	Ala	Gly	Pro
	1085						1090					1095			
15	Lys	Gly	Pro	Val	Cys	Gln	Met	Tyr	Thr	Asn	Val	Asp	Gln	Asp	Leu
	1100						1105					1110			
	Val	Gly	Trp	Pro	Ser	Pro	Pro	Gly	Ala	Arg	Ser	Leu	Thr	Pro	Cys
20	1115						1120					1125			
	Thr	Cys	Gly	Ser	Asn	Asp	Leu	Tyr	Leu	Val	Thr	Arg	Glu	Ala	Asp
	1130						1135					1140			
25	Val	Ile	Pro	Ala	Arg	Arg	Arg	Gly	Asp	Ser	Arg	Ala	Ala	Leu	Leu
	1145						1150					1155			
	Ser	Pro	Arg	Pro	Ile	Ser	Thr	Leu	Lys	Gly	Ser	Ser	Gly	Gly	Pro
	1160						1165					1170			
30	Ile	Met	Cys	Pro	Ser	Gly	His	Val	Val	Gly	Leu	Phe	Arg	Ala	Ala
	1175						1180					1185			
	Val	Cys	Thr	Arg	Gly	Val	Ala	Lys	Ser	Leu	Asp	Phe	Ile	Pro	Val
35	1190						1195					1200			
	Glu	Asn	Met	Glu	Thr	Thr	Met	Arg	Ser	Pro	Ser	Phe	Thr	Asp	Asn
	1205						1210					1215			
40	Ser	Thr	Pro	Pro	Ala	Val	Pro	Gln	Thr	Tyr	Gln	Val	Gly	Tyr	Leu
	1220						1225					1230			
	His	Ala	Pro	Thr	Gly	Ser	Gly	Lys	Ser	Thr	Arg	Val	Pro	Ala	Ala
	1235						1240					1245			
45	Tyr	Ala	Ser	Gln	Gly	Tyr	Lys	Val	Leu	Val	Leu	Asn	Pro	Ser	Val
	1250						1255					1260			
	Ala	Ala	Thr	Leu	Ser	Phe	Gly	Ser	Tyr	Met	Arg	Gln	Ala	Tyr	Gly
50	1265						1270					1275			

	Val	Glu	Pro	Asn	Val	Arg	Thr	Gly	Val	Arg	Thr	Ile	Thr	Thr	Gly
	1280						1285					1290			
5	Gly	Ala	Ile	Thr	Tyr	Ser	Thr	Tyr	Gly	Lys	Phe	Leu	Ala	Asp	Gly
	1295						1300					1305			
	Gly	Cys	Ser	Gly	Gly	Ala	Tyr	Asp	Ile	Ile	Ile	Cys	Asp	Glu	Cys
	1310						1315					1320			
10	His	Ser	Thr	Asp	Pro	Thr	Thr	Val	Leu	Gly	Ile	Gly	Thr	Val	Leu
	1325						1330					1335			
	Asp	Gln	Ala	Glu	Thr	Ala	Gly	Val	Arg	Leu	Thr	Val	Leu	Ala	Thr
	1340						1345					1350			
15	Ala	Thr	Pro	Pro	Gly	Ser	Val	Thr	Val	Pro	His	Pro	Asn	Ile	Thr
	1355						1360					1365			
	Glu	Thr	Ala	Leu	Pro	Thr	Thr	Gly	Glu	Ile	Pro	Phe	Tyr	Gly	Lys
20	1370						1375					1380			
	Ala	Ile	Pro	Leu	Glu	Tyr	Ile	Lys	Gly	Gly	Arg	His	Leu	Ile	Phe
	1385						1390					1395			
25	Cys	His	Ser	Lys	Lys	Lys	Cys	Asp	Glu	Leu	Ala	Gly	Lys	Leu	Lys
	1400						1405					1410			
	Ser	Leu	Gly	Leu	Asn	Ala	Val	Ala	Phe	Tyr	Arg	Gly	Val	Asp	Val
	1415						1420					1425			
30	Ser	Val	Ile	Pro	Thr	Ser	Gly	Asp	Val	Val	Val	Cys	Ala	Thr	Asp
	1430						1435					1440			
	Ala	Leu	Met	Thr	Gly	Tyr	Thr	Gly	Asp	Phe	Asp	Ser	Val	Ile	Asp
35	1445						1450					1455			
	Cys	Asn	Val	Ala	Val	Thr	Gln	Val	Val	Asp	Phe	Ser	Leu	Asp	Pro
	1460						1465					1470			
40	Thr	Phe	Ser	Ile	Glu	Thr	Thr	Thr	Val	Pro	Gln	Asp	Ala	Val	Ser
	1475						1480					1485			
	Arg	Ser	Gln	Arg	Arg	Gly	Arg	Thr	Gly	Arg	Gly	Lys	Pro	Gly	Val
	1490						1495					1500			
45	Tyr	Arg	Phe	Val	Ser	Gln	Gly	Glu	Arg	Pro	Ser	Gly	Met	Phe	Asp
	1505						1510					1515			
	Thr	Val	Val	Leu	Cys	Glu	Ala	Tyr	Asp	Thr	Gly	Cys	Ala	Trp	Tyr
50	1520						1525					1530			

	Glu	Leu	Thr	Pro	Ser	Glu	Thr	Thr	Val	Arg	Leu	Arg	Ala	Tyr	Leu
	1535						1540					1545			
5	Asn	Thr	Pro	Gly	Leu	Pro	Val	Cys	Gln	Asp	His	Leu	Glu	Phe	Trp
	1550						1555					1560			
	Glu	Gly	Val	Phe	Thr	Gly	Leu	Thr	His	Ile	Asp	Ala	His	Phe	Leu
	1565						1570					1575			
10	Ser	Gln	Thr	Lys	Gln	Gly	Gly	Glu	Asn	Phe	Ala	Tyr	Leu	Val	Ala
	1580						1585					1590			
	Tyr	Gln	Ala	Thr	Val	Cys	Ala	Arg	Ala	Lys	Ala	Pro	Pro	Pro	Ser
15	1595						1600					1605			
	Trp	Asp	Thr	Met	Trp	Lys	Cys	Leu	Ile	Arg	Leu	Lys	Pro	Thr	Leu
	1610						1615					1620			
20	Thr	Gly	Pro	Thr	Pro	Leu	Leu	Tyr	Arg	Leu	Gly	Ala	Val	Gln	Asn
	1625						1630					1635			
	Glu	Ile	Ile	Thr	Thr	His	Pro	Ile	Thr	Lys	Tyr	Ile	Met	Thr	Cys
	1640						1645					1650			
25	Met	Ser	Ala	Asp	Leu	Glu	Val	Ile	Thr	Ser	Thr	Trp	Val	Ile	Val
	1655						1660					1665			
	Gly	Gly	Val	Leu	Ala	Ala	Leu	Ala	Ala	Tyr	Cys	Leu	Ser	Val	Gly
30	1670						1675					1680			
	Cys	Val	Val	Ile	Cys	Gly	Arg	Ile	Thr	Leu	Thr	Gly	Lys	Pro	Val
	1685						1690					1695			
35	Val	Val	Pro	Asp	Arg	Glu	Val	Leu	Tyr	Gln	Gln	Phe	Asp	Glu	Met
	1700						1705					1710			
	Glu	Glu	Cys	Ser	Arg	His	Ile	Pro	Tyr	Leu	Ala	Glu	Gly	Gln	Gln
	1715						1720					1725			
40	Ile	Ala	Glu	Gln	Phe	Arg	Gln	Lys	Val	Leu	Gly	Leu	Leu	Gln	Ala
	1730						1735					1740			
	Ser	Ala	Lys	Gln	Ala	Glu	Glu	Leu	Lys	Pro	Ala	Val	His	Ser	Ala
45	1745						1750					1755			
	Trp	Pro	Arg	Val	Glu	Glu	Phe	Trp	Arg	Lys	His	Met	Trp	Asn	Phe
	1760						1765					1770			
50	Val	Ser	Gly	Ile	Gln	Tyr	Leu	Ala	Gly	Leu	Ser	Ile	Trp	Pro	Gly
	1775						1780					1785			

	Asn	Pro	Ala	Val	Ala	Ser	Leu	Met	Ser	Phe	Thr	Ala	Ser	Leu	Thr
	1790						1795					1800			
5	Ser	Pro	Leu	Arg	Thr	Ser	Gln	Thr	Leu	Leu	Leu	Asn	Ile	Leu	Gly
	1805						1810					1815			
	Gly	Trp	Ile	Ala	Thr	Gln	Val	Ala	Pro	Pro	Pro	Ala	Ser	Thr	Ala
	1820						1825					1830			
10	Phe	Val	Val	Ser	Gly	Leu	Ala	Gly	Ala	Thr	Val	Gly	Ser	Ile	Gly
	1835						1840					1845			
	Leu	Gly	Arg	Val	Leu	Val	Asp	Val	Leu	Ala	Gly	Tyr	Gly	Ala	Gly
15	1850						1855					1860			
	Val	Ser	Gly	Ala	Leu	Val	Ala	Phe	Lys	Ile	Met	Ser	Gly	Glu	Cys
	1865						1870					1875			
20	Pro	Ser	Thr	Glu	Asp	Met	Val	Asn	Leu	Leu	Pro	Ala	Leu	Leu	Ser
	1880						1885					1890			
	Pro	Gly	Ala	Leu	Val	Val	Gly	Val	Val	Cys	Ala	Ala	Ile	Leu	Arg
	1895						1900					1905			
25	Arg	His	Val	Gly	Pro	Ala	Glu	Gly	Ala	Asn	Gln	Trp	Met	Asn	Arg
	1910						1915					1920			
	Leu	Ile	Ala	Phe	Ala	Ser	Arg	Gly	Asn	His	Val	Ser	Pro	Thr	His
30	1925						1930					1935			
	Tyr	Val	Pro	Glu	Thr	Asp	Ala	Ser	Lys	Asn	Val	Thr	Gln	Ile	Leu
	1940						1945					1950			
35	Thr	Ser	Leu	Thr	Ile	Thr	Ser	Leu	Leu	Arg	Arg	Leu	His	Gln	Trp
	1955						1960					1965			
	Val	Thr	Glu	Asp	Thr	Ala	Thr	Pro	Cys	Ala	Thr	Ser	Trp	Leu	Arg
	1970						1975					1980			
40	Asp	Val	Trp	Asp	Trp	Val	Cys	Thr	Val	Leu	Ser	Asp	Phe	Lys	Val
	1985						1990					1995			
	Trp	Leu	Lys	Ala	Lys	Leu	Leu	Pro	Arg	Leu	Pro	Gly	Ile	Pro	Phe
45	2000						2005					2010			
	Leu	Ser	Cys	Gln	Thr	Gly	Tyr	Arg	Gly	Val	Trp	Ala	Gly	Asp	Gly
	2015						2020					2025			
50	Val	Cys	His	Thr	Thr	Cys	Thr	Cys	Gly	Ala	Val	Ile	Ala	Gly	His
	2030						2035					2040			

	Val	Lys	Asn	Gly	Ser	Met	Lys	Ile	Thr	Gly	Pro	Lys	Thr	Cys	Ser
	2045						2050					2055			
5	Asn	Thr	Trp	His	Gly	Thr	Phe	Pro	Ile	Asn	Ala	Thr	Thr	Thr	Gly
	2060						2065					2070			
	Pro	Ser	Thr	Pro	Arg	Pro	Ala	Pro	Asn	Tyr	Gln	Arg	Ala	Leu	Trp
	2075						2080					2085			
10	Arg	Val	Ser	Ala	Glu	Asp	Tyr	Val	Glu	Val	Arg	Arg	Leu	Gly	Asp
	2090						2095					2100			
	Cys	His	Tyr	Val	Val	Gly	Ala	Thr	Ala	Glu	Gly	Leu	Lys	Cys	Pro
	2105						2110					2115			
15	Cys	Gln	Val	Pro	Ala	Pro	Glu	Phe	Phe	Thr	Glu	Val	Asp	Gly	Val
	2120						2125					2130			
20	Arg	Ile	His	Arg	Tyr	Ala	Pro	Pro	Cys	Lys	Pro	Leu	Leu	Arg	Asp
	2135						2140					2145			
	Glu	Val	Thr	Phe	Ser	Val	Gly	Leu	Ser	Thr	Tyr	Ala	Ile	Gly	Ser
	2150						2155					2160			
25	Gln	Leu	Pro	Cys	Glu	Pro	Glu	Pro	Asp	Val	Thr	Val	Val	Thr	Ser
	2165						2170					2175			
	Met	Leu	Thr	Asp	Pro	Thr	His	Ile	Thr	Ala	Glu	Thr	Ala	Ala	Arg
	2180						2185					2190			
30	Arg	Leu	Lys	Arg	Gly	Ser	Pro	Pro	Ser	Leu	Ala	Ser	Ser	Ser	Ala
	2195						2200					2205			
	Ser	Gln	Leu	Ser	Ala	Pro	Ser	Leu	Lys	Ala	Thr	Cys	Thr	Thr	Ser
35	2210						2215					2220			
	Lys	Asp	His	Pro	Asp	Met	Glu	Leu	Ile	Glu	Ala	Asn	Leu	Leu	Trp
	2225						2230					2235			
40	Arg	Gln	Glu	Met	Gly	Gly	Asn	Ile	Thr	Arg	Val	Glu	Ser	Glu	Asn
	2240						2245					2250			
	Lys	Val	Val	Ile	Leu	Asp	Ser	Phe	Glu	Pro	Leu	Thr	Ala	Asp	Tyr
	2255						2260					2265			
45	Asp	Glu	Arg	Glu	Ile	Ser	Val	Ser	Ala	Glu	Cys	His	Arg	Pro	Pro
	2270						2275					2280			
	Arg	His	Lys	Phe	Pro	Pro	Ala	Leu	Pro	Ile	Trp	Ala	Arg	Pro	Asp
50	2285						2290					2295			

	Tyr	Asn	Pro	Pro	Leu	Ile	Gln	Ala	Trp	Gln	Met	Pro	Gly	Tyr	Glu
	2300						2305					2310			
5	Pro	Pro	Val	Val	Ser	Gly	Cys	Ala	Val	Ala	Pro	Pro	Lys	Pro	Ala
	2315						2320					2325			
	Pro	Ile	Pro	Pro	Pro	Arg	Arg	Lys	Arg	Leu	Val	His	Leu	Asp	Glu
	2330						2335					2340			
10	Ser	Thr	Val	Ser	His	Ala	Leu	Ala	Gln	Leu	Ala	Asp	Lys	Val	Phe
	2345						2350					2355			
	Val	Glu	Ser	Ser	Asp	Gly	Pro	Gly	Pro	Ser	Ser	Asp	Ser	Gly	Leu
	2360						2365					2370			
15	Ser	Ile	Thr	Ser	Pro	Val	Pro	Pro	Thr	Pro	Thr	Thr	Pro	Asp	Asp
	2375						2380					2385			
	Ala	Cys	Ser	Glu	Ala	Glu	Ser	Tyr	Ser	Ser	Met	Pro	Pro	Leu	Glu
20	2390						2395					2400			
	Gly	Glu	Pro	Gly	Asp	Pro	Asp	Leu	Ser	Ser	Gly	Ser	Trp	Ser	Thr
	2405						2410					2415			
25	Val	Ser	Asp	Gln	Asp	Asp	Val	Val	Cys	Cys	Ser	Met	Ser	Tyr	Ser
	2420						2425					2430			
	Trp	Thr	Gly	Ala	Leu	Ile	Thr	Pro	Cys	Ala	Ala	Glu	Glu	Glu	Lys
	2435						2440					2445			
30	Leu	Pro	Ile	Asn	Pro	Leu	Ser	Asn	Ser	Leu	Ile	Arg	His	His	Asn
	2450						2455					2460			
	Met	Val	Tyr	Ser	Thr	Thr	Ser	Arg	Ser	Ala	Ser	Leu	Arg	Gln	Lys
35	2465						2470					2475			
	Lys	Val	Thr	Phe	Asp	Arg	Val	Gln	Val	Phe	Asp	Gln	His	Tyr	Gln
	2480						2485					2490			
40	Glu	Val	Leu	Lys	Glu	Ile	Lys	Leu	Arg	Ala	Ser	Thr	Val	Gln	Ala
	2495						2500					2505			
	Lys	Leu	Leu	Ser	Ile	Glu	Glu	Ala	Cys	Asp	Leu	Thr	Pro	Ser	His
	2510						2515					2520			
45	Ser	Ala	Arg	Ser	Lys	Tyr	Gly	Tyr	Gly	Ala	Lys	Asp	Val	Arg	Ser
	2525						2530					2535			
	His	Ala	Ser	Lys	Ala	Val	Asp	His	Ile	Arg	Ser	Val	Trp	Glu	Asp
50	2540						2545					2550			

	Leu	Leu	Glu	Asp	Ser	Asp	Thr	Pro	Ile	Pro	Thr	Thr	Ile	Met	Ala
	2555						2560					2565			
5	Lys	Asn	Glu	Val	Phe	Cys	Val	Asp	Pro	Ser	Lys	Gly	Gly	Arg	Lys
	2570						2575					2580			
	Pro	Ala	Arg	Leu	Ile	Val	Phe	Pro	Asp	Leu	Gly	Val	Arg	Val	Cys
	2585						2590					2595			
10	Glu	Lys	Met	Ala	Leu	Tyr	Asp	Val	Thr	Arg	Lys	Leu	Pro	Gln	Ala
	2600						2605					2610			
	Val	Met	Gly	Pro	Ala	Tyr	Gly	Phe	Gln	Tyr	Ser	Pro	Asn	Gln	Arg
	2615						2620					2625			
15	Val	Glu	Tyr	Leu	Leu	Lys	Met	Trp	Arg	Ser	Lys	Lys	Val	Pro	Met
	2630						2635					2640			
	Gly	Phe	Ser	Tyr	Asp	Thr	Arg	Cys	Phe	Asp	Ser	Thr	Val	Thr	Glu
20	2645						2650					2655			
	Arg	Asp	Ile	Arg	Thr	Glu	Asn	Glu	Ile	Tyr	Gln	Ser	Cys	Gln	Leu
	2660						2665					2670			
25	Asp	Pro	Met	Ala	Arg	Lys	Ala	Val	Ser	Ser	Leu	Thr	Glu	Arg	Leu
	2675						2680					2685			
	Tyr	Val	Gly	Gly	Pro	Met	Val	Asn	Ser	Lys	Gly	Gln	Ser	Cys	Gly
	2690						2695					2700			
30	Tyr	Arg	Arg	Cys	Arg	Ala	Ser	Gly	Val	Leu	Pro	Thr	Ser	Met	Gly
	2705						2710					2715			
	Asn	Thr	Leu	Thr	Cys	Tyr	Leu	Lys	Ala	Gln	Ala	Ala	Cys	Arg	Ala
35	2720						2725					2730			
	Ala	Asn	Ile	Lys	Asp	Tyr	Asp	Met	Leu	Val	Cys	Gly	Asp	Asp	Leu
	2735						2740					2745			
40	Val	Val	Ile	Cys	Glu	Ser	Ala	Gly	Val	Gln	Glu	Asp	Thr	Ala	Ser
	2750						2755					2760			
	Leu	Arg	Ala	Phe	Thr	Asp	Ala	Met	Thr	Arg	Tyr	Ser	Ala	Pro	Pro
	2765						2770					2775			
45	Gly	Asp	Ala	Pro	Gln	Pro	Thr	Tyr	Asp	Leu	Glu	Leu	Ile	Thr	Ser
	2780						2785					2790			
	Cys	Ser	Ser	Asn	Val	Ser	Val	Ala	His	Asp	Gly	Asn	Gly	Lys	Arg
50	2795						2800					2805			

	Tyr	Tyr	Tyr	Leu	Thr	Arg	Asp	Cys	Thr	Thr	Pro	Leu	Ala	Arg	Ala
	2810						2815					2820			
5	Ala	Trp	Glu	Thr	Ala	Arg	His	Thr	Pro	Val	Asn	Ser	Trp	Leu	Gly
	2825						2830					2835			
	Asn	Ile	Ile	Met	Phe	Ala	Pro	Thr	Ile	Trp	Val	Arg	Met	Val	Leu
	2840						2845					2850			
10	Met	Thr	His	Phe	Phe	Ser	Ile	Leu	Gln	Ser	Gln	Glu	Gln	Leu	Glu
	2855						2860					2865			
	Lys	Ala	Leu	Asp	Phe	Asp	Ile	Tyr	Gly	Val	Thr	Tyr	Ser	Val	Ser
15	2870						2875					2880			
	Pro	Leu	Asp	Leu	Pro	Ala	Ile	Ile	Gln	Arg	Leu	His	Gly	Met	Ala
	2885						2890					2895			
20	Ala	Phe	Ser	Leu	His	Gly	Tyr	Ser	Pro	Val	Glu	Leu	Asn	Arg	Val
	2900						2905					2910			
	Gly	Ala	Cys	Leu	Arg	Lys	Leu	Gly	Ala	Pro	Pro	Leu	Arg	Ala	Trp
	2915						2920					2925			
25	Arg	His	Arg	Ala	Arg	Ala	Val	Arg	Ala	Lys	Leu	Ile	Ala	Gln	Gly
	2930						2935					2940			
	Gly	Lys	Ala	Ala	Ile	Cys	Gly	Lys	Tyr	Leu	Phe	Asn	Trp	Ala	Val
30	2945						2950					2955			
	Lys	Thr	Lys	Leu	Lys	Leu	Thr	Pro	Leu	Ala	Ser	Ala	Ser	Lys	Leu
	2960						2965					2970			
35	Asp	Leu	Ser	Asp	Trp	Phe	Val	Ala	Gly	Tyr	Asp	Gly	Gly	Asp	Ile
	2975						2980					2985			
	Tyr	His	Ser	Val	Ser	Leu	Ala	Arg	Pro	Arg	Leu	Leu	Leu	Leu	Gly
	2990						2995					3000			
40	Leu	Leu	Leu	Leu	Thr	Val	Gly	Val	Gly	Ile	Phe	Leu	Leu	Pro	Ala
	3005						3010					3015			

Arg

45	<210>	10
	<211>	8
	<212>	PRT
	<213>	Secuencia Artificial
50	<220>	
	<223>	CDR1 Cadena Pesada HC-1

```

<400> 10

Gly Gly Thr Tyr Asn Ser Glu Val
1          5

5
<210> 11
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

10
<220>
<223> CDR2 Cadena Pesada HC-1

<400> 11

15
Phe Ile Pro Met Phe Gly Thr Ala
1          5

<210> 12
20 <211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
25 <223> CDR3 Cadena Pesada HC-1

<400> 12

Ala Lys Val Leu Gln Val Gly Gly Asn Leu Val Val Arg Pro Leu
30 1          5          10          15

<210> 13
<211> 10
<212> PRT
35 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> CDR1 Cadena Pesada HC-3

40 <400> 13

Gly Phe Ser Leu Ser Thr Thr Gly Val Gly
1          5          10

45 <210> 14
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

50 <220>
<223> CDR2 Cadena Pesada HC-3

```

```

<400> 14

Ile Tyr Trp Asp Asp Asp Lys
1          5

5
<210> 15
<211> 23
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

10
<220>
<223> CDR3 Cadena Pesada HC-3

<400> 15

15
Ala Leu Asn Ser Tyr Arg Ser Gly Thr Ile Leu Tyr Arg Glu Leu Glu
1          5          10          15

Leu Arg Gly Leu Phe Tyr Ile
20          20

<210> 16
<211> 8
<212> PRT
25 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> CDR1 Cadena Pesada HC-11

30 <400> 16

Gly Ala Thr Phe Ser Ser Phe Ile
1          5

35 <210> 17
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

40 <220>
<223> CDR2 Cadena Pesada HC-11

<400> 17

45 Ile Ile Pro Met Phe Gly Thr Ala
1          5

<210> 18
<211> 19
50 <212> PRT
<213> Secuencia Artificial

```

<220>
<223> CDR3 Cadena Pesada HC-11

<400> 18
5 Ala Met Glu Val Pro Phe Gly Cys Arg Gly Gly Ser Cys Ser Gly Tyr
1 5 10 15

Met Asp Val
10

<210> 19
<211> 8
<212> PRT
15 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> CDR1 Cadena Pesada CBH-23

20 <400> 19

Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Ala
1 5

25 <210> 20
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

30 <220>
<223> CDR2 Cadena Pesada CBH-23

<400> 20

35 Ile Val Pro Met Phe Gly Thr Glu
1 5

<210> 21
<211> 13
40 <212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> CDR3 Cadena Pesada CBH-23
45 <400> 21

Ala Arg His Glu Asn Ile Tyr Gly Thr Pro Phe Asp Tyr
1 5 10
50

<210> 22


```

    <211> 7
    <212> PRT
    <213> Secuencia Artificial

5  <220>
    <223> CDR1 Cadena Ligera HC-1

    <400> 22

10  Gln Thr Ile Ser Ser Thr His
    1                      5

    <210> 23
    <211> 9
15  <212> PRT
    <213> Secuencia Artificial

    <220>
    <223> CDR3 Cadena Ligera HC-1
20  <400> 23

    His Gln Tyr Gly Asn Ser Pro Gln Thr
    1                      5
25  <210> 24
    <211> 6
    <212> PRT
    <213> Secuencia Artificial
30  <220>
    <223> CDR1 Cadena Ligera HC-3

    <400> 24
35  Gln Ser Ile Ser Ser Trp
    1                      5

    <210> 25
40  <211> 9
    <212> PRT
    <213> Secuencia Artificial

    <220>
45  <223> CDR3 Cadena Ligera HC-3

    <400> 25

    Gln Gln Tyr Glu Ser Ser Ser Trp Thr
50  1                      5

```

<210> 26
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial
5
<220>
<223> CDR1 Cadena Ligera HC-11

<400> 26
10
His Ser Val Ser Ser Ser Asn
1 5

<210> 27
15 <211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
20 <223> CDR3 Cadena Ligera HC-11

<400> 27

Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Ile Thr
25 1 5

<210> 28
<211> 6
<212> PRT
30 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> CDR1 Cadena Ligera CBH-23
35 <400> 28

His Ser Ile Thr Arg Tyr
1 5

40 <210> 29
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

45 <220>
<223> CDR3 Cadena Ligera CBH-23

<400> 29

50 Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Leu Leu Thr
1 5



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 11-052890-00000-0000

Fecha: 2011-04-29 17:02:26
Tra. 11 PATENTEIYII

Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Eve: 378 FASENACIONALI
Folios: 496

PATENTE DE INVENCION ☐ MODELO DE

☐	Indicación que se solicita una patente
☐	Datos de identificación del solicitante
☐	Descripción de la invención
☐	Dibujos de ser estos pertinentes
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de --
Completa ☐	Incompleta ☐

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 11-052890-00000-0000

Fecha: 2011-04-29 17:02:26
Tra. 11 PATENTEIYII

Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Eve: 378 FASENACIONALI
Folios: 493

PATENTE DE INVENCION PCT ☒ MODELO DE UTILIDAD PCT ☐ Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

☒	Indicación que se solicita una PCT
☒	Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)
☐	Dibujos de ser estos pertinentes
☒	Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)
Completa ☐	Incompleta ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐ (Art. 119 Decisión 486/00)

☐	Indicación que se solicita Diseño industrial
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas
Completa ☐	Incompleta ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐ (Art. 92 Decisión 486/00)

☐	Indicación que se solicita un esquema de trazado
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Representación gráfica de un esquema de trazado
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas
Completa ☐	Incompleta ☐



Bogotá D.C.,
2020

Doctor(a)

CORREA ORDOÑEZ ALVARO

Apoderado(a) y/o Representante de

THE BOARD OF TRUSTEES OF THE LELAND STANFORD JUNIOR UNIVERSITY

REFERENCIA	Radicación No.	11 052890
	Solicitud internacional	PCT/US2008/78884
	Fecha inicio fase nacional	05/05/2011
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	430
	Oficio No.	08263

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

1. La solicitud no contiene el poder debidamente otorgado, con el lleno de los requisitos exigidos por los artículos 63 y subsiguientes del Código de Procedimiento Civil. Adicionalmente, deberá presentar el documento que acredita la existencia y representación legal de la sociedad solicitante, cuando ésta fuere persona jurídica.

2. La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante, conforme a lo establecido por el artículo 26 literal k) de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina. Cuando se trate de documentos otorgados en el extranjero, estos deberán legalizarse de conformidad con lo dispuesto por los artículos 259 y 260 del Código de Procedimiento Civil. Cuando se trate de las declaraciones a que hace referencia la Regla 4.17 ii) del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes PCT., el alcance de las tales declaraciones se determinará según indiquen claramente una cesión de derechos del inventor al solicitante o su causante, de conformidad con lo dispuesto en el numeral 5.2.15 del Capítulo Quinto, Título X de la Circular Única de Superintendencia de Industria y Comercio.

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Continúa en la página siguiente...



Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Unica No.10 de 2001.

JOSE LUIS SALAZAR LOPEZ
Director de Nuevas Creaciones (c)

20 MAYO 2011

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha _____
adpa11



Bogotá D.C.,
2020

Doctor(a)
CORREA ORDOÑEZ ALVARO
Apoderado(a) y/o Representante de
THE BOARD OF TRUSTEES OF THE LELAND STANFORD JUNIOR UNIVERSITY

REFERENCIA	Radicación No.	11 052890
	Solicitud internacional	PCT/US2008/78884
	Fecha inicio fase nacional	05/05/2011
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	430
	Oficio No.	08264

Teniendo en cuenta que el capítulo reivindicatorio presentado excede de diez reivindicaciones, es necesario que cancele la tasa establecida por cada reivindicación adicional presentada, de conformidad con lo dispuesto en la resolución de tasas vigente para la fecha de presentación de la solicitud, so pena de que no sean tenidas en cuenta dentro del presente trámite administrativo.

En consecuencia, con fundamento en lo previsto por el artículo 12 del Código Contencioso Administrativo, se le requiere para que dentro del término de dos (2) meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio atienda el requerimiento aquí señalado. Lo anterior, con el alcance que para tal efecto establece el artículo 13 de la misma codificación, respecto de las reivindicaciones adicionales.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Única N° 10 de 2001.

JOSE LUIS SALAZAR LOPEZ
Director de Nuevas Creaciones (c)

20 MAYO 2011

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha _____
adpa11