

(12) **FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO**

(22) Data de pedido: **2009.07.31**

(30) Prioridade(s): **2008.08.01 US 85766 P**

(43) Data de publicação do pedido: **2011.05.18**

(45) Data e BPI da concessão: **2013.03.06**  
**112/2013**

(73) Titular(es):

**CLEVELAND CLINIC FOUNDATION**  
**9500 EUCLID AVENUE CLEVELAND, OH 44195**

**US**

**CLEVELAND BIOLABS, INC.**

**US**

(72) Inventor(es):

**ANDREI V. GUDKOV**  
**ROBERT FAIRCHILD**

**US**

**US**

(74) Mandatário:

**MARIA SILVINA VIEIRA PEREIRA FERREIRA**  
**RUA CASTILHO, N.º 50, 5º - ANDAR 1269-163 LISBOA**

**PT**

(54) Epígrafe: **MÉTODOS PARA O TRATAMENTO DE LESÕES POR REPERFUSÃO**

(57) Resumo:

A PRESENTE INVENÇÃO REFERE-SE AO TRATAMENTO DE UM TECIDO DE MAMÍFERO CONTRA OS EFEITOS DA REPERFUSÃO, USANDO FLAGELINA.

## RESUMO

### "MÉTODOS PARA O TRATAMENTO DE LESÕES POR REPERFUSÃO"

A presente invenção refere-se ao tratamento de um tecido de mamífero contra os efeitos da reperfusão, usando flagelina.

## DESCRIÇÃO

### "MÉTODOS PARA O TRATAMENTO DE LESÕES POR REPERFUSÃO"

#### **CAMPO DA INVENÇÃO**

A presente invenção refere-se à utilização de polipéptidos relacionados com a flagelina para tratar os tecidos dos efeitos da reperfusão.

#### **FUNDAMENTO DA INVENÇÃO**

Os tecidos privados de sangue e de oxigénio sofrem necrose isquémica ou enfarte com eventuais danos irreversíveis nos órgãos. Uma vez que o fluxo de sangue e o oxigénio são restabelecidos no órgão ou tecido (reperfusão), o órgão não volta imediatamente ao estado normal pre-isquémico. A reperfusão do fluxo coronário é necessária para reanimar o tecido ou órgão isquémico ou hipóxico. A reperfusão periódica facilita o resgate de células e diminui a morbidade e a mortalidade. A reperfusão de uma área isquémica pode resultar numa disfunção paradoxal incluindo uma marcada disfunção das células endoteliais, o que resulta em vasoconstrição, ativação de plaquetas e leucócitos, aumento da produção oxidante, e um aumento do líquido e extravasamento de proteína.

Ao longo das últimas duas décadas tem-se assistido a várias intervenções farmacológicas destinadas a limitar as lesões por reperfusão. Infelizmente, o sucesso de alguns agentes tem sido limitado ao modelo experimental de isquemia e reperfusão. A ausência de benefícios clínicos consistentes pode estar relacionada com uma variedade de fatores, incluindo uma conceção deficiente do ensaio clínico,

estudos farmacocinéticos/farmacodinâmicos inadequados e a complexidade do ser humano no modelo *in vivo*.

Existe a necessidade de na arte distinguir estratégias terapêuticas para isquemia vs. reperfusão e é possível que a combinação de agentes seja necessária para desencadear o máximo benefício clínico.

### **SUMÁRIO DA INVENÇÃO**

É fornecido neste documento um método de tratamento de um tecido de mamífero a partir dos efeitos da reperfusão, que podem compreender a administração a um mamífero em necessidade, de uma composição compreendendo flagelina. A composição pode ser administrada em combinação com um antioxidante, que pode ser selecionado do grupo consistindo de amifostina e vitamina E.

A reperfusão pode ser causada por uma lesão, que pode ser isquemia ou hipóxia. A isquemia pode ser selecionada a partir do grupo que consiste em taquicardia, enfarte, hipotensão, embolia, tromboembolia (coágulo de sangue), anemia falciforme, pressão localizada nas extremidades do corpo e tumores. A hipóxia pode ser selecionada a partir do grupo que consiste de hipóxia hipoxêmica (envenenamento por monóxido de carbono; apneia do sono, doença pulmonar obstrutiva crônica, paragem respiratória; *shunts*), hipóxia anêmica (conteúdo O<sub>2</sub> baixo), hipóxia hipoxêmica e hipóxia histotóxica. A pressão localizada pode ser devida a um torniquete.

A composição pode ser administrada antes de, juntamente com, ou após o influxo de oxigênio. O tecido pode ser selecionado a partir do grupo que consiste no trato gastrointestinal, pulmão, rim, fígado, sistema cardiovascular, endotélio dos vasos sanguíneos, o sistema

nervoso central, o sistema nervoso periférico, músculo, osso e folículo capilar.

#### **BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS**

A Fig. 1 demonstra o nível de creatinina no soro de ratos, durante 5 dias após administração intravenosa de flagelina em concentrações de 0,01 µg, 0,5 µg, 1,0 µg, ou 5,0 µg /corpo.

A Fig. 2 demonstra o efeito da flagelina administrado a ratos antes da aplicação da isquemia renal e medição da taxa de sobrevivência e de creatinina após a reperfusão dos rins isquêmicos. O painel A apresenta a percentagem de sobrevivência de ratos que foram pré-tratados com flagelina nas concentrações de 0,01 µg, 0,5 µg, 1,0 µg, ou 5,0 µg /corpo ou PBS como controle. O painel B apresenta o nível de creatinina no mesmo grupo de ratos pré-tratados e de controle.

A Fig. 3 demonstra a histopatologia das células renais isquêmicas 24 horas após a reperfusão que foram pré-tratadas com PBS ou flagelina quer em concentrações de 0,01 µg, 0,5 µg, 1,0 µg, ou 5,0 µg /corpo. A coluna de controle (placebo) indica as células renais isoladas de ratos que não foram impostas com isquemia renal.

A Fig. 4 demonstra a histopatologia das células renais, 7 dias após a reperfusão. No primeiro painel, a lâmina histopatológica apresenta as células renais isoladas de rato pré-tratadas com PBS antes da isquemia renal e seguido por reperfusão dos rins isquêmicos. No primeiro painel, a lâmina histopatológica apresenta as células renais isoladas de rato pré-tratadas com PBS antes da isquemia renal e

seguido por reperfusão dos rins isquêmicos. No segundo painel, a lâmina histopatológica apresenta células renais isoladas de rato pré-tratadas com flagelina, numa concentração de 0,5 µg /corpo, mas não impostas com isquemia renal. O terceiro painel demonstra a lâmina histopatológica apresentando células renais isoladas de rato pré-tratadas com flagelina com uma concentração de 0,5 µg/corpo e impostas com isquemia renal e seguida por reperfusão dos rins isquêmicos.

A Fig. 5 demonstra a análise da infiltração de leucócitos 9 horas e 24 horas após a reperfusão isquêmica em células renais isoladas de ratos pré-tratados com PBS ou flagelina a 0,5 µg/corpo. A Fig. 5a apresenta células do tecido renal imuno-histologicamente marcadas para os níveis de infiltração neutrofílica 9 horas e 24 horas após a reperfusão em células renais tratadas isquêmicas e não isquêmicas de ratos pré-tratados com PBS ou flagelina a 0,5 µg/corpo. A Figura 5b apresenta o número de neutrófilos, macrófagos, células T CD4<sup>+</sup>, e células T CD8<sup>+</sup> que se infiltram nas células do tecido renal, isoladas de ratos pré-tratados com PBS ou flagelina uma concentração de 0,5 µg/corpo. Figura 5c

A Fig. 6 demonstra o papel crítico das quimiocinas de prevenção da flagelina CXCL1/KC e CXCL2/KC para orientar a infiltração dos leucócitos nos tecidos renais isquêmicos. A Fig. 6B demonstra que os níveis de mRNA de proteínas em fase aguda IL-1b e IL-6 mas não os de TNFα foram também reduzidos em rins isquêmicos 9 horas após-reperfusão, em animais pré-condicionados com flagelina.

A Fig. 7 demonstra os níveis de sobrevivência e de creatinina em grupos de ratos C57BL/6 que foram submetidos a 45 minutos de oclusão pedicular renal bilateral e foram

administrados 0,5 µg de flagelina em vários instantes após a remoção das pinças renais.

A Fig. 8 demonstra a administração de 0,5 µg de flagelina dentro de 30 minutos de reperfusão isquêmica dos rins isquêmicos dos ratos tipo selvagem C57BL/6 reconstituídos com medula óssea do tipo selvagem diminuiu os níveis de mRNA de CXCL1 e CXCL2. Em receptores MyD88<sup>-/-</sup> reconstituído com MyD88<sup>-/-</sup> ou medula óssea do tipo selvagem, pouco mRNA CXCL1 e CXCL2 foi induzido durante a reperfusão de rins isquêmicos e a administração de flagelina durante a reperfusão destes rins não diminuem os níveis de mRNA destas quimiocinas. Ao contrário, os receptores do tipo selvagem de medula óssea de doadores MyD88<sup>-/-</sup> expressaram níveis elevados de mRNA CXCL1 e CXCL2 e estes níveis foram reduzidos pela administração de flagelina durante a reperfusão dos rins isquêmicos.

A Fig. 9 demonstra as secções renais dos ratos do tipo selvagem C57BL/6 e BALB/c que foram marcadas com anticorpo anti-TLR5. A Figura 9b demonstra que os níveis de expressão de mRNA TLR5 foram baixos nos rins antes da imposição da isquemia/reperfusão renal mas aumentou rapidamente durante a reperfusão dos rins isquêmicos.

A Figura 10 apresenta a estrutura do domínio de flagelina bacteriana. O vestígio do esqueleto de Ca, distribuição do núcleo hidrófobo e informação estrutural do F41. Quatro núcleos distintos hidrófobos que definem os domínios D1, D2a, D2b e D3. Todos os átomos na cadeia lateral hidrófoba são exibidos com o esqueleto de Ca. Os átomos da cadeia lateral são codificados por cores: Ala, amarelo; Leu, He ou Val, cor-de-laranja; Phe e Tyr, roxo (átomos de carbono) e vermelho (átomos de oxigênio), c, posição e região de várias características estruturais na sequência de

aminoácidos da flagelina. São apresentadas, de cima para baixo: o fragmento F41 em azul; três folhas b dobram-se em castanho; a distribuição da estrutura secundária com hélice a em amarelo, estrutura b em verde, e a volta b a roxo; marca de verificação em azul a cada 50 resíduos; domínios D0, D1, D2 e D3; a região de contacto da subunidade axial no interior do proto-elemento em azul ciano; a sequência de aminoácidos bem conservada a vermelho e a região variável em violeta; mutações pontuais no F41 que produzem os elementos de diferentes super-hélices. As letras na parte inferior indicam a morfologia dos elementos mutantes: L (D107E, R124A, R124S, G426A), linear tipo L; R (A449V), linear tipo R; C (D313Y, A414V, A427V, N433D), enrolada33.

A Figura 11 apresenta um esquema de domínios de flagelina de *Salmonella*, seus fragmentos e sua interação com TLR5. As barras escuras indicam regiões do gene da flagelina utilizado para construir os fragmentos compreendendo A, B, C, A' e B'.

A Figura 12 ilustra os derivados da flagelina. A estrutura de domínio e os limites próximos (coordenadas de aminoácidos) dos derivados selecionados da flagelina (listados à direita). A flagelina FliC de *Salmonella dublin* é codificada em 505 aminoácidos (aa).

A Figura 13 apresenta a sequência de nucleótidos e de aminoácidos para as seguintes variantes de flagelina: AA' (SEQ ID N°: 7-8), AB' (SEQ ID N°: 9-10), BA' (SEQ ID N°: 11-12), BB' (SEQ ID N°: 13-14), CA' (SEQ ID N°: 15-16), CB' (SEQ ID N°: 17-18), A (SEQ ID N°: 19-20), B (SEQ ID N°: 21-22), C (SEQ ID N°: 23-24), GST-A' (SEQ ID N°: 25-26), GST-B' (SEQ ID N°: 27-28), AA'n1-170 (SEQ ID N°: 29-30), AA'n1-163 (SEQ ID N°: 33-34), AA'n54-170 (SEQ ID N°: 31-32), AA'n54-163 (SEQ ID N°: 335-36), AB'n1-170 (SEQ ID N°: 37-



38), AB'n1-163 (SEQ ID N°: 39-40), AA'n1-129 (SEQ ID N°: 41-42), AA'n54-129 (SEQ ID N°: 43-44), AB'n1-129 (SEQ ID N°: 45-46), AB'n54-129 (SEQ ID N°: 47-48), AA'n1-100 (SEQ ID N°: 49-50), AB'n1-100 (SEQ ID N°: 51-52), AA'n1-70 (SEQ ID N°: 53-54) e AB'n1-70 (SEQ ID N°: 55-56). A sequência líder pRSETb é apresentada em itálico (a líder inclui Met, que também é o aminoácido 1 da FliC). O domínio constante N terminal é sublinhado. A sequência de aminoácidos ligante está a negrito. O domínio constante C terminal é sublinhado. A GST, se estiver presente, é destacada.

A Figura 14A apresenta a histologia do músculo do membro posterior de ratos 14 dias após a reperfusão a seguir a 3 horas de isquemia quente, usando uma mancha de hematoxilina/eosina onde o rato tenha sido administrado com 0,5 µg de CBLB502 em 15 minutos de reperfusão.

A Figura 14B apresenta a histologia do músculo do membro posterior de ratos 14 dias após a reperfusão a seguir a 3 horas de isquemia quente, usando uma mancha onde o rato tenha sido administrado com veículo (PBS) em 15 minutos de reperfusão. A Figura 14C apresenta a proporção do edema do tecido húmido/seco no membro de ratos administrados quer com CBLB502 ou PBS dentro de 15 minutos de reperfusão, após 3 horas de isquemia. A proporção do edema foi medido também no membro de ratos administrados com CBLB501 ou PBS, mas poupados a 3 horas de isquemia. A Figura 15 apresenta a proporção de vazamentos vasculares húmidos/secos usando Corante Azul por grama de peso do membro de ratos administrados quer com CBLB501 ou PBS dentro de 15 minutos de reperfusão, após 3 horas de isquemia. A proporção do vazamento vascular foi medida também no membro de ratos administrados com CBLB501 ou PBS, mas poupados a 3 horas de isquemia.

A Fig. 15 apresenta a comparação de sequências de aminoácidos da terminação conservada amino (Fig. 15-A) e carboxilo (Fig. 15B) de 21 espécies de bactérias. Os 13 aminoácidos conservados importantes para a atividade TLR5 são apresentados com sombreado. As sequências de aminoácidos são identificadas pelos seus números de adesão TrEMBL (primeira letra = Q) ou Swiss-Prot (primeira letra = P).

### **DESCRIÇÃO DETALHADA**

Os inventores fizeram a surpreendente descoberta de que a flagelina protege contra os efeitos da reperfusão. A ausência ou a diminuição de oxigênio e dos nutrientes do sangue cria uma condição na qual a restauração da circulação resulta em inflamação e danos oxidativos através da indução do stress oxidativo em vez do restabelecimento da função normal. O fluxo sanguíneo restabelecido reintroduz o oxigênio dentro das células, o que danifica as proteínas celulares, o ADN e a membrana plasmática. Os danos à membrana celular por sua vez, podem causar a libertação de mais radicais livres. Tais espécies reativas também atuam na sinalização redox para induzir a apoptose de células do tecido isquêmico. Além disso, a resposta inflamatória danifica mais ainda o tecido. Os glóbulos brancos transportados para a área pelo sangue que volta renovado, libertam uma série de fatores inflamatórios tais como as interleucinas, bem como radicais livres em resposta ao dano tecidual. Os leucócitos também podem acumular-se em pequenos capilares, obstruindo-os e conduzindo a mais isquemia. Embora não seja demonstrado, teoricamente a flagelina pode fornecer proteção contra os efeitos da reperfusão através da redução do stress oxidativo e inflamatório no tecido evitando assim a apoptose e permitindo uma recuperação mais rápida do tecido para um

estado normal. Esta natureza protetora da flagelina pode ser usada quer no início da reperfusão ou ser utilizada para evitar mais danos devidos à reperfusão. A invenção descrita diz respeito, em parte, à administração de flagelina para o tratamento de um tecido de mamífero dos efeitos de reperfusão.

#### 1. Definições.

A terminologia utilizada neste documento é apenas para a finalidade de descrever formas de realização particulares e não se destina a ser limitante. Tal como usado na descrição e nas reivindicações anexas, as formas singulares "um", "uma" e "o/a" incluem referências plurais, a menos que o contexto claramente indique o contrário.

Para citar os intervalos numéricos aqui inclusos, cada número interveniente incluído com o mesmo grau de precisão é explicitamente contemplado. Por exemplo, para o intervalo de 6-9, os números 7 e 8 são incluídos, além de 6 e 9, e para intervalo 6,0-7,0, os números 6,0, 6,1, 6,2, 6,3, 6,4, 6,5, 6,6, 6,7, 6,8, 6,9, e 7,0 são explicitamente contemplados.

"Administrar" pode significar uma dose de um agente que induz a atividade NF- $\kappa$ B, significa uma dose única ou doses múltiplas do agente.

"Análogo" pode significar, no contexto de um péptido ou polipéptido, um péptido ou polipéptido compreendendo um ou mais aminoácidos não-padrão ou outras variações estruturais do conjunto convencional de aminoácidos.

"Anticorpo" pode significar um anticorpo de classes IgG, IgM, IgA, IgD ou IgE, ou fragmentos, seus fragmentos ou derivados, incluindo o Fab, F(ab')<sub>2</sub>, Fd, e anticorpos de cadeia simples, diacorpos, anticorpos biespecíficos, anticorpos bifuncionais e seus derivados. O anticorpo pode ser um anticorpo monoclonal, um anticorpo policlonal, um anticorpo purificado por afinidade, ou suas misturas que

apresentem especificidade de ligação suficiente para o epítipo desejado ou uma sequência dele derivada. O anticorpo pode ser também um anticorpo quimérico. O anticorpo pode ser derivado da ligação de uma ou mais substâncias químicas, porções de péptidos ou polipéptidos conhecidos na arte. O anticorpo pode ser conjugado com uma porção química.

A "apoptose" pode significar uma forma de morte celular que inclui a contração progressiva do volume da célula com a preservação da integridade dos organelos citoplasmáticos; a condensação da cromatina (ou seja, condensação nuclear), como vista pela microscopia ótica ou eletrônica; e/ou clivagem do ADN em alguns fragmentos dimensionados, tal como determinado pelos ensaios de sedimentação por centrifugação.

A morte celular ocorre quando a integridade da membrana da célula é perdida (*p.ex.*, uma evaginação irregular da membrana) englobando os fragmentos celulares intactos ("corpos apoptóticos") por células fagocíticas. Um "péptido" ou "polipéptido" pode significar uma sequência ligada de aminoácidos e pode ser natural, sintética, ou uma modificação ou combinação de naturais e sintéticas. Os termos "tratando", "tratamento" ou "tratar" podem significar, cada um, aliviar, suprimir, reprimir, eliminar, prevenir ou retardar o aparecimento dos sintomas, sinais clínicos, ou patologia de base de uma condição ou doença, numa base temporária ou permanente. A prevenção da doença envolve administrar uma composição da presente invenção a um animal, antes do início da doença. A supressão da doença envolve administrar uma composição da presente invenção a um animal após a indução da doença, mas antes do seu aparecimento clínico. A repressão da doença envolve administrar uma composição da presente invenção a um animal, após o aparecimento clínico da doença.

## 2. Tratando os Efeitos da Reperfusão

É aqui fornecido um método de tratamento dos efeitos da reperfusão por administração a um mamífero em necessidade da mesma, de uma composição compreendendo flagelina. A reperfusão pode ser causada por uma lesão.

A reperfusão pode causar danos a um componente corporal quando o fornecimento de sangue regressa ao componente corporal, após a lesão. Os efeitos da reperfusão podem ser mais prejudiciais ao componente corporal do que a lesão em si. Existem vários mecanismos e mediadores da reperfusão incluindo os radicais livres de oxigénio, sobrecarga de cálcio intracelular e a disfunção endotelial. Quantidades excessivas de espécies reativas de oxigénio, quando reintroduzidas num componente corporal previamente danificado, sofrem uma redução sequencial levando à formação de radicais livres de oxigénio. Os radicais oxidantes potentes, tais como o anião superóxido, radical hidroxilo, e peroxinitrite, podem ser produzidos dentro de poucos minutos a partir do refluxo para o componente corporal e podem desempenhar um papel crucial no desenvolvimento da lesão de reperfusão. Os radicais livres de oxigénio também podem ser gerados a partir de outras fontes, além da redução do oxigénio molecular. Estas fontes incluem enzimas, tais como a xantina oxidase, citocromo oxidase, e ciclo-oxigenase e a oxidação de catecolaminas. A reperfusão também é um potente estímulo para a ativação e a acumulação de neutrófilos, o que por sua vez servem como potentes estímulos para a produção de espécies reativas de oxigénio. Especificamente, os principais produtos da queima respiratória dos neutrófilos são agentes oxidantes fortes incluindo o peróxido de hidrogénio, radicais livres de oxigénio e hipoclorito. Os neutrófilos são o tipo mais abundante de fagócitos, normalmente representando 50 a 60% do total dos leucócitos circulantes e geralmente são as

primeiras células a chegar ao local do componente corporal danificado. Os radicais livres derivados do oxigênio produzem danos por reagir com ácidos gordos poli-insaturados, resultando na formação de peróxidos lipídicos e hidroperóxidos que danificam o componente corporal e prejudicam o funcionamento de sistemas enzimáticos ligados à membrana. Os radicais livres estimulam a libertação endotelial do fator ativador de plaquetas e de quimiocinas, tais como o fator ativador dos neutrófilos, a quimiocina (motivo C-X-C) ligando 1 e quimiocina (motivo C-X-C) ligando 1 que atrai mais neutrófilos e amplifica a produção de radicais oxidantes e o grau da lesão de reperfusão. As espécies reativas de oxigênio também atenuam o óxido nítrico, exagerando a lesão endotelial e a disfunção das células e tecidos. Além de um aumento na produção, existe também uma deficiência relativa nas enzimas endógenas de limpeza de oxidantes, que exageram adicionalmente a disfunção cardíaca mediada por radicais livres.

A reperfusão pode ainda resultar numa acentuada disfunção das células endoteliais. A disfunção endotelial facilita a expressão de um fenótipo pro-trombótico caracterizado por ativação de neutrófilos e plaquetas, importantes mediadores da reperfusão. Uma vez os neutrófilos entrando em contato com o endotélio disfuncional, eles são ativados e, numa série de etapas bem definidas (enrolamento, adesão firme e transmigração) migram para zonas de lesão tecidual através de junções das células endoteliais como parte da resposta imune inata.

As alterações na homeostase intracelular do cálcio desempenham um importante papel no desenvolvimento da reperfusão. A reperfusão pode ser associada ao aumento de cálcio intracelular; este efeito pode estar relacionado com uma maior entrada de cálcio sarcolemal por canais de cálcio do tipo-L ou pode ser secundária para alterações no ciclo do cálcio no retículo sarcoplasmático. Além da sobrecarga

de cálcio intracelular, alterações na sensibilidade dos miofilamentos ao cálcio têm sido implicadas na reperfusão. A ativação de proteases cálcio-dependentes (calpaína I) com consequente proteólise miofibrilar foi sugerida como sublinhando a lesão de reperfusão, tal como a proteólise da troponina.

A reperfusão de células do tecido submetido a uma lesão têm um metabolismo celular alterado, que, por sua vez, podem contribuir para retardar a recuperação funcional. Por exemplo, uma lesão pode induzir o metabolismo anaeróbio numa célula com uma produção em rede de lactato. A libertação de lactato persiste durante a fase de reperfusão, sugerindo um atraso na recuperação do metabolismo aeróbio normal. Da mesma forma, a atividade do piruvato desidrogenase mitocondrial (PDH) pode ser inibida até 40% após uma lesão e pode permanecer deprimida até 30 minutos após a reperfusão.

Cada um desses eventos durante a reperfusão pode levar ao stress das células do tecido e morte celular programada (apoptose) e necrose das células do tecido. A apoptose normalmente funciona para "limpar" os tecidos das células feridas e geneticamente danificadas, enquanto as citocinas servem para mobilizar o sistema de defesa do organismo contra o agente patogénico. No entanto, em condições de danos graves, ambos os mecanismos de resposta ao stress podem, or si só, atuar como causas de morte.

#### a. Flagelina

A flagelina pode ser um polipéptido relacionado com a flagelina. A flagelina pode ser de qualquer origem, incluindo uma variedade de espécies de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. A flagelina pode ter a sequência de aminoácidos de uma das 23 flagelinas de espécies de bactérias que estão representadas na figura 7

da Publicação da Patente U.S N° 2003/0044429, cujo conteúdo é incorporado neste documento por referência. As sequências nucleotídicas que codificam para os polipéptidos de flagelina listados na figura 7 do documento U.S. 2003/0044429 estão publicamente disponíveis através de fontes, que incluem a base de dados do NCBI Genbank. A flagelina pode ser o componente principal do flagelo bacteriano. A flagelina pode ser composta por três domínios (Fig. 10). O domínio 1 (D1) e o domínio 2 (D2) podem ser descontínuos e podem ser formados quando resíduos na terminação amino e na terminação carboxilo são justapostos por meio da formação de uma estrutura em grampo. As terminações amino e carboxilo compreendendo os domínios D1 e D2 podem ser as mais conservadas, considerando que o domínio médio hipervariável (D3) pode ser altamente variável. Os estudos com uma proteína recombinante contendo os amino D1 e D2 e os carboxilo D1 e D2 separados por uma dobradiça *Escherichia coli* (ND1-2/ECH/CD2) indicam que os D1 e D2 podem ser bioativos quando acoplados a um elemento ECH. Esta quimera, mas não a dobradiça isoladamente, pode induzir a degradação de I $\kappa$ B $\alpha$ , a ativação de NF- $\kappa$ B e a produção de NO e IL-8 em duas linhas de células epiteliais intestinais. O domínio D3 não conservado pode estar na superfície do filamento flagelar e pode conter os principais epítomos antigénicos. A atividade pró-inflamatória potentes da flagelina pode residir nas regiões dos D1 e D2 N e C altamente conservadas.

A flagelina pode induzir a atividade NF- $\kappa$ B através da ligação ao recetor 5 semelhante a Toll (TLR5). A família TLR pode ser composta por, pelo menos, 10 membros e é essencial na defesa imune inata contra agentes patogénicos. O sistema imune inato pode reconhecer padrões moleculares associados a agentes patogénicos (PAMPs) que são conservados em agentes patogénicos microbianos. O TLR pode reconhecer uma estrutura conservada que é particular para a



flagelina bacteriana. A estrutura conservada pode ser composta por um grande grupo de resíduos, que são, de algum modo, permissivos à variação no conteúdo em aminoácidos. Smith et al., *Nat Immunol.* 4:1247-53 (2003) identificaram 13 aminoácidos conservados na flagelina que são parte da estrutura conservada reconhecida pelo TLR5. Os 13 aminoácidos conservados da flagelina que podem ser importantes para a atividade do TLR5 são apresentados na Fig. 11.

A flagelina pode pertencer a uma espécie de Salmonela, um exemplo representativo do que pode ser a *S. dublin* (codificado pelo Número de Adesão GenBank M84972) (SEQ ID N°: 1). O polipéptido relacionado com a flagelina pode ser um fragmento, variante, análogo, homólogo, ou derivado da SEQ ID N°: 1, ou uma sua combinação, que se liga ao TLR5 e induz a atividade mediada pelo TLR5, tal como a atividade das NF-kB. Um fragmento, variante, análogo, homólogo ou derivado da flagelina pode ser obtido através de um desenho com base racional, baseado na estrutura do domínio da Flagelina e na estrutura conservada reconhecida pelo TLR5. A flagelina pode compreender, pelo menos, 10, 11, 12, ou 13 dos 13 aminoácidos conservados apresentados na Fig. 11 (posições 89, 90, 91, 95, 98, 101, 115, 422, 423, 426, 431, 436 e 452). A flagelina pode ser pelo menos 30-99% idêntica aos aminoácidos 1 174 e 418 505 da SEQ ID N°: 1. A Fig. 26 lista a percentagem de identidade das terminações amino- e carboxilo- da flagelina com a atividade estimuladora do TLR5 conhecida, quando comparada com a SEQ ID N°: 1.

A flagelina pode ser um polipéptido de flagelina de qualquer espécie de bactéria Gram-positiva ou Gram-negativa incluindo, mas não se limitando a, polipéptidos de flagelina divulgados na Pub. Pat. U.S. 2003/000044429, cujos conteúdos são incorporados neste documento, e os péptidos de flagelina correspondentes aos números de adesão listados nos resultados BLAST apresentados na Fig. 25 da

Pub. da Pat. U.S. 2003/000044429, ou suas variantes. A flagelina pode estimular a atividade do TLR5. Foram feitos vários mutantes delecionais da flagelina que mantêm pelo menos alguma atividade estimulante do TLR5. A flagelina pode ser um mutante delecional divulgado nos exemplos aqui inclusos e pode compreender uma sequência traduzida com o Número de Adesão GenBank, D 13689, carecendo dos aminoácidos 185-306 ou 444-492, ou com o Número de Adesão GenBank M84973 carecendo dos aminoácidos 179-415, ou uma sua variante.

A flagelina pode compreender inserções do transposão e alterações ao domínio D3 variável. O domínio D3 pode ser substituído em parte, ou na totalidade, com uma dobradiça ou um polipéptido ligante que permite que os domínios D1 e D2 dobrem corretamente, de modo que a variante estimule a atividade do TLR5. Os elementos da variante dobradiça podem ser encontrados na proteína MukB de *E. coli* e podem ter uma sequência conforme estabelecida nas SEQ ID N°s: 3 e 4, ou uma sua variante.

Outros agentes podem ser utilizados para alvejar os recetores TLR5. Estes agentes podem ser agonistas do TLR5 e estimular a atividade do TLR5. O agonista pode ser um anticorpo anti-TLR5 ou outra molécula pequena.

## **b. Lesões**

Os efeitos da reperfusão podem ser causados por uma lesão no componente corporal. As lesões podem ser devidas à isquemia, hipóxia, enfarte, ou uma embolia. O tratamento das lesões pode levar a reperfusão e danos adicionais ao componente corporal.

### **(1) Isquemia**

A isquemia pode ser uma escassez absoluta ou relativa do fornecimento de sangue a um componente corporal. A escassez relativa pode ser uma incompatibilidade, no entanto, pequena do sangue fornecido (distribuição do oxigênio) a um componente corporal vs. o sangue necessário para um componente corporal fazer a oxigenação adequada. A isquemia também pode ser um fluxo inadequado de sangue a uma parte do corpo devido a uma constrição ou obstrução dos vasos sanguíneos que o fornecem e pode afetar qualquer componente corporal no corpo. Um fornecimento de sangue insuficiente faz com que os componentes do organismo se tornem hipóxicos, ou, se não for fornecido oxigênio de todo, anóxicos. Isto pode causar necrose. Os mecanismos de isquemia podem variar muito. Por exemplo, a isquemia para qualquer componente corporal pode ser devida a taquicardia (batimento anormalmente rápido do coração), aterosclerose (placa carregada de lípidos obstruindo o lúmen das artérias), hipotensão (pressão arterial baixa no choque séptico, insuficiência cardíaca), tromboembolismo (coágulos sanguíneos), compressão exterior de vasos sanguíneos (tumor), embolias (corpos estranhos na circulação, p.ex., embolia do fluido amniótico), anemia falciforme (hemoglobina anormalmente formada) enfartes, forças g induzidas que restringem o fluxo de sangue e forçam o sangue para as extremidades do corpo, frio extremo localizado devido a ulcerações, gelo, terapia de compressão por frio inadequada, e qualquer outra força que restringe o fluxo sanguíneo para as extremidades, como um torniquete. A força para restringir o fluxo sanguíneo às extremidades pode ser necessária devido a lacerações graves, incisões, perfurações, tais como um esfaqueamento, lesões por esmagamento devido a trauma causado por uma força brusca, e trauma balístico causado por arma ou ferimentos causados por estilhaços. A isquemia pode ser uma característica das doenças do coração, colite isquêmica,

ataques de isquémia transitórios, acidentes vasculares cerebrais, lesão renal aguda, ruptura de malformações arteriovenosas e doença oclusiva arterial periférica.

## **(2) Hipóxia**

A hipóxia pode ser a privação do fornecimento adequado de oxigénio. A hipóxia pode ser uma condição patológica em que o corpo como um todo (hipóxia generalizada) ou uma região do corpo (hipóxia tecidual) é privado do fornecimento adequado de oxigénio. Uma variação dos níveis de oxigénio arterial no pode ser devida a uma incompatibilidade entre o fornecimento e a necessidade de oxigénio dos componentes do corpo. A completa privação do fornecimento em oxigénio é a anóxia. A hipóxia pode ser hipóxia hipoxémica, hipóxia anémica, hipóxia hipoxémica, hipóxia histotóxica, hipóxia histotóxica e hipóxia isquémica.

A hipóxia hipoxémica pode ser um fornecimento inadequado de oxigénio ao corpo como um todo, causada pela baixa pressão parcial do oxigénio no sangue arterial. A hipóxia hipoxémica pode ser devida à baixa pressão parcial do oxigénio atmosférico, tal como em altitudes elevadas, substituição do oxigénio na mistura de respiração da atmosfera modificada como um esgoto, substituição de oxigénio intencionalmente, como no uso recreativo de óxido nitroso, uma diminuição na saturação por oxigénio do sangue devida à apnéia do sono, ou hipopnéias, ventilação pulmonar inadequada, tal como a doença pulmonar obstrutiva crónica ou paragem respiratória, "shunts" anatómicos ou mecânicos na circulação pulmonar ou um *shunt* da direita para a esquerda no coração e no pulmão. Os *shunts* podem causar o colapso dos alvéolos que ainda são perfundidos ou um bloco na ventilação para uma área do pulmão. Os *shunts* podem

apresentar sangue destinado ao sistema pulmonar para não ser ventilado e evitar trocas gasosas devido aos vasos *Thebesia* vazios no ventrículo esquerdo e à circulação brônquica, que alimenta os brônquios com o oxigênio.

A hipóxia anêmica pode ser o teor total em oxigênio que é reduzido, mas a pressão arterial de oxigênio é normal. A hipóxia hipoxêmica pode ser quando o sangue não consegue fornecer oxigênio aos componentes alvo do corpo. A hipóxia hipoxêmica pode ser causada por intoxicação com monóxido de carbono que inibe a capacidade da hemoglobina para libertar o oxigênio ligado a ela, ou meta-hemoglobinemia, uma hemoglobina anormal que se acumula no sangue. A hipóxia histotóxica pode ser devida à incapacidade de efetivamente usar oxigênio devido a enzimas deficientes de fosforilação oxidativa.

### **(3) Enfarte**

O enfarte é um tipo de condição patológica que pode causar isquemia. O enfarte pode ser uma área macroscópica do tecido necrótico que causou a perda de um fornecimento sanguíneo adequado devido a uma oclusão. O enfarte pode ser um enfarte branco composto por plaquetas e provocar a necrose em tecidos de órgãos tais como o coração, baço e rins. O enfarte pode ser um enfarte vermelho composto por glóbulos vermelhos e cadeias de fibrina em tecidos de órgãos do pulmão. A doença associada ao enfarte pode incluir o enfarte do miocárdio, embolia pulmonar, acidente vascular cerebral (AVC), insuficiência renal aguda, doença oclusiva arterial periférica (por exemplo, gangrena), síndrome do anticorpo anti-fosfolipídico, sepsis, artrite das células gigantes, hérnia e vólvulo.

### **(4) Embolia**

A embolia é um tipo de condição patológica que pode causar isquémia. A embolia pode ser um objeto que migra de uma parte do corpo e causa uma oclusão ou bloqueio de um vaso sanguíneo noutra parte do corpo. Uma embolia pode ser tromboembolia, embolia gorda, embolia gasosa, embolia séptica, embolia tecidular, embolia devida a um corpo estranho, embolia do líquido amniótico. A tromboembolia pode ser um coágulo sanguíneo que está totalmente ou parcialmente isolado do local da trombose. A embolia gorda pode ser tecido adiposo endógeno que escapa para a circulação sanguínea. A fratura dos ossos é um exemplo de um vazamento de tecido gordo para os vasos e artérias lesionados. A embolia gasosa pode ser uma ruptura dos alvéolos e o ar inalado vai para dentro dos vasos sanguíneos. A punção da veia subclávia ou terapia intravenosa são exemplos de fuga de ar para os vasos sanguíneos. Uma embolia gasosa pode ser provocada por gases como o azoto e o hélio por serem insolúveis e formarem pequenas bolhas no sangue.

### **c. Componente Corporal**

A presente invenção refere-se ao tratamento de um componente do corpo de um mamífero. O componente do corpo pode ser um órgão, um tecido ou uma célula. O componente do corpo pode ser proveniente de um abdómen, acetábulo, tecido adiposo, córtex adrenal, na glândula adrenal, medula adrenal, macrófago alveolar, âmnio, aorta, artéria, ascite, líquido ascítico, gânglio linfático axilar, bexiga, sangue, ossos, medula óssea, intestino, cérebro, mama, brônquio, cartilagem, tronco caudal, cerebelo, colo do útero, vilosidade coriônica, cólon, membrana conjuntiva, tecido conjuntivo, córnea, derme, gânglio da raiz dorsal, duodeno, displasia da mucosa da língua, ovo, embrião, sistema

endócrino, endométrio, endotélio, epiderme, epitélio, eritropoiético, olho, fibroblasto, barbatana, feto, pé, prepúcio, gânglio de Gasser, estroma gengival, gónada, gânglio linfático inguinal, coração, úmero, íleo, intestino, ileocecal, íleo, ilhéus de Langerhans, rim, larvas, larvar, laringe, fígado, pulmão, pulmão (bronquioalveolar), linfa, gânglios linfáticos, tecido linfático, linfóide, órgãos linfóides, mamária, gânglios alveolares mamários, glândula mamária, mesonefros, mesotélio, ecdise ninfal, boca, músculo, nasal, septo nasal, sistema nervoso, neural, junção gastro-esofágica, esófago, oral, ovárica, mesênquima do palato, pancreas, ovário papilar, pênis, sangue periférico, peritoneu, faringe, hipófise, placenta, derrame pleural, líquido pleural, próstata, ovário pupal, reto, retina, gânglio linfático axial direito, ducto salivar, glândula salivar, músculo esquelético, pele, intestino delgado, intestino delgado, tecidos moles, baço, esterno, estômago, cauda, testículo, testículos, coxa, timo, tiróide, glândula tiróide, língua, amígdalas, traqueia, tronco, corneto, cordão umbilical, umbigo, útero, vagina, vísceras, vulva, trato gastrointestinal, pulmões, rins, fígado, sistema cardiovascular, endotélio dos vasos sanguíneos, sistema nervoso central e periférico, músculo, osso, folículos capilares e saco vitelino.

### **3. Composição**

A presente invenção também se refere a uma composição compreendendo uma quantidade terapeuticamente eficaz de flagelina. A composição pode ser uma composição farmacêutica, que pode ser produzida através de métodos bem conhecidos na arte. A composição pode também compreender um co-agente. Como descrito acima, a composição pode ser

administrada a um mamífero para tratar os efeitos da reperfusão.

#### **a. Administração**

A administração de composições utilizando o método aqui descrito pode ser por via oral, parentérica, sublingual, transdérmica, retal, transmucosal, tópica, inalatória, administração bucal, ou suas combinações. A administração parentérica inclui, mas não está limitada a, intravenosa, intra-arterial, intraperitoneal, subcutânea, intramuscular, intratecal e intra-articular. Para uso veterinário, a composição pode ser administrada como uma formulação adequada aceitável, de acordo com a prática veterinária normal. O veterinário pode facilmente determinar a posologia e a via de administração, que é mais apropriada para um determinado animal. As composições podem ser administradas a um paciente humano, gato, cão, animal de grande porte, ou uma ave.

A composição pode ser administrada simultaneamente ou metronomicamente com outros tratamentos. O termo "simultâneo" ou "simultaneamente" como usado aqui, significa que a composição e outro tratamento pode ser administrado com um intervalo de 48 horas, de preferência, 24 horas, mais preferencialmente 12 horas, ainda mais preferencialmente 6 horas, do modo mais preferido, 3 horas ou menos, entre si. O termo "metronomicamente" como usado aqui significa a administração da composição em instantes diferentes do outro tratamento e a uma certa frequência relativa à administração repetida.

A composição pode ser administrada em qualquer ponto anterior à reperfusão, incluindo cerca de 120 hr, 118 hr, 116 hr, 114 hr, 112 hr, 110 hr, 108 hr, 106 hr, 104 hr, 102 hr, 100 hr, 98 hr, 96 hr, 94 hr, 92 hr, 90 hr, 88 hr, 86 hr, 84 hr, 82 hr, 80 hr, 78 hr, 76 hr, 74 hr, 72 hr, 70 hr,



68 hr, 66 hr, 64 hr, 62 hr, 60 hr, 58 hr, 56 hr, 54 hr, 52 hr, 50hr, 48 hr, 46 hr, 44 hr, 42 hr, 40 hr, 38 hr, 36 hr, 34 hr, 32 hr, 30 hr, 28 hr, 26 hr, 24 hr, 22 hr, 20 hr, 18 hr, 16 hr, 14 hr, 12 hr, 10 hr, 8 hr, 6 hr, 4 hr, 3 hr, 2 hr, 1 hr, 55 mins., 50 mins., 45 mins., 40 mins., 35 mins., 30 mins., 25 mins., 20 mins., 15 mins, 10 mins, 9 mins, 8 mins, 7 mins., 6 mins., 5 mins., 4 mins., 3 mins, 2 mins, e 1 min. antes da reperfusão. A composição pode ser administrada em qualquer ponto anterior à lesão, incluindo cerca de 120 hr, 118 hr, 116 hr, 114 hr, 112 hr, 110 hr, 108 hr, 106 hr, 104 hr, 102 hr, 100 hr, 98 hr, 96 hr, 94 hr, 92 hr, 90 hr, 88 hr, 86 hr, 84 hr, 82 hr, 80 hr, 78 hr, 76 hr, 74 hr, 72 hr, 70 hr, 68 hr, 66 hr, 64 hr, 62 hr, 60 hr, 58 hr, 56 hr, 54 hr, 52 hr, 50hr, 48 hr, 46 hr, 44 hr, 42 hr, 40 hr, 38 hr, 36 hr, 34 hr, 32 hr, 30 hr, 28 hr, 26 hr, 24 hr, 22 hr, 20 hr, 18 hr, 16 hr, 14 hr, 12 hr, 10 hr, 8 hr, 6 hr, 4 hr, 3 hr, 2 hr, 1 hr, 55 mins., 50 mins., 45 mins., 40 mins., 35 mins., 30 mins., 25 mins., 20 mins., 15 mins, 10 mins, 9 mins, 8 mins, 7 mins., 6 mins., 5 mins., 4 mins., 3 mins, 2 mins, e 1 min. antes da lesão. A composição pode ser administrada em qualquer ponto após a reperfusão, incluindo cerca de 1 min, 2 mins., 3 mins., 4 mins., 5 mins., 6 mins., 7 mins., 8 mins., 9 mins., 10 mins., 15 mins., 20 mins., 25 mins., 30 mins., 35 mins., 40 mins., 45 mins., 50 mins., 55 mins., 1 hr, 2 hr, 3 hr, 4 hr, 6 hr, 8 hr, 10 hr, 12 hr, 14 hr, 16 hr, 18 hr, 20 hr, 22 hr, 24 hr, 26 hr, 28 hr, 30 hr, 32 hr, 34 hr, 36 hr, 38 hr, 40 hr, 42 hr, 44 hr, 46 hr, 48 hr, 50 hr, 52 hr, 54 hr, 56 hr, 58 hr, 60 hr, 62 hr, 64 hr, 66 hr, 68 hr, 70 hr, 72 hr, 74 hr, 76 hr, 78 hr, 80 hr, 82 hr, 84 hr, 86 hr, 88 hr, 90 hr, 92 hr, 94 hr, 96 hr, 98 hr, 100 hr, 102 hr, 104 hr, 106 hr, 108 hr, 110 hr, 112 hr, 114 hr, 116 hr, 118 hr, e 120 hr após a reperfusão.

## **b. Formulação**

O método pode compreender a administração de uma composição para tratar os efeitos da reperfusão. As composições aqui fornecidas podem estar na forma de comprimidos ou pastilhas formulados de forma convencional. Por exemplo, os comprimidos e as cápsulas para administração por via oral podem conter excipientes convencionais incluindo, mas não se limitando a, agentes aglomerantes, de preenchimento, lubrificantes, desintegrantes e humectantes. Os agentes aglomerantes incluem, mas não estão limitados a, xarope, acacia, gelatina, sorbitol, goma adragante, mucilagem de amido, polivinilpirrolidona. Os agentes de preenchimento incluem, mas não estão limitados a, lactose, açúcar, celulose microcristalina, amido de milho, fosfato de cálcio e sorbitol. Os lubrificantes incluem, mas não estão limitados a, estearato de magnésio, ácido esteárico, talco, polietilenoglicol e sílica. Os desintegrantes incluem, mas não estão limitados a, fécula de batata e sódio glicolato de amido. Os agentes humectantes incluem, mas não estão limitados a, lauril sulfato de sódio. Os comprimidos podem ser revestidos de acordo com métodos bem conhecidos na arte.

As composições aqui fornecidas podem também ser formulações líquidas, incluindo, mas não se limitando a, suspensões aquosas ou oleosas, soluções, emulsões, xaropes e elixires. As composições também podem ser formuladas como um produto seco para a constituição com a água ou outro veículo adequado antes da utilização. Tais preparações líquidas podem conter aditivos, incluindo, mas não se limitando a, agentes de suspensão, agentes emulsionantes, veículos não aquosos e conservantes. O agente de suspensão inclui, mas não está limitado a, xarope de sorbitol, metil-celulose, xarope de glicose/açúcar, gelatina, hidroxietilcelulose, carboximetilcelulose, gel de estearato de alumínio e gorduras hidrogenadas comestíveis. Os agentes emulsionantes

incluem, mas não estão limitados a, lecitina, mono-oleato de sorbitano e acacia. Os veículos não aquosos incluem, mas não estão limitados a, óleos comestíveis, óleo de amêndoa, óleo de coco fracionado, ésteres oleosos, propileno glicol e álcool etílico. Os conservantes incluem, mas não estão limitados a p-hidroxibenzoato de metilo ou propilo e ácido sórbico.

As composições aqui fornecidas também podem ser formuladas como supositórios, que podem conter bases supositórias incluindo, mas não se limitando a, manteiga de cacau ou glicéridos. As composições aqui fornecidas podem também ser formuladas para a inalação, que podem estar sob a forma de, incluindo mas não se limitando a, uma solução, suspensão ou emulsão que pode ser administrada como um pó seco ou sob a forma de aerossol utilizando um propulsor, tal como o diclorodifluorometano ou o tricloromonofluorometano. As composições aqui fornecidas podem também ser formuladas como formulações transdérmicas compreendendo veículos aquosos ou não aquosos, incluindo, mas não se limitando a, cremes, pomadas, loções, pastas, gesso terapêutico, adesivo, ou membrana.

As composições aqui fornecidas podem também ser formuladas para a administração parentérica, incluindo, mas não se limitando, por injeção ou infusão contínua. As formulações para injeção podem ser na forma de suspensões, soluções ou emulsões em veículos oleosos ou aquosos e podem conter agentes de formulação, incluindo, mas não se limitando a, agentes de suspensão, estabilização e agentes dispersantes. A composição também pode ser fornecida na forma de pó para reconstituição com um veículo adequado, incluindo, mas não se limitando a, água estéril, isenta de pirógenos. As composições fornecidas neste documento também podem ser formuladas como uma preparação do depósito, que pode ser administrada por implante ou por injeção intramuscular. As composições podem ser formuladas com materiais poliméricos

ou hidrófobos adequados (como uma emulsão num óleo aceitável, por exemplo), resinas permutadoras de iões, ou como derivados parcialmente solúveis (como um sal moderadamente solúvel, por exemplo).

#### **d. Dosagem**

O método pode compreender a administração de uma quantidade terapêuticamente eficaz da composição para um paciente em necessidade da mesma. A quantidade terapêuticamente eficaz necessária para uso na terapia varia de acordo com a natureza da condição a ser tratada, o tempo desejado para aumentar as células-tronco hematopoéticas na corrente sanguínea e a idade/condição do paciente. No entanto, em geral, as doses empregues para o tratamento de humanos adultos tipicamente estão na faixa de 0,001 mg/kg até cerca de 200 mg/kg por dia. A dose pode ser de cerca de 1 µg/kg até cerca de 100 µg/kg por dia. A dose desejada pode ser convenientemente administrada numa dose única, ou como várias doses administradas em intervalos adequados, por exemplo, como dois, três, quatro ou mais sub-doses por dia. Múltiplas doses podem ser desejadas ou necessárias. A dose pode ser qualquer dose incluindo, mas não se limitando a cerca de 0,1 µg/kg, 0,2 µg/kg, 0,3 µg/kg, 0,4 µg/kg, 0,5 µg/kg, 0,6 µg/kg, 0,7 µg/kg, 0,8 µg/kg, 0,9 µg/kg, 1 µg/kg, 25 µg/kg, 50 µg/kg, 75 µg/kg, 100 µg/kg, 125 µg/kg, 150 µg/kg, 175 µg/kg, 200 µg/kg, 225 µg/kg, 250 µg/kg, 275 µg/kg, 300 µg/kg, 325 µg/kg, 350 µg/kg, 375 µg/kg, 400 µg/kg, 425 µg/kg, 450 µg/kg, 475 µg/kg, 500 µg/kg, 525 µg/kg, 550 µg/kg, 575 µg/kg, 600 µg/kg, 625 µg/kg, 650 µg/kg, 675 µg/kg, 700 µg/kg, 725 µg/kg, 750 µg/kg, 775 µg/kg, 800 µg/kg, 825 µg/kg, 850 µg/kg, 875 µg/kg, 900 µg/kg, 925 µg/kg, 950 µg/kg, 975 µg/kg ou 1 mg/kg.

#### 4. Co-agente

A flagelina ou a composição pode ser co-administrada com um co-agente. O co-agente pode ser qualquer composto que retarda ou impede os efeitos da reperfusão. O co-agente pode ser um antioxidante. Os antioxidantes podem ser capazes de diminuir e prevenir a oxidação de outras moléculas, células, tecidos ou órgãos. O antioxidante pode ser a vitamina E, ácido ascórbico, glutathione, ácido lipóico, ácido úrico, carotenos tais como o  $\beta$ -caroteno e retinol, vitamina E e coenzima Q, tióis, tais como cisteína, cisteamina, glutathione e bilirrubina, amifostina e flavonóides.

O co-agente pode ser um inibidor do antiporte sódio-hidrogénio. A lesão e a reperfusão podem resultar numa em acidose intracelular acentuada. Um inibidor do antiporte de sódio-hidrogénio pode ser usado para reduzir a extrusão de prótons e evitar aumentos do  $\text{Ca}^{2+}$ . Um inibidor de sódio-hidrogénio pode ser cariporida.

O co-agente pode ser insulina. A insulina pode ser usada para estimular a atividade PDH e evitar a inibição da actividade PDH após a reperfusão.

O co-agente pode ser adenosina. A adenosina pode ser usada para abrir canais de KATP mitocondrial.

#### 5. Tratamento de Combinação

O método pode ser utilizado em combinação com outros métodos para tratar a lesão. Os outros métodos podem ser os tratamentos do enfarte do miocárdio (ataque cardíaco), embolia pulmonar, acidente vascular cerebral (AVC), doença arterial periférica oclusiva (por exemplo, gangrena), síndrome do anticorpo anti-fosfolipídico, sepsis, artrite de células gigantes, hérnia, vólvulo, cancros do tumor

sólido, doença de descompressão, anemia falciforme, punção da veia subclávia, fraturas ósseas, doença de altitude elevada, o uso recreativo de óxido nítrico, apneia do sono, hipopneias, *shunts*, anemia, envenenamento por monóxido de carbono, meta-hemoglobinemia, tromboembolia, embolia gorda, embolia gasosa, embolia séptica, embolia do tecido, embolia por presença de corpo estranho, embolia do líquido amniótico, forças g induzidas e pressão externa para evitar o fluxo de sangue devido a cortes graves, castração, ou mutilação. O método também pode ser usado em combinação com métodos de tratamento das lesões por reperfusão como a administração de doses baixas de sulfato de hidrogénio (H<sub>2</sub>S), glisodeno, ou glialina de trigo, ou executando a hipotermia terapêutica ou pinçamento aórtico. A presente invenção tem múltiplos aspetos, ilustrados pelos seguintes exemplos não-limitantes.

**Exemplo: 1**

**Proteção da flagelina dependente da dose sobre a função renal [a flagelina pode ser um agonista do TLR5]**

Para determinadas doses, a flagelina não afeta a função renal. Este efeito foi demonstrado através da medição dos níveis de creatinina no soro de ratos após a administração sistémica de diferentes doses de flagelina. Os ratos C57BL/6 foram injetados quer com 0,01 µg, 0,5 µg, 1,0 µg, ou 5,0 µg de flagelina e os níveis de creatinina sérica (mg/dL) foram monitorizados diariamente, como apresentado na Figura 1. A administração de 5 µg de flagelina resultou em concentrações no soro aumentadas que foram evidentes em 24 horas após a administração. Depois de 24 horas adicionais (48 horas no total), os níveis de creatinina atingiram um pico e, em seguida, diminuíram novamente para

os níveis de base 72 horas após a administração e, em seguida, começaram a aumentar lentamente para níveis baixos novamente (Figura 1). Ao contrário, a administração de 1 µg de flagelina também induziu um aumento nos níveis de creatinina do soro, mas esta só foi detetada como um único pico após 48 horas e em seguida, caiu para os níveis de base 72 horas após a administração. A administração de 0,5 µg e 0,1 µg não induziu quaisquer aumentos mensuráveis nos níveis de creatinina sérica durante todo o período do estudo.

## **Exemplo 2**

### **Efeito da flagelina dependente da dose sobre a função renal**

Para determinadas doses, a flagelina é capaz de proteger o tecido renal de um mamífero dos efeitos de isquemia renal aguda. Este efeito foi demonstrado por administração da flagelina a ratos antes da imposição da isquemia renal e medição da taxa de sobrevivência seguindo-se a reperfusão dos rins isquémicos. Especificamente, 30 minutos antes de serem submetidos a 45 minutos de oclusão do pedículo renal bilateral, grupos de ratos C57BL/6 foram administrados com várias doses de flagelina (0,01 µg, 0,5 µg, 1,0 µg ou 5,0 g por [mu]corpo) em 400 µL de PBS ou PBS isoladamente (400 µL) através da administração intravenosa. A sobrevivência dos ratos, os níveis de creatinina no soro e os dados de histopatologia foram então recolhidos.

#### **a. Sobrevivência**

A oclusão do pedículo renal bilateral foi realizada em ratos como anteriormente detalhado (REFERÊNCIAS). Os ratos foram administrados com 20U (unidades/mL) de heparina

sódica por via da administração intraperitoneal 20 minutos antes da cirurgia. Os ratos foram anestesiados com fenobarbital e mantidos quentes sob uma lâmpada de 60W até à cirurgia. Em condições assépticas, a cavidade abdominal foi aberta com uma incisão na linha média e o pedículo renal bilateral foi ocluído não-traumaticamente com uma pinça microvascular (World Precision Instruments, Sarasota, FL) e a lesão foi temporariamente fechada com sutura de seda 4-0. Os ratos foram colocados sobre um bloco térmico sob uma lâmpada de 60 Watts e a ponta do sensor do Termómetro de Monitorização da Memória Certificada Rastreável(TM) (Fisher Scientific) foi colocada na cavidade abdominal para garantir a manutenção da temperatura a 32 °C, durante a imposição da isquemia renal. Os rins foram submetidos a isquemia durante 45 minutos. Após a remoção da pinça, a reperfusão renal imediata e completa foi confirmada visualmente e a cavidade peritoneal foi fechada. Os ratos operados com placebo foram tratados de forma idêntica exceto para o grampo bilateral do pedículo renal. No grupo de controlo, que recebeu PBS sem flagelina, 80% dos animais morreram no prazo de 5 dias após a reperfusão dos rins isquémicos (ver Figura 2a). Todos os animais que receberam 5 µg de flagelina antes da imposição da isquemia renal morreram no prazo de 5 dias após a reperfusão. Ao contrário, todos os animais que receberam quer 1 ou 0,5 µg de flagelina antes da isquemia renal sobreviveram mais de 45 dias após a reperfusão. O efeito protetor da flagelina na isquemia renal aguda foi também observado como sendo dependente da dose nos animais que receberam 0,1 ou 0,01 µg não foram protegidos contra a lesão.

#### **b. Medição da função renal**

Os níveis de creatinina no soro também foram medidos para determinar o efeito protetor da flagelina sobre a função



renal. Os ratos operados com placebo e os ratos submetidos a lesão renal bilateral IFR foram anestesiados com isofluorano e sangrados pelo plexo pós-orbital usando um tubo microcapilar revestido com heparina em intervalos de 24 horas. O soro foi armazenado a -80 °C, até à medição. Os níveis de creatinina no soro foram medidos utilizando o Kit de Creatinina (Sigma Diagnostics, Inc., St Louis, MO). O efeito protetor da flagelina foi refletido pelos baixos níveis de creatinina no soro determinados 24 horas após a reperfusão em animais que receberam 1,25 ou 0,5 µg flagelina 30 minutos antes da imposição da isquemia (ver Figura 2b). Os animais que receberam doses baixas não protetoras da flagelina (0,1 e 0,01 [µ] g) tinham níveis mais elevados dos níveis de creatinina que caíram um pouco abaixo daqueles observados no grupo de controlo, que recebeu PBS 30 minutos antes da oclusão do pedículo bilateral.

### **c. Estudos Histológicos do Tecido Renal**

Os níveis elevados de creatinina no soro, uma indicação da disfunção renal induzida pela imposição de lesão de isquemia-reperfusão, foram suportados pela histopatologia dos rins isquémicos, 24 horas após a reperfusão (ver Figura 3). Para a imuno-histoquímica, os rins recuperados foram reduzidos para metade, embebidos em composto OCT (Sakura Finetek U.S.A., Torrence, CA), e imediatamente congelados em azoto líquido. As secções coronais foram cortadas (7 mm), montadas em lâminas, secas durante 1 hora e, em seguida, fixadas em acetona durante 10 minutos. As lâminas foram imersas em PBS durante 10 min e em peróxido de hidrogénio 3%/metanol durante 5 minutos à temperatura ambiente para eliminar a atividade da peroxidase endógena. A atividade da biotina endógena foi bloqueada com o Sistema de Bloqueio da Biotina (DAKO, Carpentaria, CA). Após o

tratamento com soro de ratazana normal (1:100), anti-rato Gr-I mAb (RB6.8C5) diluído de 1:100 em PBS com albumina de soro bovino 1% (BSA) para detetar os neutrófilos, ou diluições de 1:50 de CD4 mAb de ratazana anti-rato (GK1.5) para detetar as células T CD4<sup>+</sup>, as CD8a mAb de ratazana anti-rato (53-6,7) para detetar as células T CD8<sup>+</sup> ou macrófago mAb de ratazana anti-rato (F4/80) (SEROTEC, Raleigh, NC) foi adicionado às secções. As lâminas do controlo foram incubadas com IgG de ratazana. Após 1 h, as lâminas foram lavadas 3X com PBS e incubadas durante 20 min com antisoro IgG de coelho biotinilado anti-ratazana (Sigma Aldrich) diluído de 1:100 em PBS/ BSA 1%. Depois de 3 lavagens em PBS, as lâminas foram incubadas com estreptavidina-peroxidase de rábano (DAKO) durante 20 min. A solução DAB (3,3'-diaminobenzidina) de substrato-cromagénio (Vector Laboratories, Inc., Burlingame, CA) foi aplicada às lâminas durante 0,5-3 min. Após a lavagem em dH<sub>2</sub>O, as lâminas foram contra-coradas com hematoxilina, lavadas com dH<sub>2</sub>O, cobertas com lamelas e observadas por microscopia ótica. As imagens foram capturadas usando Image Pro Plus (Media Cybernetics, Silver Spring, MD).

Para corar o TLR5, 1 mg de mAb anti-TLR5 (ABR- Affinity BioReagents, Inc., Golden, CO) foi aplicado às lâminas e incubado durante 1 h à temperatura ambiente e depois de lavar o anticorpo IgG anti-rato de cabra biotinilado diluído de 1:100 durante 30 min à temperatura ambiente. Depois de aplicar o DAB, as lâminas foram lavadas com água de torneira, mergulhadas durante 3 seg. em hematoxilina e, em seguida, lavadas. As lâminas foram desidratadas com concentrações crescentes de etanol a 50% e, em seguida, imersas em citrasolve duas vezes, durante 10 min. cada. As lâminas foram lavadas com água de torneira, cobertas com lamelas e observadas por microscopia ótica. O uso dos níveis séricos de creatinina como um indicador da disfunção renal induzida por imposição de lesões de

isquemia-reperfusão foi suportado pela histopatologia dos rins isquêmicos 24 horas após a reperfusão (ver Figura 3). Os animais do grupo de controle que receberam PBS 30 min antes da imposição da isquemia renal tiveram necrose tubular grave com formação de cápsula evidente 24 horas após a reperfusão. Consistente com a indução da disfunção renal pela administração de 5 µg de flagelina, houve evidência de patologia renal 30 min após a administração de 5 µg de flagelina sem impor isquemia e esse aumento na gravidade na sequência da imposição da isquemia renal e reperfusão com evidente hemorragia, trombose e formação de cápsula. Ao contrário, os animais que receberam 0,5 µg de flagelina 30 min antes da imposição da isquemia apresentaram níveis reduzidos da infiltração leucocitária 24 horas após a reperfusão mas a arquitetura renal parecia relativamente normal. A dose baixa não-protetora, 0,1 µg de flagelina, não evitou a patologia renal induzida pela lesão de isquemia/reperfusão. Quando os rins dos animais sobreviventes foram examinados no dia 7 pós-reperfusão, uma diminuição marcada da necrose tubular e da infiltração leucocitária, bem como a ausência de trombose e formação de cápsula foram observadas em animais que receberam 0,5 µg de flagelina antes da imposição da isquemia renal, (ver Figura 4).

#### **d. Infiltração dos neutrófilos no Tecido Renal Danificado**

Como a infiltração dos neutrófilos e sua ativação é um grande contributo para a lesão tecidular após isquemia renal - reperfusão, rins isquêmicos foram recuperados 9 e 24 horas após a reperfusão, provenientes de animais tratados com PBS sozinho ou com 0,5 µg flagelina antes da imposição da isquemia e os níveis de infiltração neutrofílica foram avaliados por coloração imuno-

histoquímica das secções de tecido preparadas para determinar diretamente o número de neutrófilos, macrófagos, células T CD4+ e células T CD8+ nos rins isquémicos durante a reperfusão, pedaços correspondentes a um quarto dos rins retirados foram cortados e pesados. Os rins foram incubados em meio de cultura RPMI 1640 com soro fetal bovino 2% durante 1 hr e, em seguida, foram enviados através de um filtro de células com 70 mm usando um êmbolo de seringa. As células foram recolhidas e os eritrócitos lisados usando o Tampão de Lise ACK (GIBCO, Grand Island, NY). Depois de 2 lavagens, as células viáveis foram contadas usando exclusão pelo azul de Tripano. As alíquotas de células foram pré-incubadas com anticorpo anti-CD16/CD32 do recetor Fc (BD Pharmingen, San Diego, CA) durante 5 min. para bloquear a ligação de anticorpo inespecíficos e, em seguida, as amostras foram incubadas com mAb anti-CD45 FITC-conjugado bem como o anticorpo PE- conjugado para detetar macrófagos (F4/80) ou células T CD8+ (53-6,7) e anticorpo APC-conjugado para detetar os neutrófilos (RB6.8C5) ou células T CD4+ (GK1.5) (todos os anticorpos da BD Pharmingen) durante 30 min a 4 °C. As células foram analisadas usando citometria de fluxo em duas cores num FACSCalibur (BD Biosciences, San Jose, CA). A dispersão em frente e os canais FL1 (CD45+) foram utilizados para reter os leucócitos no tecido renal, seguindo-se a análise das populações específicas de leucócitos. Para cada amostra, foram acumulados 200.000 eventos. Os dados foram analisados utilizando software e programa CellQuest (BD Biosciences). Os números totais de cada população de leucócitos foram calculados por: (o número total de leucócitos contados) x (% da população de leucócitos contabilizada em células CD45+)/100. Os dados são reportados como o número de cada população de leucócitos/g de tecido renal de controlo e animais VR.

Foram observados decréscimos marcados na infiltração dos neutrófilos, 9 e 24 horas após a reperfusão quando os animais receberam 0,5 µg de flagelina (ver figura 5a). A quantificação direta da infiltração leucocitária nos rins isquémicos indicou que 0,5 µg de flagelina reduziu a infiltração de neutrófilos quase para os níveis observados nos animais do grupo de controlo operados com o placebo (ver figura 5b). Foram observados decréscimos no número de células T CD4 e CD8 e nos macrófagos em rins isquémicos, 24 horas após a reperfusão e administração de 0,5 µg de flagelina, 30 minutos antes da isquemia reduzir o número de ambas as células T CD4 e CD8 ainda mais.

### **Exemplo 3**

#### **O Estado da Flagelina Diminui a Expressão da Citocina Pró-inflamatória Durante a Reperfusão dos Rins Isquémicos**

Este exemplo demonstra o papel crítico da flagelina impedindo que as quimiocinas CXCL1/KC e CXCL2/KC orientem a infiltração de leucócitos nos tecidos renais isquémicos. Estudos anteriores indicaram que os níveis mais elevados de neutrófilos quimioatrativos CXCL1/KC e CXCL2/KC em rins isquémicos, ocorrem 9 horas após a reperfusão [REFERÊNCIA] Para começar a investigar os mecanismos subjacentes à diminuição da infiltração de leucócitos em rins isquémicos quando os animais foram condicionados com flagelina 0,5 µg, os rins foram removidos 9 e 24 horas após a reperfusão e os níveis de mRNA e proteína dos neutrófilos e macrófagos quimioatrativos foram determinados (Figura 6). Foram cortados e recolhidos pedaços de um quarto dos rins e congelados em azoto líquido. O ARN total foi extraído utilizando RNeasy™ Mini Kit (Qiagen, Valencia, CA) e a transcrição reversa foi realizada usando o cDNA Archive Kit

de Alta Capacidade (Applied Biosystems, Foster City, CA). A PCR em tempo real foi realizada num Sistema de Detecção de Sequências Prism 7700 (Applied Biosystems, Foster City, CA) com KC/CXCL1 teste, iniciadores MIP- 2/CXCL2 e MCP-1/CCL2 e Mrpl32 usado como controlo (Applied Biosystems, Foster City, CA).

As amostras dos rins armazenadas em azoto líquido foram dissolvidas em 500 mL de tampão PBS com EDTA 0,01 M e um cocktail inibidor de proteínase (fluoreto de fenilmetilsulfonilo 10 mg/mL, aprotinina 2 mg/mL, leupeptina 2 mg/mL, Pefabloc SC 100 mg/mL e quimostatina 100 mg/mL) e, em seguida, 1 mL de Triton X-100 1,5% em PBS foi adicionado. Após a incubação com agitação durante 1 h a 4 °C, as amostras foram centrifugadas, o sobrenadante foi recolhido e a concentração total de proteína foi determinada utilizando o Kit de Ensaio de Proteínas BCATM (Pierce, Rockford, IL). As concentrações KC/CXCL1, MIP-2/CXCL2 e MCP-1/CCL2 foram medidas por ELISA *sandwich* usando os Kits Quantikine M (R&D Systems, Minneapolis, MN). Para determinar a ativação dos neutrófilos durante a reperfusão dos rins isquémicos, a concentração da mieloperoxidase (MPO) foi medida utilizando o kit de teste ELISA *Mouse MPO* (Cell Sciences, Canton, MA). Os resultados são apresentados em termos da concentração de proteína de teste por mg de proteína total no tecido  $\pm$  DP.

O pré-condicionamento com doses protetoras de flagelina (1,25 ou 0,5  $\mu$ g) resultou em reduções significativas na expressão do mARN e em níveis de proteína dos quimioatrativos de neutrófilos CXCL1 e CXCL2 em 9 horas após a reperfusão. A expressão do mARN do CCL2 ou de níveis de proteína foram baixos em ambos 9 e 24 horas após a reperfusão e não foram adicionalmente influenciados pelo pré-condicionamento com flagelina. Além disso, os níveis de mARN de proteínas de fase aguda IL-1b e IL-6 mas não os de TNFa foram também reduzidos em rins isquémicos 9 horas após

a reperfusão, em animais pré-condicionados com flagelina (Figura 6b).

#### **Exemplo 4**

##### **Efeito Protetor da Flagelina Quando Administrado Durante a Reperfusão de Rins Isquêmicos**

Este exemplo demonstra que a flagelina fornece um efeito protetor aos rins tratados por isquemia aguda quando administrada após o início da reperfusão. Como descrito acima, a oclusão do pedículo renal bilateral foi realizada em ratos e os níveis séricos de creatinina foram medidos para determinar o efeito protetor da flagelina sobre a função renal após o início da reperfusão.

Especificamente, os grupos de ratos C57BL/6 que foram submetidos a 45 minutos de oclusão pedicular renal bilateral e foram administrados com 0,5 µg de flagelina em vários instantes após a remoção das pinças renais (Ver Figura 7). A administração da flagelina 30 minutos antes ou 30 minutos após o desclameamento resgatou a viabilidade de todos os ratos submetidos a lesões isquêmicas. A administração da flagelina passada 1 hora, bem como em momentos posteriores, após o início da reperfusão não conseguiu evitar as lesões em nenhum dos ratos. O efeito protetor da administração da flagelina 30 minutos antes do desclameamento ou 30 minutos após o desclameamento foi refletido pelos níveis baixos de creatinina sérica monitorizados 24 horas após a reperfusão dos rins isquêmicos (Figura 7b).

#### **Exemplo 5**

### **Efeito Protetor da Flagelina requer Sinalização do TLR5 nas Células do Parênquima Renal**

Este exemplo demonstra a fonte alvo do efeito protetor do tratamento com flagelina durante a reperfusão do tecido. Como discutido nos Exemplos 1-4, os estudos de reperfusão foram realizados em rins isquêmicos.

As quimeras reconstituídas a partir da medula óssea induzidas por radiação foram geradas entre ratos C57BL/6 do tipo selvagem e B6.MyD88<sup>-/-</sup>. As quimeras reconstituídas a partir da medula óssea induzidas por radiação foram geradas por operações de corte das pontas dos fêmures e tíbias de ratos C57BL/6 do tipo selvagem e B6. MyD88<sup>-/-</sup> e lavagem com meio RPMI 1640 para recolher as células da medula óssea. Os ratos recetores da medula óssea receberam primeiro uma radiação de 1100 Rad g-irradiação e, em seguida, 3 horas mais tarde receberam 20 X 10<sup>6</sup> células de medula óssea por via intravenosa. Os recetores CD90.1 irradiados receberam a medula óssea a partir de doadores CD90.1 congénitos ou vice-versa. Os recetores reconstituídos receberam antibióticos (sulfametoxazol 0,2 mg/mL e trimetoprim 0,4 mg/mL) na água para beber desde o dia 1 ao dia 7 como profilaxia. Os recetores foram autorizados a recuperar durante 8 a 12 semanas e o quimerismo completo foi confirmado pela coloração de células sanguíneas periféricas com conjugado FITC 90,2 e com conjugado PE 90,1.

A Figura 8 demonstra que a administração de 0,5 µg de flagelina dentro dos 30 minutos da reperfusão dos rins isquêmicos dos ratos tipo selvagem C57BL/6 reconstituídos com medula óssea do tipo selvagem diminuiu os níveis de mRNA de CXCL1 e CXCL2. Nos recetores MyD88<sup>-/-</sup> reconstituídos quer com MyD88<sup>-/-</sup> ou com medula óssea do tipo selvagem, pouco mRNA de CXCL1 e CXCL2 foi induzido durante a



reperfusão dos rins isquêmicos e a administração de flagelina durante a reperfusão destes rins não diminuiu os níveis de mRNA destas quimiocinas. Ao contrário, os recetores do tipo selvagem de medula óssea de dadores *MyD88<sup>-/-</sup>* expressaram níveis elevados de mRNA de CXCL1 e CXCL2 e estes níveis foram reduzidos pela administração de flagelina durante a reperfusão dos rins isquêmicos. Isso demonstra que o alvo da flagelina foi uma célula renal parenquimatosa em vez de um leucócito.

Para investigar esta situação em maior detalhe, as secções renais dos ratos do tipo selvagem C57BL/6 e BALB/c foram marcadas com anticorpo anti-TLR5 (Figura 9a). As células coradas positivamente foram principalmente as células da vasculatura e a coloração não foi aparente em células tubulares ou glomérulos renais. As secções renais de ratos *Moth Eaten* que têm um defeito genético na expressão do TLR 5 não coraram com o anticorpo anti-TLR5. Os níveis de expressão do mRNA do TLR5 foram baixos nos rins antes da imposição da isquemia/reperfusão renal mas aumentaram rapidamente durante a reperfusão dos rins isquêmicos (Figura 9b).

## **Exemplo 6**

### **Efeito Protetor da Flagelina no Modelo de Isquemia dos Membros Posteriores**

Os potenciais efeitos protetores de CBLB502 num modelo de isquemia do membro traseiro do rato foram investigados numa simulação de lesões isquêmicas induzidas por um torniquete. Estes estudos são provenientes de estudos indicando que a CBLB502 administrada a ratos submetidos a oclusão pedicular renal bilateral atenuou a lesão isquêmica e disfunção renal, incluindo a diminuição da produção de neutrófilos

quimioatrativos na resposta à reperfusão, diminuiu a infiltração de neutrófilos no rim isquêmico e atenuou os aumentos nos níveis de creatinina no soro e perda de viabilidade. O protetor pode ser dado quer antes da imposição da oclusão pedicular renal, ou ainda mais importante para o uso clínico, até 30 min. após a reperfusão do rim isquêmico.

As lesões induzidas pelo torniquete foram modeladas apertando uma banda larga de borracha no membro posterior esquerdo dos ratos durante 2-4 horas. Após o período isquêmico, a banda de borracha foi alargada e removida. Os animais recuperaram da anestesia, mas apresentaram uma incapacidade de utilização do membro isquêmico, o qual arrastaram por períodos até 9 dias. A lesão isquêmica também incluiu edema do membro que foi claramente visível e que foi quantificado por medições de peso húmido-seco e comparação com o membro posterior contralateral, não-isquêmico e a indução de níveis elevados de citocinas pró-inflamatórias incluindo neutrófilos quimioatrativos e uma infiltração neutrofílica intensa no membro isquêmico. Além disso, a injeção do corante azul de Evan indicou quantidades consideráveis de vazamento vascular no membro isquêmico (dados não apresentados).

Estudando os efeitos protetores de CBLB502, os ratos foram novamente submetidos a uma lesão induzida por torniquete, apertando uma banda larga de borracha no membro posterior esquerdo durante 3 horas. Após o período isquêmico, a banda de borracha foi alargada e removida. Quinze minutos após a remoção da banda de borracha e do início da reperfusão, 0,5 µg da CBLB502 ou veículo (PBS) foram administrados por via intramuscular no membro esquerdo isquêmico. Os ratos administrados com CBLB502 têm uma recuperação mais rápida do uso do membro e, ao dia 14 após a reperfusão, tinham uma força de prensão mensurável para o membro isquêmico de 10GF. Ao contrário, os ratos administrados apenas com PBS

15 minutos após a reperfusão não atingiram essa força até ao dia 21. Os membros administrados com CBLB502 também não tiveram quase nenhuma evidência de edema 25 horas após a reperfusão como evidência de uma proporção de peso húmido/seco de 2,5 vs. 3,4 para o membro isquémico em ratos administrados apenas com veículo na reperfusão (ver figura 14C). No que diz respeito ao vazamento vascular, os ratos administrados com CBLB501 tiveram peso reticular do tecido no membro de 7,4 µg em corante Azul de Evan, vs. 13,1 µg para os ratos administrados com veículo,  $P < 0,001$ ) (ver figura 14D). Por último, os membros tratados com CBLB502 na reperfusão, tiveram diminuições significativas nos neutrófilos nos tecidos e nos macrófagos quimioatrativos sCXCL2, CCL2 e mieloperoxidase ( $P < 0,05$  para cada ensaio) [TEMOS VALORES QUANTIFICADOS?]. A marcação com hematoxilina/eosina foi realizada no músculo do membro traseiro no dia 14 após a reperfusão, após 3 horas da isquemia em ratos tratados com CBLB502 (Figura 14A) ou veículo (Figura 14B).

A injeção de CBLB502 dentro de 30 min de reperfusão também resultou na diminuição da produção de neutrófilos quimioatrativos e da infiltração de neutrófilos no membro isquémico, decréscimos visíveis no edema e recuperação acelerada (dia 4-6) da utilização de membros isquémicos. O exame histológico indicou também uma maior espessura do feixe de fibras musculares em membros isquémicos dos animais tratados com o protetor (dados não apresentados). Estes resultados serão objeto de investigação mais aprofundada através da medição quantitativa de inflamação e disfunção dos membros em animais submetidos à isquemia dos membros posteriores com vs. sem administração do protetor CBLB502. Esta irá incluir a quantificação de outras citocinas pró-inflamatórias, quantificação direta da infiltração neutrofílica, quantificação da espessura do

feixe de fibras musculares e apoptose das fibras musculares e a magnitude e a duração do edema.

<110> Cleveland Biolabs, Inc.

<120> POLIPÉPTIDOS RELACIONADOS COM A FLAGELINA E SEUS USOS

<130> 050991.0203.01PC00

<150> US 61/085,766

<151> 2001-08-01

<160> 56

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

<211> 505

<212> PRT

<213> Salmonella dublin

<400> 1

```

Met Ala Gln Val Ile Asn Thr Asn Ser Leu Ser Leu Leu Thr Gln Asn
1      5      10      15
Asn Leu Asn Lys Ser Gln Ser Ser Leu Ser Ser Ala Ile Glu Arg Leu
20      25      30
Ser Ser Gly Leu Arg Ile Asn Ser Ala Lys Asp Asp Ala Ala Gly Gln
35      40      45
Ala Ile Ala Asn Arg Phe Thr Ser Asn Ile Lys Gly Leu Thr Gln Ala
50      55      60
Ser Arg Asn Ala Asn Asp Gly Ile Ser Ile Ala Gln Thr Thr Glu Gly
65      70      75      80
Ala Leu Asn Glu Ile Asn Asn Asn Leu Gln Arg Val Arg Glu Leu Ser
85      90      95
Val Gln Ala Thr Asn Gly Thr Asn Ser Asp Ser Asp Leu Lys Ser Ile
100     105     110
Gln Asp Glu Ile Gln Gln Arg Leu Glu Glu Ile Asp Arg Val Ser Asn
115     120     125
Gln Thr Gln Phe Asn Gly Val Lys Val Leu Ser Gln Asp Asn Gln Met
130     135     140
Lys Ile Gln Val Gly Ala Asn Asp Gly Glu Thr Ile Thr Ile Asp Leu
145     150     155     160
Gln Lys Ile Asp Val Lys Ser Leu Gly Leu Asp Gly Phe Asn Val Asn
165     170     175
Gly Pro Lys Glu Ala Thr Val Gly Asp Leu Lys Ser Ser Phe Lys Asn
180     185     190
Val Thr Gly Tyr Asp Thr Tyr Ala Ala Gly Ala Asp Lys Tyr Arg Val
195     200     205
Asp Ile Asn Ser Gly Ala Val Val Thr Asp Ala Ala Ala Pro Asp Lys
210     215     220
Val Tyr Val Asn Ala Ala Asn Gly Gln Leu Thr Thr Asp Asp Ala Glu
225     230     235     240
Asn Asn Thr Ala Val Asp Leu Phe Lys Thr Thr Lys Ser Thr Ala Gly
245     250     255
Thr Ala Glu Ala Lys Ala Ile Ala Gly Ala Ile Lys Gly Gly Lys Glu
260     265     270
Gly Asp Thr Phe Asp Tyr Lys Gly Val Thr Phe Thr Ile Asp Thr Lys
275     280     285
Thr Gly Asp Asp Gly Asn Gly Lys Val Ser Thr Thr Thr Ile Asn Gly Glu
290     295     300
Lys Val Thr Leu Thr Val Ala Asp Ile Ala Thr Gly Ala Ala Asp Val
305     310     315     320
Asn Ala Ala Thr Leu Gln Ser Ser Lys Asn Val Tyr Thr Ser Val Val
325     330     335
Asn Gly Gln Phe Thr Phe Asp Asp Lys Thr Lys Asn Glu Ser Ala Lys
340     345     350
Leu Ser Asp Leu Glu Ala Asn Asn Ala Val Lys Gly Glu Ser Lys Ile
355     360     365
Thr Val Asn Gly Ala Glu Tyr Thr Ala Asn Ala Thr Gly Asp Lys Ile
370     375     380

```

```

Thr Leu Ala Gly Lys Thr Met Phe Ile Asp Lys Thr Ala Ser Gly Val
185                390                395                400
Ser Thr Leu Ile Asn Glu Asp Ala Ala Ala Ala Lys Lys Ser Thr Ala
                405                410                415
Asn Pro Leu Ala Ser Ile Asp Ser Ala Leu Ser Lys Val Asp Ala Val
                420                425                430
Arg Ser Ser Leu Gly Ala Ile Gln Asn Arg Phe Asp Ser Ala Ile Thr
                435                440                445
Asn Leu Gly Asn Thr Val Thr Asn Leu Asn Ser Ala Arg Ser Arg Ile
                450                455                460
Glu Asp Ala Asp Tyr Ala Thr Glu Val Ser Asn Met Ser Lys Ala Gln
465                470                475                480
Ile Leu Gln Gln Ala Gly Thr Ser Val Leu Ala Gln Ala Asn Gln Val
                485                490                495
Pro Gln Asn Val Leu Ser Leu Leu Arg
                500                505

```

&lt;210&gt; 2

&lt;211&gt; 1518

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Salmonella dublin

&lt;400&gt; 2

```

atggcacaag tcattaatac aaacagcctg tcggtgttga cccagaataa cctgaacaaa      60
tctcagtcct cactgaatcc cgttattgag cgttctgtcc ctggtctgag tatcaacagc      120
gcgaaagacc atgcggcagg ccaggcgatt gctaacccct tcacttctsa tatcaaaaggc      180
ctgactcagg ctctccgtaa ccctaaccag ggcatttcta ttgcgcagac cactgaaggc      240
gcgctgaatg aatcaacaa caacctgcag cgtgtgcgtg agttgtctgt tcaggccact      300
aacgggacta actctgatcc cgtctgaaa tetatccagg atgaaattca gcaacgtctg      360
gaagaatcgc atcgggttcc taatccagact caatttaacg gtgttaaaqt cctctctcag      420
gacaaccaga tgaaaatcca ggttgggtct aacgattggt aaaccattcc catgatctg      480
caaaaaattg atgtgaaaag ccttggcctt gatgggttca atgttaatgg gccaaaagaa      540
ggcacagctg gtgatctgaa atccagcttc aagaatgta cgggttacga cacctatgca      600
gcgggtgcgc ataaatctcg tgcagatatt aatcccggtg ctgtagtgac tgatgcagca      660
gcaccggata aagtatatgt aatgcagca aacggtcagt taacaactga cgtatcgga      720
aataaacactg cggttgatct ctttaagacc actaaatcta ctgctggctc cgtgaaagcc      780
aaagcgatag ctggtgccat taaaggtggt aaggaaggag atacccttga ttataaaggc      840
gtgactttta ctattgatcc aaaaactggt gatgaacgta atggtaaagt ttctactacc      900
atcaatggtg aaaaagtacc gtttaactgt cctgalattg ccactggcgc ggggatggt      960
aatgctgcta ccttacaatc aagcaaaaat gtttatacat ctgtagtga cggtcagttt     1020
acttttgatg akaaaaccaa aaacgagagt gcgaaacttt ctgatttggg agcaaaccaat     1080
gctgttaagg gcgaaagtca aattacagta aatggggctg aatatactgc taacgccacc     1140
ggtgatanga tcaccttagc tggcaaaacc atgtttattg aaaaaacagc ttctggcgtc     1200
agkacattaa kcaatgaaga ccttgcgcga gccaaagaaa gtaccgctsa cccactggct     1260
tcaattgatt ctgcattgtc aaaagtggac gcagtttgtt ctctctctgg ggcatttcaa     1320
aaccgttttg attcagccat taccaaacct gccaaatccg taaccaatct gaactccgcg     1380
cgtagccgta togaagatgc tgactatgca scggaggttt ctatattgtc taagaccagc     1440
attctgcagc aggtcgtac ttccgttctg gcgcaggcta accaggttcc gcaaaaagtc     1500
ctctctttac tgcgttaa

```

&lt;210&gt; 3

&lt;211&gt; 16

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; ligante peptídico

&lt;400&gt; 3

Ser Pro Gly Ile Ser Gly Gly Gly Gly Gly Ile Leu Asp Ser Met Gly  
 1 5 10 15

<210> 4  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

<220>

<223> ligante peptídico

<400> 3

Ile Pro Gly Ile Ser Gly Gly Gly Gly Gly Ile Leu Asp Ser Met Gly  
 1 5 10 15

<210> 5  
 <211> 48  
 <212> DNA  
 <213> Artificial

<220>

<223> ligante peptídico

<400> 5 ttcccgaggaa ttcccggtgg tgggtggtgga attclagact ccalgg 48

<210> 6  
 <211> 48  
 <212> DNA  
 <213> Artificial

<220>

<223> ligante peptídico

<400> 6 atcccgaggaa ttcccggtgg tgggtggtgga attclagact ccalgg 48

<210> 7  
 <211> 600  
 <212> DNA  
 <213> Salmonella dublin

<400> 7

```
atgggggggtt ctcctcatca tcctcatcat ggtatggcta gcatgactgg tggacagcaa 60
atgggtcggg atctgtacga cgatgaogat aeggatccga tggcacaagt catteataca 120
aacagccctgt cgctgttgac ccagaataac ctgaacaaat ctcagtctct actgagttcc 180
gctatlgagc gtctgtctctc tggctctgct atcaaacagc cgaagaagca tggcgcaggc 240
caggcgattg ctaaacgctt cacttotaat atcaaacgac tgaactcagc ttcccgtaac 300
gctaacgacg gcattcttat tgcgcagacc actgaaggta cgtgaaatga atcaaacaac 360
aacctgcagc gtgtgcgtga gttgtctggt caggccacta acgggactaa ctctgattcc 420
gatctgaaat ctctccagga tgaattcag caacgtctgq aagaatoga tgcggtttct 480
aatcagactc aatttaacgq tgttaaagtc ctctctcagg acaaccagat gaaaatccag 540
gttgggtgcta acgatggtga aaccattacc atcgatctgc aaaaaattga tctgaaaagc 600
```

<210> 8  
 <211> 329  
 <212> PRT  
 <213> Salmonella dublin

&lt;400&gt; 8

```

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

Gly Ala Leu Asn Glu Ile Asn Asn Asn Leu Gln Arg Val Arg Glu Leu
115     120     125
Ser Val Gln Ala Thr Asn Gly Thr Asn Ser Asp Ser Asp Leu Lys Ser
130     135     140
Ile Gln Asp Glu Ile Gln Gln Arg Leu Glu Glu Ile Asp Arg Val Ser
145     150     155     160
Asn Gln Thr Gln Phe Asn Gly Val Lys Val Leu Ser Gln Asp Asn Glu
165     170     175
Met Lys Ile Gln Val Gly Ala Asn Asp Gly Glu Thr Ile Thr Ile Asp
180     185     190
Leu Gln Lys Ile Asp Val Lys Ser Leu Gly Leu Asp Gly Phe Asn Val
195     200     205
Asn Ser Pro Gly Ile Ser Gly Gly Gly Gly Ile Leu Asp Ser Met
210     215     220
Gly Thr Leu Ile Asn Glu Asp Ala Ala Ala Ala Lys Lys Ser Thr Ala
225     230     235     240
Asn Pro Leu Ala Ser Ile Asp Ser Ala Leu Ser Lys Val Asp Ala Val
245     250     255
Arg Ser Ser Leu Gly Ala Ile Gln Asn Arg Phe Asp Ser Ala Ile Thr
260     265     270
Asn Leu Gly Asn Thr Val Thr Asn Leu Asn Ser Ala Arg Ser Arg Ile
275     280     285
Glu Asp Ala Asp Tyr Ala Thr Glu Val Ser Asn Met Ser Lys Ala Gln
290     295     300
Ile Leu Gln Gln Ala Gly Thr Ser Val Leu Ala Gln Ala Asn Gln Val
305     310     315     320
Pro Gln Asn Val Leu Ser Leu Leu Arg
325

```

&lt;210&gt; 9

&lt;211&gt; 825

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Salmonella dublin

&lt;400&gt; 9



```

atgggggggt ctcakcatca icatcacat ggtatggcta gcctgactgg tggacagcaa      50
atgggtcggg atctgtacga cgatgacgat aaggatccga tggcacaagt cattaataca      120
aacagccctgt cctgtgtgac ccagaataac ctgaacaaat ctcaqtcttc actgagttcc      180
gctattgagc gctgtctctc tggctctcgt atcaacagcg cgaagacga tggcgcaggc      240
cagcgcattg ctaaccgctt cctctctaat atcaaaagcc tgactcagcc tccccgtaac      300
gctaacgacg gcatttctat tgcgcagacc actgaagggt cgcctaatga aatcaacaac      360
aacctgcagc gtgtgcgtga gttgtctgtt caggccacta acgggactaa ctctgattcc      420
gatctgaaat ctatccagga tgaaatcag caacgtctgg aagaatcga tccgctttct      480
aatcagctc aatttaacgg tgttaaaqtc ctctctcagg acaaccagat gasastocag      540
gttggtgcta acgatggtga aaccattacc atcgatctgc aaaaaattga tgtgaaaagc      600
cttggccttg atgggttcaa tgttaaticc ccgggaattt ccgggtggtg tgggtggaat      660
ctagactcca tgggtacatt aatcaatgaa gacgctgccc cagccaagaa aagtaaccgt      720
aacccaactg cttcaattga ctctgattg tcaaaagttg aagcagttcg ttctctctg      780
ggggcaatc aaaaaccgtt tgaattcagc attaccaacc tttag      825

```

&lt;210&gt; 10

&lt;211&gt; 274

&lt;212&gt; PRT

<213> *Salmonella dublin*

&lt;400&gt; 10

```

Met Arg Gly Ser His His His His His His Gly Met Ala Ser Met Thr
1
Gly Gly Gln Gln Met Gly Arg Asp Leu Tyr Asp Asp Asp Asp Lys Asp
20
Pro Met Ala Gln Val Ile Asn Thr Asn Ser Leu Ser Leu Leu Thr Gln
35
Asn Asn Leu Asn Lys Ser Gln Ser Ser Leu Ser Ser Ala Ile Glu Arg
50
Leu Ser Ser Gly Leu Arg Ile Asn Ser Ala Lys Asp Asp Ala Ala Gly
65
Gln Ala Ile Ala Asn Arg Phe Thr Ser Asn Ile Lys Gly Leu Thr Gln
80
Ala Ser Arg Asn Ala Asn Asp Gly Ile Ser Ile Ala Gln Thr Thr Glu
100
Gly Ala Leu Asn Gln Ile Asn Asn Asn Leu Gln Arg Val Arg Glu Leu
115
Ser Val Gln Ala Thr Asn Gly Thr Asn Ser Asp Ser Asp Leu Lys Ser
130
Ile Gln Asp Glu Ile Gln Gln Arg Leu Glu Glu Ile Asp Arg Val Ser
145
Asn Gln Thr Gln Phe Asn Gly Val Lys Val Leu Ser Gln Asp Asn Gln
165
Met Lys Ile Gln Val Gly Ala Asn Asp Gly Glu Thr Ile Thr Ile Asp
180
Leu Gln Lys Ile Asp Val Lys Ser Leu Gly Leu Asp Gly Phe Asn Val
195
Asn Ser Pro Gly Ile Ser Gly Gly Gly Gly Gly Ile Leu Asp Ser Met
210
Gly Thr Leu Ile Asn Glu Asp Ala Ala Ala Ala Lys Lys Ser Thr Ala
225
Asn Pro Leu Ala Ser Ile Asp Ser Ala Leu Ser Lys Val Asp Ala Val
245
Arg Ser Ser Leu Gly Ala Ile Gln Asn Arg Phe Asp Ser Ala Ile Thr
260
Asn Leu
270

```

&lt;210&gt; 11

&lt;211&gt; 831

<212> DNA

<213> *Salmonella dublin*

<400> 11

```

atgagggggtt ctcacatca tcacatcat ggtatggcta gcatgactgg tggacagcaa    60
atgggtcggg atctgtacga ccatgacgat aaggatccgt tcccttctaa tatcaaaaggc    120
ctgactcagg ctccccgtaa cgtcaacgac ggcatttcta ttgccagac cactgaagggt    180
gcgctgaatg aaatcaaca caacctgacg cgtgtgcgtg agttgtcgt tcaggccaact    240
aacgggacta actctgattc cgtatcgaaa tctatccagg atgaaattca gcaacgtctg    300
gaagaaatcg atcgggttfc taatcagact caatttaacg gtggtaaagt cctctctcag    360
gacaaccaga tgaaaatoca ggttgggtgt sacgatggtg aaaccattac catcgatctg    420
caaaaaaktg atgtgaaaag ccttggcctt gatgggttca atgttaarte cccgggaatt    480
tcgggtggtg gtggtggaat tctagactcc atgggtacat taatcaatga agacgtgcc    540
gcagccaaga aaagtaccgc taaccactg gattcaattg attctgactt gtcasaagtg    600
gacgcagttc gttctctctt gggggcaatt caaacogtt ttgattcagc cattaccaac    660
cttggcaata cggtaacaa tctgaactcc gcgcgtagcc gtatcgaaga tgcctgactat    720
gcaacgggaag tttctaata gctcaagcg cagattctgc agcaggctgg tacttccggtt    780
ctgggcagq ctaaccaggt tccgcaaac gtctctcttt tactgcgtta g    840

```

<210> 12

<211> 278

<212> PRT

<213> *Salmonella dublin*

<400> 12

```

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

```

```

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

```

<210> 13  
 <211> 668  
 <212> DNA  
 <213> *Salmonella dublin*

<400> 13

```

atgcgggggtt ctcctcctca tcctcctcat ggtctggcta gcctgactgg tggacagcaa    60
atgggtcggg atctgtacga cgatgacgat aaggatccgt tcacttctaa tatcaaaggc    120
ctgactcagg ctccccgtaa cgctaacgac ggcatttcta ttgcgcagac cactgaaggt    180
gcgctgaatg aaatcaacaa caacctgcag cgtgtgcgtg agttgtctgt tcaggccaact    240
aacgggacta actctgattc cgtctcgaaa tctctccagg atgaattca gcaacgtctg    300
gaagaaatcg atcgcgttfc taatcagact caatttaacg gtgttaaagt cctctctcag    360
gacaaccaga tgaaaatcca ggttggtgct aacgatggtg aaaccattac catogatctg    420
caaaaaattg atgtgaaaag ccttggcctt gatgggttca atgtaattc cccgggaatt    480
tcogtgggtg gtggtggaat tctagactcc atgggtacat taatcaatga agacgtgccc    540
gcagccaaga aaagtaccgc taaccoactg gcttcaattg attctgcaat gtcaaaagtg    600
gacgcagttc gttctctctt gggggcaatt caaaaccggt ttgattcagc cattaccaac    660
cttttag

```

<210> 14  
 <211> 221  
 <212> PRT  
 <213> *Salmonella dublin*

<400> 14

```

Met Arg Gly Ser His His His His His His Gly Met Ala Ser Met Thr
1      5      10      15
Gly Gly Gln Gln Met Gly Arg Asp Leu Tyr Asp Asp Asp Asp Lys Asp
20      25      30
Pro Phe Thr Ser Asn Ile Lys Gly Leu Thr Gln Ala Ser Arg Asn Ala
35      40      45
Asn Asp Gly Ile Ser Ile Ala Gln Thr Thr Glu Gly Ala Leu Asn Glu
50      55      60

Ile Asn Asn Asn Leu Gln Arg Val Arg Glu Leu Ser Val Gln Ala Thr
65      70      75      80
Asn Gly Thr Asn Ser Asp Ser Asp Leu Lys Ser Ile Gln Asp Glu Ile
85      90      95
Gln Gln Arg Leu Glu Glu Ile Asp Arg Val Ser Asn Gln Thr Gln Phe
100     105     110
Asn Gly Val Lys Val Leu Ser Gln Asp Asn Gln Met Lys Ile Gln Val
115     120     125
Gly Ala Asn Asp Gly Glu Thr Ile Thr Ile Asp Leu Gln Lys Ile Asp
130     135     140
Val Lys Ser Leu Gly Leu Asp Gly Phe Asn Val Asn Ser Pro Gly Ile
145     150     155     160
Ser Gly Gly Gly Gly Ile Leu Asp Ser Met Gly Thr Leu Ile Asn
165     170     175
Glu Asp Ala Ala Ala Lys Lys Ser Thr Ala Asn Pro Leu Ala Ser
180     185     190
Ile Asp Ser Ala Leu Ser Lys Val Asp Ala Val Arg Ser Ser Leu Gly
195     200     205
Ala Ile Gln Asn Arg Phe Asp Ser Ala Ile Thr Asn Leu
210     215     220

```

&lt;210&gt; 15

&lt;211&gt; 803

&lt;212&gt; DNA

<213> *Salmonella dublin*

&lt;400&gt; 15

```

atgggggggt ctcacatcca tcatcatcat ggtatggcta gcatgactgg tggacagcaa      60
atgggtcggg atctgtacga cgatgacgat aaggatccgt tcacttctaa tatcaaaggc      120
ctgactcagg ctcccgtaa cgcatacagc gccatttcta ttggcagagc cactgaaggt      180
ggcctgaatg aaatcaaaa caacctgcag cgtgtcgtg agttgtctgt tcaggccact      240
tccccgggaa ttcccggtg tggtagtggg attctagact ccatgggtac attaatcaat      300
gaagagctg ccgcagccaa gaaaagtacc gctaacccac tggcttcaat tgattctgca      360
ttgtcaaaag tggagcagc tgcctctctc ctgggggcaa ttcaaaaccg ttttgattca      420
gccattacca accttggcaa tacggtaacc aatctgaact ccgcgcgtag ccgtatcgaa      480
gatgctgact atgnaacgga agtttcta atgtctaaag ccgcagattc gcagcaggct      540
ggtacttccg ttctggcgca ggctaaccag gttccgcaaa acgtccctctc tttactgcgt      600
tag
603

```

&lt;210&gt; 16

&lt;211&gt; 203

&lt;212&gt; PRT

<213> *Salmonella dublin*

&lt;400&gt; 16

```

Met Arg Gly Ser His His His His His His Gly Met Ala Ser Met Thr
1      5      10      15
Gly Gly Gln Gln Met Gly Arg Asp Leu Tyr Asp Asp Asp Asp Lys Asp
20      25      30
Pro Phe Thr Ser Asn Ile Lys Gly Leu Thr Gln Ala Ser Arg Asn Ala
35      40      45
Asn Asp Gly Ile Ser Ile Ala Gln Thr Thr Glu Gly Ala Leu Asn Glu
50      55      60
Ile Asn Asn Asn Leu Gln Arg Val Arg Glu Leu Ser Val Gln Ala Thr
65      70      75      80
Ser Pro Gly Ile Ser Gly Gly Gly Gly Ile Leu Asp Ser Met Gly
85      90      95
Thr Leu Ile Asn Glu Asp Ala Ala Ala Lys Lys Ser Thr Ala Asn
100     105     110
Pro Leu Ala Ser Ile Asp Ser Ala Leu Ser Lys Val Asp Ala Val Arg
115     120     125
Ser Ser Leu Gly Ala Ile Gln Asn Arg Phe Asp Ser Ala Ile Thr Asn
130     135     140

Leu Gly Asn Thr Val Thr Asn Leu Asn Ser Ala Arg Ser Arg Ile Glu
145     150     155     160
Asp Ala Asp Tyr Ala Thr Glu Val Ser Asn Met Ser Lys Ala Gln Ile
165     170     175
Leu Gln Gln Ala Gly Thr Ser Val Leu Ala Gln Ala Asn Gln Val Pro
180     185     190
Gln Asn Val Leu Ser Leu Leu Arg
195     200

```

<210> 17  
 <211> 438  
 <212> DNA  
 <213> Salmonella dublin

<400> 17

```

atgagggggtt ctcatcatca tcatcatcat ggtatggcta gcatgactgg tggacagcaa      60
atgggtcggg atctgtacga cgatgacgat aaggatccgt tcacttctaa tatcaaaggc      120
ctgactcagg ctctccgtaa cgttaacgac ggcatttcta ttggccagac cactgaaggt      180
gcgctgaatg aatcaacaa caacctgcag cgtgtgcgtg agttgtctgt tcaggccact      240
tccccgggaa ttccoggtgg tggtggtgga attctagact ccatgggtac attaatcaat      300
gaagacgctg ccgcagccaa gaasagtcac gctaacccac tggcttcaat tgattctgca      360
ttgtcaaaag tggacgcagt tegtctctct ctgggggcaa ttcaaaaccg ttttgattca      420
gccattacea acctttag

```

<210> 18  
 <211> 145  
 <212> PRT  
 <213> Salmonella dublin

<400> 18

```

Met Arg Gly Ser His His His His His His Gly Met Ala Ser Met Thr
1          5          10          15
Gly Gly Gln Gln Met Gly Arg Asp Leu Tyr Asp Asp Asp Lys Asp
20          25          30
Pro Phe Thr Ser Asn Ile Lys Gly Leu Thr Gln Ala Ser Arg Asn Ala
35          40          45
Asn Asp Gly Ile Ser Ile Ala Gln Thr Thr Glu Gly Ala Leu Asn Glu
50          55          60
Ile Asn Asn Asn Leu Gln Arg Val Arg Glu Leu Ser Val Gln Ala Thr
65          70          75          80
Ser Pro Gly Ile Ser Gly Gly Gly Gly Ile Leu Asp Ser Met Gly
85          90          95
Thr Leu Ile Asn Glu Asp Ala Ala Ala Lys Lys Ser Thr Ala Asn
100          105          110
Pro Leu Ala Ser Ile Asp Ser Ala Leu Ser Lys Val Asp Ala Val Arg
115          120          125
Ser Ser Leu Gly Ala Ile Gln Asn Arg Phe Asp Ser Ala Ile Thr Asn
130          135          140
Leu
145

```

<210> 18  
 <211> 639  
 <212> DNA  
 <213> Salmonella dublin

<400> 18

```

atgccccgggtt ctcatcatca tcatcatcat ggtatggcta gcatgactgg tggacagcaa      60
atgggtcggg atctgtacga cgatgacgat aaggatccga tggcacaagt cattaataca      120
aacagcctgt cgtgttgac ccagaataac ctgaacaaat ctcaqtcctc actgagttcc      180
gctattgagc gtcgtctc tcgtctcgt atcaacagcg cgaagacga tggggcaggc      240
cagggcattg ctaaccgctt cacttcta atcaaggtc tgactcaggc tccccgtaac      300
gctaaccgag cacttctat tggccagacc actgaagggt cgttgaatga aatcaacaaac      360
aacctgcagc gtgtgctga gttgtctgtt cagggcacta acgggactaa cctctgattc      420

gatctgaaat ctatccagga tgaattcag caacgtctgg aagaaatcga tggcgtttct      480
aatcagactc aatttaacgg tgttaagtc ctgtctcagg acaaccagat gaasatccag      540
gttgggtgcta acgatgggga aaccattacc atcgatctgc aaaaaattga tgtgaaaagc      600
cttggccttg atgggiteaa tgttaattcc ccgggatga                                     639

```

<210> 20  
 <211> 212  
 <212> PRT  
 <213> Salmonella dublin

<400> 20

```

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

```

&lt;210&gt; 21

&lt;211&gt; 480

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Salmonella dublin

&lt;400&gt; 21

```

atggggggtt ctcatcatca tcctcatcat ggtatggcta gcatgactgg tggacagcaa      60
atgggtcggg atctgtacga ccatgacgat aaggatccgt tcaactctaa tatcaaaagt      120
ctgactcagg ctteccgtaa cgtcaacgac ggcattteta ttggccagac cactgaaggt      180
ggcgtgaatg aaatcaacaa caacotgcag cgtgtgcgtg agttgtctgt tcaggccact      240
aacgggacta actctgattc ccatctgaaa tctatccagg atgaaattca gcaacgtctg      300
gaagaastcg atcgcgttcc taatcagact caatttaacg gigttaagt cctgtctcag      360
gaaaccaga tgaaaatcca ggttggtgct aacgatggtg aaaccattac catcgatctg      420
caaaaaattg atgtgaaaag ccttggcctt gatgggttca atgttaattc cccgggatga      480

```

&lt;210&gt; 22

&lt;211&gt; 159

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Salmonella dublin

&lt;400&gt; 22

```

Met Arg Gly Ser His His His His His His Gly Met Ala Ser Met Thr
1      5      10
Gly Gly Gln Gln Met Gly Arg Asp Leu Tyr Asp Asp Asp Asp Lys Asp

```

```

                20                25                30
Pro Phe Thr Ser Asn Ile Lys Gly Leu Thr Gln Ala Ser Arg Asn Ala
   35                40                45
Asn Asp Gly Ile Ser Ile Ala Gln Thr Thr Glu Gly Ala Leu Asn Glu
   50                55                60
Ile Asn Asn Asn Leu Gln Arg Val Arg Glu Leu Ser Val Gln Ala Thr
   65                70                75                80
Asn Gly Thr Asn Ser Asp Ser Asp Leu Lys Ser Ile Gln Asp Glu Ile
   85                90                95
Gln Gln Arg Leu Glu Glu Ile Asp Arg Val Ser Asn Gln Thr Gln Phe
  100                105                110
Asn Gly Val Lys Val Leu Ser Gln Asp Asn Gln Met Lys Ile Gln Val
  115                120                125
Gly Ala Asn Asp Gly Glu Thr Ile Thr Ile Asp Leu Gln Lys Ile Asp
  130                135                140
Val Lys Ser Leu Gly Leu Asp Gly Phe Asn Val Asn Ser Pro Gly
  145                150                155

```

<210> 23  
 <211> 252  
 <212> DNA  
 <213> *Salmonella dublin*

<400> 23

```

atgggggggt ctcacatca tcacatcat ggtatggcta gcatgactgg tggacagcaa      60
atgggtcggg atctgtacga cgatgacgat aaggatccgt tcacttctaa taccaaaggt      120
ctgactcagg cttcccgtaa cgctaaccga gccattttcta ttggcagagc cactgaaggt      180
ggcctgaatg aatcaacaa caacctgcag cgtgtgcgtg agttgtatgt tcaggccact      240
tccccgggat ga                                     252

```

<210> 24  
 <211> 83  
 <212> PRT  
 <213> *Salmonella dublin*

<400> 24

```

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

```

<210> 25  
 <211> 1038  
 <212> DNA  
 <213> *Salmonella dublin*

<400> 25



atgtccccta	tactagggtta	ttggaaaatt	aagggccttg	tgaaccccac	togactttctt	60
ttggaataac	ttgaagaasa	acatgaagag	catttgtatg	agcgcgatga	aggtgatcaa	120
tggcgaaca	aaaagtttga	attgggtttg	gagttccca	atcttcctta	ttatatattgat	180
ggtagatgta	aattaacaca	gtctatggcc	atcatacgtt	atataactga	caagcacaac	240
atgttgggtg	gttgtccaaa	agagcgtgca	gagatttcaa	tgcttgaagg	agcggttttg	300
gatattagat	acggtgtttc	gagaattgca	katagtsaag	actttgaaac	tctcaaaagt	360
gattttctta	gcaagctacc	tgaatgctg	aaaagttgg	aagatogttt	atgtcataaa	420
acataattta	atggtgatca	tgtaacccat	cctgaectta	tgttgtatga	cgtctttgat	480
gtttttttat	acatggacc	aatgtgctg	gatgcgttcc	caaaattagt	ttgtttcaaa	540
aaacgtattg	aagctatccc	acaattgat	aagtacttga	aatccagcaa	gtatatagca	600
tggccttttc	agggctggca	agcccagttt	ggtgggtggg	accatcctcc	aaaatoggat	660
ctggttccgc	gtggatcccc	gggaatttcc	ggtggktggg	gtggaattct	agactccatg	720
ggtacattaa	tcaatgaaga	cgctgcgcga	gccaagaaaa	gtaccgctaa	cccactggct	780
tcaattgatt	ctgcattgtc	aaaagtggac	gcagttcgtt	cttctcttgg	ggcaattcaa	840
aaccgttttg	attcagcaat	taccaacott	ggcaatacgg	taaccaatct	gaactccgcy	900
cgtagccgta	togaagatgc	tgaactatga	aeggaagttt	ctaatatgtc	taagcgcag	960
attctgcagc	aggttggtag	tcccgttctg	ggcagggcta	accaggttcc	gcaaaacgbc	1020
ctctctttac	tgcgttag					1038

<210> 26

<211> 345

<212> PRT

<213> *Salmonella dublin*

<400> 26

```

Met Ser Pro Ile Leu Gly Tyr Trp Lys Ile Lys Gly Leu Val Gln Pro
1      5      10
Thr Arg Leu Leu Glu Tyr Leu Glu Glu Lys Tyr Glu Glu His Leu
      20      25      30
Tyr Glu Arg Asp Glu Gly Asp Lys Trp Arg Asn Lys Lys Phe Glu Leu
      35      40      45
Gly Leu Glu Phe Pro Asn Leu Pro Tyr Tyr Ile Asp Gly Asp Val Lys
      50      55      60
Leu Thr Gln Ser Met Ala Ile Ile Arg Tyr Ile Ala Asp Lys His Asn
      65      70      75      80
Met Leu Gly Gly Cys Pro Lys Glu Arg Ala Glu Ile Ser Met Leu Glu
      85      90      95
Gly Ala Val Leu Asp Ile Arg Tyr Gly Val Ser Arg Ile Ala Tyr Ser
      100     105     110
Lys Asp Phe Glu Thr Leu Lys Val Asp Phe Leu Ser Lys Leu Pro Glu
      115     120     125
Met Leu Lys Met Phe Glu Asp Arg Leu Cys His Lys Thr Tyr Leu Asn
      130     135     140
Gly Asp His Val Thr His Pro Asp Phe Met Leu Tyr Asp Ala Leu Asp
      145     150     155     160
Val Val Leu Tyr Met Asp Pro Met Cys Leu Asp Ala Phe Pro Lys Leu
      165     170     175
Val Cys Phe Lys Lys Arg Ile Glu Ala Ile Pro Gln Ile Asp Lys Tyr
      180     185     190
Leu Lys Ser Ser Lys Tyr Ile Ala Trp Pro Leu Gln Gly Trp Gln Ala
      195     200     205
Thr Phe Gly Gly Gly Asp His Pro Pro Lys Ser Asp Leu Val Pro Arg
      210     215     220
Gly Ser Pro Gly Ile Ser Gly Gly Gly Gly Ile Leu Asp Ser Met
      225     230     235     240
Gly Thr Leu Ile Asn Glu Asp Ala Ala Ala Lys Lys Ser Thr Ala
      245     250     255
Asn Pro Leu Ala Ser Ile Asp Ser Ala Leu Ser Lys Val Asp Ala Val
      260     265     270
Arg Ser Ser Leu Gly Ala Ile Gln Asn Arg Phe Asp Ser Ala Ile Thr
      275     280     285
Asn Leu Gly Asn Thr Val Thr Asn Leu Asn Ser Ala Arg Ser Arg Ile
      290     295     300
Glu Asp Ala Asp Tyr Ala Thr Glu Val Ser Asn Met Ser Lys Ala Gln
      305     310     315     320
Ile Leu Gln Gln Ala Gly Thr Ser Val Leu Ala Gln Ala Asn Gln Val
      325     330     335
Pro Gln Asn Val Leu Ser Leu Leu Arg
      340     345

```

<210> 27

<211> 873

<212> DNA

<213> Salmonella dublin

<400> 27

```

atgtccctta tactaggta ttggaattt aaggcccttg tgcaaccac tgcacttctt 60
ttggaatata ttgaagaaa atatgaagag catttgtatg agcgggatga aggtgataaa 120
tggcgaaca aaaagttaga atggggtttg gagtttccc atcttccctt ttatattgat 180
ggtgatgtra aattaacaca gtctatggcc atcatacgtt atatagctga caagcacaac 240
atgttgggtg gttgtccaaa agagcgtgca gagatttcaa tgcctgaagg agcggttttg 300
gatatttagat acggtgtttc gagaattgca tatagttaag accttgaaac totcaaatgt 360
gattttctta gcaagctacc tgaattgctg aaastgttcg aagatcgttt atgtcataaa 420
acafatttaa atggtgatca tgtaacccat cctgacttca tgttgtatga cgtctctgat 480
gttgttttat acatggacc aatgtgcttg gatggcttc caaaattagt ttgttttaa 540
aaacgtattg aagctatccc acaaattgat sagtaettga aatccagaaa gtatatagca 600
tggccttttc aggcttggca agccacgttt ggtgggtggc accatcctcc aaaatcggat 660
ctggttccgc gtggatcccc ggaatttcc ggtgggtggc gtegaattct agactccatg 720
ggtaacattaa tcaatgaaqa cgtgcccga gccagaaaa gtaccgctaa cccactggct 780
tcaattgatc ctgcattgtc aaaagtggac gcagttcgtt cttctctggg ggaattcaa 840
aaccttttg atccagccat taccaacctt tag 873

```

<210> 28

<211> 280

<212> PRT

<213> Salmonella dublin

<408> 28

```

Met Ser Pro Ile Leu Gly Tyr Trp Lys Ile Lys Gly Leu Val Gln Pro
1 5 15
Thr Arg Leu Leu Leu Glu Tyr Leu Glu Glu Lys Tyr Glu Glu His Leu
20 25 30
Tyr Glu Arg Asp Glu Gly Asp Lys Trp Arg Asn Lys Lys Phe Glu Leu
35 40 45
Gly Leu Glu Phe Pro Asn Leu Pro Tyr Tyr Ile Asp Gly Asp Val Lys
50 55 60
Leu Thr Gln Ser Met Ala Ile Ile Arg Tyr Ile Ala Asp Lys His Asn
65 70 75 80
Met Leu Gly Gly Cys Pro Lys Glu Arg Ala Glu Ile Ser Met Leu Glu
85 90 95
Gly Ala Val Leu Asp Ile Arg Tyr Gly Val Ser Arg Ile Ala Tyr Ser
100 105 110
Lys Asp Phe Glu Thr Leu Lys Val Asp Phe Leu Ser Lys Leu Pro Glu
115 120 125
Met Leu Lys Met Phe Glu Asp Arg Leu Cys His Lys Tyr Thr Tyr Leu Asn
130 135 140
Gly Asp His Val Thr His Pro Asp Phe Met Leu Tyr Asp Ala Leu Asp
145 150 155 160
Val Val Leu Tyr Met Asp Pro Met Cys Leu Asp Ala Phe Pro Lys Leu
165 170 175
Val Cys Phe Lys Lys Arg Ile Glu Ala Ile Pro Gln Ile Asp Lys Tyr
180 185 190
Leu Lys Ser Ser Lys Tyr Ile Ala Trp Pro Leu Gln Gly Trp Gln Ala
195 200 205
Thr Phe Gly Gly Gly Asp His Pro Pro Lys Ser Asp Leu Val Pro Arg
210 215 220
Gly Ser Pro Gly Ile Ser Gly Gly Gly Gly Ile Leu Asp Ser Met
225 230 235 240
Gly Thr Leu Ile Asn Glu Asp Ala Ala Ala Lys Lys Ser Thr Ala
245 250 255
Asn Pro Leu Ala Ser Ile Asp Ser Ala Leu Ser Lys Val Asp Ala Val
260 265 270
Arg Ser Ser Leu Gly Ala Ile Gln Asn Arg Phe Asp Ser Ala Ile Thr
275 280 285
Asn Leu

```

<210> 20  
 <211> 972  
 <212> DNA  
 <213> *Salmonella dublin*

<400> 20

```

atgggggggt ctcatcatca tcctcatcat ggtatggcta gcatgactgg tggacagcaa      60
atgggtcggg atctgtacga cgatgacgat aaggatccga tggcacaagt cattaataca    120
aacagcctgt cgtgtttgac ccagaataac ctgacacaaat ctacgtcttc actgagttcc    180
gctatitgagc gtctgtcttc tggctctggt atcaacagcg cgaagacga tggggcaggg    240
caggcagatg ctaaccgctt cacttcta atcaazggcc tgaactcaggc ttcccgtaac    300
gctaacgagc gcatttctat tggcagagcc scrgaagggt cgtggaatga aatcaacaac    360
aacctgcagc gttgtcgtga gttgtctggt caggccacta acgggactaa ctctgattcc    420
gatctgaaat ctatccagga tgaattcag caacgtctgg aagaatcga tccggtttct    480
aatcagactc aatttaacgg tgttaagtc ctctctcagg acaaccagat gaaaatccag    540
gttgggtgca acgatgggga aaccatrac atcgatctgc aaaaaattga tgtgaaaagc    600
cttggcctta tcccgggaat ttccgggtgg ggtgggggaa ttctagactc catgggtaca    660
ttaatcaatg aagacgctgc cgcagccaag aaaagtaccg cttaaccact ggcttcaatt    720
gattctgcat tgtcaaaagt ggaacagtt cgttctcttc tgggggcaat tcaaaaaccgt    780
tttgattcag ccattaccas ccttggcaat acggtaacca atctgaactc cgcgcgtagc    840
cgtatogaag atgctganta tgaacggaa gtttctaata tgtctaaagc gcagattctg    900
cagcaggcag gtaactccgt totgggcag gctaaccagg ttccgcacaa cgtctctctc    960
ttactgggtt ag

```

<210> 30  
 <211> 323  
 <212> PRT  
 <213> *Salmonella dublin*

<400> 30

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

245 250 255  
 Ile Gln Asn Arg Phe Asp Ser Ala Ile Thr Asn Leu Gly Asn Thr Val  
 260 265 270  
 Thr Asn Leu Asn Ser Ala Arg Ser Arg Ile Glu Asp Ala Asp Tyr Ala  
 275 280 285  
 Thr Glu Val Ser Asn Met Ser Lys Ala Gln Ile Leu Gln Gln Ala Gly  
 290 295 300  
 Thr Ser Val Leu Ala Gln Ala Asn Gln Val Pro Gln Asn Val Leu Ser  
 305 310 315 320  
 Leu Leu Arg

<210> 31

<211> 813

<212> DNA

<213> Salmonella dublin

<400> 31

```

atgggggggtt ctctatcatca tcatcatcat ggtatggcfa gcatgactgg tggacagcga 60
atgggtcggg atctgtacga ccatgacgat aaggatccgt tcacttctaa tatcaaaaggc 120
ctgactcagg ctccocgtaa cgcctaacgac ggcatttcta ttgcgcagac cactgaaggt 180
gcgctgaatg aatcaacaa caacctgcag cgtgtgcgtg agttgtctgt tcaggccact 240
aacgggacta actctgattc ccatctgaaa tetatccagg atgaaattca gcaacgtctg 300
gaagaatctg atcgcgtttc taatcagact caatttaacg gtgttaaagt cctctctcag 360
gacaaccaga tgaaaatcca ggttgggtgt aacgatggty aaaccattac catcgtctg 420
caaaaaattg atgtgaaaag ccttggcctt atcccgggaa ttcccggtgg tgggtgtygs 480
attctagact ccatgggtac attaatcaat gaagacgtg ccgcagccaa gaaaagtacc 540
gctaacccac tggcctcaat tgatctctga ttgtcaaaag tggacgcagt tcttctctt 600
ctgggggcaas ticaaaaccg ttttgattca gccattacca accttgcaa kacggtaacc 660
aatctgaact ccgocgtag ccgtatcgaa gatgctgact atgcaacgga agtttcaat 720
atgtctaaag ccgagattct gcagcaggct ggtacttcg tcttggcga ggctaacag 780
gttccgcaaa acgtctctct tttactgct tag 813

```

&lt;210&gt; 32

&lt;211&gt; 270

&lt;212&gt; FRT

&lt;213&gt; Salmonella dublin

&lt;400&gt; 32

```

Met Arg Gly Ser His His His His His His Gly Met Ala Ser Met Thr
1 5 10 15
Gly Gly Gln Gln Met Gly Arg Asp Leu Tyr Asp Asp Asp Asp Lys Asp
20 25 30
Pro Phe Thr Ser Asn Ile Lys Gly Leu Thr Gln Ala Ser Arg Asn Ala
35 40 45
Asn Asp Gly Ile Ser Ile Ala Gln Thr Thr Glu Gly Ala Leu Asn Glu
50 55 60
Ile Asn Asn Asn Leu Gln Arg Val Arg Glu Leu Ser Val Gln Ala Thr
65 70 75 80
Asn Gly Thr Asn Ser Asp Ser Asp Leu Lys Ser Ile Gln Asp Glu Ile
85 90 95
Gln Gln Arg Leu Glu Glu Ile Asp Arg Val Ser Asn Gln Thr Gln Phe
100 105 110
Asn Gly Val Lys Val Leu Ser Gln Asp Asn Gln Met Lys Ile Gln Val
115 120 125
Gly Ala Asn Asp Gly Glu Thr Ile Thr Ile Asp Leu Gln Lys Ile Asp
130 135 140
Val Lys Ser Leu Gly Leu Ile Pro Gly Ile Ser Gly Gly Gly Gly Gly
145 150 155 160
Ile Leu Asp Ser Met Gly Thr Leu Ile Asn Glu Asp Ala Ala Ala Ala
165 170 175
Lys Lys Ser Thr Ala Asn Pro Leu Ala Ser Ile Asp Ser Ala Leu Ser
180 185 190
Lys Val Asp Ala Val Arg Ser Ser Leu Gly Ala Ile Gln Asn Arg Phe
195 200 205
Asp Ser Ala Ile Thr Asn Leu Gly Asn Thr Val Thr Asn Leu Asn Ser
210 215 220
Ala Arg Ser Arg Ile Glu Asp Ala Asp Tyr Ala Thr Glu Val Ser Asn
225 230 235 240
Met Ser Lys Ala Gln Ile Leu Gln Gln Ala Gly Thr Ser Val Leu Ala
245 250 255
Gln Ala Asn Gln Val Pro Gln Asn Val Leu Ser Leu Leu Arg
260 265 270

```

&lt;210&gt; 33

&lt;211&gt; 851

&lt;212&gt; DNA

<212> Salmonella dublin

<400> 33

```

atggggggtt ctcctcctca tcctcctcat ggtatggcta gcatgactgg tggacagcaa      60
atgggtcggg atctgtacga cgatgacgat aaggatccga tggcacaagt cattaataca      120
aacagcctgt cgtctgttgc ccagataaac ctgaacaaat ctacgtctct actgagttcc      180
gctattgagc gtctgtctct tggctctgct atcaacagcg cgaagacaga tgcggcagyc      240
caggogattg ctaacogctt cacttctaat atcaaaagcc tgactcagcc ttcccgtaac      300
gctaacgacg gcatttctat tgcgcagacc actgsaggtg cgtgaaatga aatcaacaac      360
aacctgcagc gtgtgogtga gttgtctgtt caggccacta acgggactaa ctctgattcc      420
gatctgaat ctatccagga tgaatctcag caacgtctcg aagaatcaga tccggtttct      480
aatcagactc aatttaacgg tgttaagtc ctctctcagg acaacagat gaaaatccag      540
gtttgtgcta acgatggtga aaccattacc atcgtctctc aaaaaattat cccgggaatt      600
tccggtggtg gtggtggaat tctagactcc atgggtacat taatcaatga agacgtctcc      660
gcagccaaga aaagtaccgc taaccactcg gcttcaattg attctgcatt gtcaaaagtg      720
gacgcagttc gttctctctt gggggcaatt caaaaccgtt ttgattcagc cattaacaa      780
cttggcaata cggtaaccaa tctgaactcc gcgcgtagcc gtatcgaaga tgcctgatat      840
gaaacggaaq tttctaatat gctcaaaagc agatctctgc agcagggctg taectccggt      900
ctgggcaggg ctaaccaggt tccgcaaac gtcctctctt tactgcgta g      951
    
```

<210> 34

<211> 318

<212> PRT

<213> Salmonella dublin

<400> 34

```

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

```

Leu Gln Lys Ile Ile Pro Gly Ile Ser Gly Gly Gly Gly Gly Ile Leu
    195                200                205
Asp Ser Met Gly Thr Leu Ile Asn Glu Asp Ala Ala Ala Lys Lys
    210                215                220
Ser Thr Ala Asn Pro Leu Ala Ser Ile Asp Ser Ala Leu Ser Lys Val
    225                230                235                240
Asp Ala Val Arg Ser Ser Leu Gly Ala Ile Gln Asn Arg Phe Asp Ser
    245                250                255
Ala Ile Thr Asn Leu Gly Asn Thr Val Thr Asn Leu Asn Ser Ala Arg
    260                265                270
Ser Arg Ile Glu Asp Ala Asp Tyr Ala Thr Glu Val Ser Asn Met Ser
    275                280                285
Lys Ala Gln Ile Leu Gln Gln Ala Gly Thr Ser Val Leu Ala Gln Ala
    290                295                300
Asn Gln Val Pro Gln Asn Val Leu Ser Leu Leu Arg
    305                310                315

```

<210> 35

<211> 782

<212> DNA

<213> *Salmonella dublin*

<400> 35

```

atgagggggtt ctcatcatca tcatcatcat ggtatgggta gcatgactgg tggacagcaa    60
atgggtcggg atctgtaaga cgatgaagat aaggatccgt tcactcttaa latcaaaagg    120
ctgactcagg ctccccgtaa cgttaacgac ggcattttta ttggccagac cactgaaggt    180
ggcctggaatg aatcaacaa caacctgcag cgtgtcgttg agttgtctgt tcaggccact    240
aacgggacta acctgattc ccatctgaaa tetatccagg atgaaatca gcaacgtctg    300
gaagaatcag atcgggttc taatcagact caatttaac gtgttaaaqt cctctctcag    360
gacaaccaga tgaaatca ggttggtgct aacgatggtg aaacctaac catcgatctg    420
caaaaattta tcccgggaat tccgggtcgt ggtgggtgaa ttctagactc catgggtaca    480
ttaatcaatg aagacgctgc cgcagccaaq aaaagtacag ctaaccact ggcttcaatt    540
gattctgcat tgcataaaqt gacgcagtt cgttctctc tgggggaat tcaaacctt    600
tttgattcag ccattacca ccitggcaat acggtaacca atctgaactc cggcggtagc    660
cgtatcgaag atgctgacta tgcacaggaa gtttctata tgtctaaagc gcagattctg    720
cagcaggctg gtactccgt tctgggcag gctaaccaag tccgcataa cgtccctctt    780
ttactcgtt sq

```

<210> 36

<211> 263

<212> PRT

<213> *Salmonella dublin*

<400> 36



Met Arg Gly Ser His His His His His His Gly Met Ala Ser Met Thr  
 1 5 10 15  
 Gly Gly Gln Gln Met Gly Arg Asp Leu Tyr Asp Asp Asp Asp Lys Asp  
 20 25 30  
 Pro Phe Thr Ser Asn Ile Lys Gly Leu Thr Gln Ala Ser Arg Asn Ala  
 35 40 45  
 Asn Asp Gly Ile Ser Ile Ala Gln Thr Thr Glu Gly Ala Leu Asn Glu  
 50 55 60  
 Ile Asn Asn Asn Leu Gln Arg Val Arg Glu Leu Ser Val Gln Ala Thr  
 65 70 75 80  
 Asn Gly Thr Asn Ser Asp Ser Asp Leu Lys Ser Ile Gln Asp Glu Ile  
 85 90 95  
 Gln Gln Arg Leu Glu Glu Ile Asp Arg Val Ser Asn Gln Thr Gln Phe  
 100 105 110  
 Asn Gly Val Lys Val Leu Ser Gln Asp Asn Gln Met Lys Ile Gln Val  
 115 120 125  
 Gly Ala Asn Asp Gly Glu Thr Ile Thr Ile Asp Leu Gln Lys Ile Ile  
 130 135 140  
 Pro Gly Ile Ser Gly Gly Gly Gly Gly Ile Leu Asp Ser Met Gly Thr  
 145 150 155 160  
 Leu Ile Asn Glu Asp Ala Ala Ala Ala Lys Lys Ser Thr Ala Asn Pro  
 165 170 175  
 Leu Ala Ser Ile Asp Ser Ala Leu Ser Lys Val Asp Ala Val Arg Ser  
 180 185 190  
 Ser Leu Gly Ala Ile Gln Asn Arg Phe Asp Ser Ala Ile Thr Asn Leu  
 195 200 205  
 Gly Asn Thr Val Thr Asn Leu Asn Ser Ala Arg Ser Arg Ile Glu Asp  
 210 215 220  
 Ala Asp Tyr Ala Thr Glu Val Ser Asn Met Ser Lys Ala Gln Ile Leu  
 225 230 235 240  
 Gln Gln Ala Gly Thr Ser Val Leu Ala Gln Ala Asn Gln Val Pro Gln  
 245 250 255  
 Asn Val Leu Ser Leu Leu Arg  
 260

<210> 37  
 <211> 887  
 <212> DNA  
 <213> *Salmonella dublin*

<408> 37

```

atgcccgggtt ctcaccatca tcatcaccat ggtatggcta gcatgactgg tggacacgaa 60
atgggtcggg atctgtacga cgtgacgat aaggatccga tggcacaagt cattaataca 120
aacagccctgt cgtgtttgac ccagaaleac ctgaacaaat ctcagtcttc actgagttcc 180
gctattgagc gctgtctctc tggctctgct atcaacagcg cgaaggacga tgggcagggc 240
caggcgattg ctaaccgctt cacttcta atcaaggcc tgactcaggc ttcccgtaac 300
gctaaccgagc gcatttctat tggccagacc actgaagtg cgtgaaatga aatcaccaac 360
aacctgcagc gtgtgctga gttgtctt caggccacta acgggactaa ctctgattcc 420
gatctgaaat ctatccagga tgaattcag caacgtctgq aagaaatcga tgcgctttct 480
aatcagactc aatttaacgg tgttaaggtc ctctctcagg acaaccagat gaaatccag 540
gttggctcta acgatggtga aaccattacc atcgatctgc aaaaaattga tgtgaaaagc 600
cttggcctta tcccggaaat ttccggtggt ggtggtgaa ttctagactc catgggtaca 660
tfaatcaatg aagacgctgc cgcagccaag aaaagtaccg ctaccaccat ggcttcaatt 720
gattctgcat tctcaaaagt ggaagcagtt cgttctcttc tgggggcaat tcaaaaccgt 780
tttgattcag ccattaccaa cctttag

```

<210> 38  
 <211> 288  
 <212> PRT

<213> *Salmonella dublin*

&lt;400&gt; 38

```

Met Arg Gly Ser His His His His His Gly Met Ala Ser Met Thr
1      5      10      15
Gly Gly Gln Gln Met Gly Arg Asp Leu Tyr Asp Asp Asp Asp Lys Asp
20      25      30
Pro Met Ala Gln Val Ile Asn Thr Asn Ser Leu Ser Leu Leu Thr Gln
35      40      45
Asn Asn Leu Asn Lys Ser Gln Ser Ser Leu Ser Ser Ala Ile Glu Arg
50      55      60
Leu Ser Ser Gly Leu Arg Ile Asn Ser Ala Lys Asp Asp Ala Ala Gly
65      70      75      80
Gln Ala Ile Ala Asn Arg Phe Thr Ser Asn Ile Lys Gly Leu Thr Gln
85      90      95
Ala Ser Arg Asn Ala Asn Asp Gly Ile Ser Ile Ala Gln Thr Thr Glu
100     105     110
Gly Ala Leu Asn Glu Ile Asn Asn Asn Leu Gln Arg Val Arg Glu Leu
115     120     125
Ser Val Gln Ala Thr Asn Gly Thr Asn Ser Asp Ser Asp Leu Lys Ser
130     135     140
Ile Gln Asp Glu Ile Gln Gln Arg Leu Glu Glu Ile Asp Arg Val Ser
145     150     155     160

Asn Gln Thr Gln Phe Asn Gly Val Lys Val Leu Ser Gln Asp Asn Gln
165     170     175
Met Lys Ile Gln Val Gly Ala Asn Asp Gly Glu Thr Ile Thr Ile Asp
180     185     190
Leu Gln Lys Ile Asp Val Lys Ser Leu Gly Leu Ile Pro Gly Ile Ser
195     200     205
Gly Gly Gly Gly Gly Ile Leu Asp Ser Met Gly Thr Leu Ile Asn Glu
210     215     220
Asp Ala Ala Ala Ala Lys Lys Ser Thr Ala Asn Pro Leu Ala Ser Ile
225     230     235     240
Asp Ser Ala Leu Ser Lys Val Asp Ala Val Arg Ser Ser Leu Gly Ala
245     250     255

Ile Gln Asn Arg Phe Asp Ser Ala Ile Thr Asn Leu
260     265

```

&lt;210&gt; 30

&lt;211&gt; 788

&lt;212&gt; DNA

<213> *Salmonella dublin*

&lt;400&gt; 30

```

atgagggggt ctcacatca ccatcatcat ggtatggcta gcatgactgg tggacagcaa      60
atgggtcggg atctgtacga ccatgaagat aaggatccga tggacacaagt cattaataca      120
aacagcctgt cgtcgttgac ccagaataac ctgaacaaat ctcagtcctc actgagttcc      180
gctattgagc gctctctctc tggctctcgt atcaacagcg cgaagaagca tggcgagggc      240
caggcgattg ccaaccgctt caettctaat atcaaaggcc tgactcaggc ttcccgtaac      300
gctaaccgag ccatctctat tgcgcagacc actgaaggtg cgtgaatga aatcaadaac      360
aacctgcagc gctgctgtga gttgtctggt caggccacta accggactaa ctctgattcc      420
gatctgaat ctatccagga tgaattccag caacgtctgg aagaataga tggcgttctc      480
aatcagactc aatttaacgg tgttaaagtc ctctctcagg accaccagat gaaatccag      540
gttggtgcta acgatgtga aaccattacc atogactctc aaaaaattat cccgggaatt      600
tcgggtggtg gtgggtggaat tctagactcc atgggtacat taatcaatga agacgctgcc      660
gcagccaaga aaagtaccgc taaccactg gcttcaattg attctgcatt gtcaaaagtg      720
gacgcagttc gttctctctc gggggcaatt caaaaaccgtt ttgattcagc cattaccaac      780
ctttag

```

<210> 40  
 <211> 261  
 <212> PRT  
 <213> *Salmonella dublin*

<400> 40

```

Met Arg Gly Ser His His His His His His Gly Met Ala Ser Met Thr
1      5      10
Gly Gly Gln Gln Met Gly Arg Asp Leu Tyr Asp Asp Asp Asp Lys Asp
20
Pro Met Ala Gln Val Ile Asn Thr Asn Ser Leu Ser Leu Leu Thr Gln
35      40      45
Asn Asn Leu Asn Lys Ser Gln Ser Ser Leu Ser Ser Ala Ile Glu Arg
50      55      60
Leu Ser Ser Gly Leu Arg Ile Asn Ser Ala Lys Asp Asp Ala Ala Gly
65      70      75      80
Gln Ala Ile Ala Asn Arg Phe Thr Ser Asn Ile Lys Gly Leu Thr Gln
85      90      95
Ala Ser Arg Asn Ala Asn Asp Gly Ile Ser Ile Ala Gln Thr Thr Glu
100      105      110
Gly Ala Leu Asn Glu Ile Asn Asn Asn Leu Gln Arg Val Arg Glu Leu
115      120      125
Ser Val Gln Ala Thr Asn Gly Thr Asn Ser Asp Ser Asp Leu Lys Ser
130      135      140
Ile Gln Asp Glu Ile Gln Gln Arg Leu Glu Glu Ile Asp Arg Val Ser
145      150      155      160
Asn Gln Thr Gln Phe Asn Gly Val Lys Val Leu Ser Gln Asp Asn Gln
165      170      175
Met Lys Ile Gln Val Gly Ala Asn Asp Gly Glu Thr Ile Thr Ile Asp
180      185      190
Leu Gln Lys Ile Ile Pro Gly Ile Ser Gly Gly Gly Gly Gly Ile Leu
195      200      205
Asp Ser Met Gly Thr Leu Ile Asn Glu Asp Ala Ala Ala Lys Lys
210      215      220
Ser Thr Ala Asn Pro Leu Ala Ser Ile Asp Ser Ala Leu Ser Lys Val
225      230      235      240
Asp Ala Val Arg Ser Ser Leu Gly Ala Ile Gln Asn Arg Phe Asp Ser
245      250      255
Ala Ile Thr Asn Leu
260

```

<210> 41  
 <211> 849  
 <212> DNA  
 <213> *Salmonella dublin*

<400> 41

```

atgagggtt ctcatcatca tcatcatcat ggtatggcta gcatgactgg tggacagcaa      60
atgggtcggg atctgtacga ccatgaagat aaggatccga tggcacaagt cattaatata      120
aacagcctgt cgtgtttgac ccagaataac ctgaacaaat ctcagtccct actgagttcc      180
gctattgagc gtctgtccct tggcttgcgt atcaacacag cgaagagcga tgcggcaggc      240
cagggagatg ctaaccgctt cacttctaast atcaaaagcc tgactcaggc ttccctaac      300
gctaacgacg qcatttctat tccgcagacc actgaaggtg cgtgaaatga aatcaacaac      360
aacctgcagc gtgtgcgtga gttgtctggt caggccacta scgggactaa ctctgattcc      420
gatctgaat ctatccagga tgaatttcag caacgctcgg aagaaatcga tccggtttct      480
aatcagatcc cgggaatttc cgggtggtgt ggtggaattc tagactccat ggttacatta      540
atcaatgaag acgctgcgcg agccaagaaa agtaccgcta acccaactggc tcaattgat      600
tatgcatgt caaaagtgga cgcagttcgt tcttctctgg gggcaattca aaaccgtttt      660
gattcagcca ttaccacact tggcaatacg gtaaccaatc tgaactccgc gcgtagccgt      720
atcgaagatg ctgactatgc aacggaagtt tctaafatgt ctaaagcgca gattctgcaq      780
caggtcgtga ctccggttat ggcgcaggtt aaccaggttc cgcaaaacgt cctctcttta      840
ctgggttag

```

<210> 42

<211> 282

<212> PRT

<213> Salmonella dublin

<400> 42

```

Met Arg Gly Ser His His His His His His Gly Met Ala Ser Met Thr
1
Gly Gly Gln Gln Met Gly Arg Asp Leu Tyr Asp Asp Asp Asp Lys Asp
20
Pro Met Ala Gln Val Ile Asn Thr Asn Ser Leu Ser Leu Leu Thr Gln
35
Asn Asn Leu Asn Lys Ser Gln Ser Ser Leu Ser Ser Ala Ile Glu Arg
50
Leu Ser Ser Gly Leu Arg Ile Asn Ser Ala Lys Asp Asp Ala Ala Gly
65
Gln Ala Ile Ala Asn Arg Phe Thr Ser Asn Ile Lys Gly Leu Thr Gln
80
Ala Ser Arg Asn Ala Asn Asp Gly Ile Ser Ile Ala Gln Thr Thr Glu
100
Gly Ala Leu Asn Glu Ile Asn Asn Asn Leu Gln Arg Val Arg Glu Leu
115
Ser Val Gln Ala Thr Asn Gly Thr Asn Ser Asp Ser Asp Leu Lys Ser
130
Ile Gln Asp Glu Ile Gln Gln Arg Leu Glu Glu Ile Asp Arg Val Ser
145
Asn Gln Ile Pro Gly Ile Ser Gly Gly Gly Gly Gly Ile Leu Asp Ser
165
Met Gly Thr Leu Ile Asn Glu Asp Ala Ala Ala Ala Lys Lys Ser Thr
180
Ala Asn Pro Leu Ala Ser Ile Asp Ser Ala Leu Ser Lys Val Asp Ala
195
Val Arg Ser Ser Leu Gly Ala Ile Gln Asn Arg Phe Asp Ser Ala Ile
210
Thr Asn Leu Gly Asn Thr Val Thr Asn Leu Asn Ser Ala Arg Ser Arg
225
Ile Glu Asp Ala Asp Tyr Ala Thr Glu Val Ser Asn Met Ser Lys Ala
240
Gln Ile Leu Gln Gln Ala Gly Thr Ser Val Leu Ala Gln Ala Asn Gln
260
Val Pro Gln Asn Val Leu Ser Leu Leu Arg
275
280

```

<210> 43  
 <211> 690  
 <212> DNA  
 <213> Salmonella dublin

<400> 43

```

atggggggtt ctcatcatca tcacatcat ggtatggcta gcatgactgg tggacagcaa      60
atgggtcggg atctgtacga ccatgacgat aaggatccgt tcacttctaa tatcaaaggc      120
ctgactcagg ctccccgtaa cgttaacgac ggcatttcta ttgcgcagac cactgaaggt      180
gcgctgaatg aaatcaacaa caacctgcag cgtgtgcgtg agttgtctgt tcaggccact      240
aacgggacta actctgattc cgatctgaaa tctatccagg atgaaattca gcaacgtctg      300
gaagaaatcg atcgcgtttc taakcagatc cccggcaatt ccggttggtg tggtggaatt      360
ctagactcca tgggtacatt aatcaatgaa gacgctgccg cagccaagaa aagtaccgct      420
aacccactgg ctccaattga ttctgcattg tcaaaagtgg scgcagttcg ttcttctctg      480
ggggcaattc aaaaccgttt tgattcagcc attaccaacc ttggcaatcc ggtaaccaat      540
ctgaactcgg cgcgtagccg tatogaagat gctgactatg caacggaagt ttctaantatg      600
tctaaagccg agattctgca gcaggtctgt acttccgttc tggcgcaggc taaccaggtt      660
ccgcaasacg tctctctttt actgcgttag

```

<210> 44  
 <211> 228  
 <212> PRT  
 <213> Salmonella dublin

<400> 44

```

Met Arg Gly Ser His His His His His His Gly Met Ala Ser Met Thr
1
Gly Gly Gln Gln Met Gly Arg Asp Leu Tyr Asp Asp Asp Asp Lys Asp
20
Pro Phe Thr Ser Asn Ile Lys Gly Leu Thr Gln Ala Ser Arg Asn Ala
35
Asn Asp Gly Ile Ser Ile Ala Gln Thr Thr Glu Gly Ala Leu Asn Glu
50
Ile Asn Asn Asn Leu Gln Arg Val Arg Glu Leu Ser Val Gln Ala Thr
65
Asn Gly Thr Asn Ser Asp Ser Asp Leu Lys Ser Ile Gln Asp Glu Ile
80
Gln Gln Arg Leu Glu Glu Ile Asp Arg Val Ser Asn Gln Ile Pro Gly
100
Ile Ser Gly Gly Gly Gly Ile Leu Asp Ser Met Gly Thr Leu Ile
115
Asn Glu Asp Ala Ala Ala Ala Lys Lys Ser Thr Ala Asn Pro Leu Ala
130
Ser Ile Asp Ser Ala Leu Ser Lys Val Asp Ala Val Arg Ser Ser Leu
145
Gly Ala Ile Gln Asn Arg Phe Asp Ser Ala Ile Thr Asn Leu Gly Asn
165
Thr Val Thr Asn Leu Asn Ser Ala Arg Ser Arg Ile Glu Asp Ala Asp
180
Tyr Ala Thr Glu Val Ser Asn Met Ser Lys Ala Glu Ile Leu Gln Gln
195
Ala Gly Thr Ser Val Leu Ala Gln Ala Asn Gln Val Pro Gln Asn Val
210
Leu Ser Leu Leu Arg
215
225

```

<210> 45  
 <211> 684  
 <212> DNA  
 <213> Salmonella dublin

<400> 45

```

atgggggggt ctcacatca tcatcatcat ggtatggcta gcatgaetgg tggacagcaa      60
atgggtcggg atctgtacga ccatgacgat aaggatccga tggcacaagt cattaataca      120
aacagcctgt cgctgttgac ccagaataaa ctgaacaaat ctcagtctct actgagttcc      180
gctattgagc gtctgtcctc tggctctcgt atcaacagcg cgaaagacga tggggcaggc      240
caggcagktg ctsaccgctt cacttctaat atcaaaagcc tgactcagge ttcccgtaac      300
gctaacgacg gcatttctat tgcgcagacc actgaaggly cgctgaatga aatcaacaac      360
aacctgcagc gtgtggctga gttgtctgtt caggccacta acgggactaa ctctgattec      420
gatctgaaat ctatccagga tgaattccag caacgtctgg aagaatcga tggcgtttct      480
aatcagatcc cgggaattc cgttggttgt ggtggaaatc tagactccat gggtaacata      540
ctcaatgaag acgctgcgcg agccaagaaa agtaccgcta acccactggc ttcaattgat      600
tctgcattgt caaaagtga cgcagttcgt tcttctctcg gggcaattca aaaccgtttt      660
gattcagcca ttaccsacct ttag

```

<210> 46  
 <211> 227  
 <212> PRT  
 <213> Salmonella dublin

<400> 46

```

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

```

225

<210> 47

<211> 525  
 <212> DNA  
 <213> Salmonella dublin

<400> 47

```

atgcgggggt ctcacatca tcacatcat ggtatggcta gcacgactgg tggacagcaa    60
atgggtcggg atctgtacga cgtgacgat aaggatccgt tcacttctaa tatcaaaggc    120
ctgactcagg ctccccgtaa cgtcaacgac ggcatttcta ttgggcagac cactgaaggt    180
gcgctgaatg aatcaacaa caacctgcag cgtgtgcgtg agttgtctgt tcaggccact    240
aacgggaata actctgattc ccatctgaaa tctatccagg atgaaattca gcaacgtctg    300
gaagaaatcg atcgcgtttc taatcagatc ccgggaattt ccggtggtgg tgggtggaatt    360
ctagactcca tgggtacatt aatcaatgaa gacgctgcag cagcccaagaa aagtaccgct    420
aacccaatgg ctccaattga tctctcattg tcasaaagtg acgcagttcg tctctctctg    480
ggggcaattc aaaaacggtt tgaattcagcc attaccaaac tttag                    525

```

<210> 48  
 <211> 174  
 <212> PRT  
 <213> Salmonella dublin

<400> 48

```

Met Arg Gly Ser His His His His His Gly Met Ala Ser Met Thr
1          5          10
Gly Gly Gln Gln Met Gly Arg Asp Leu Tyr Asp Asp Asp Asp Lys Asp
20          25          30
Pro Phe Thr Ser Asn Ile Lys Gly Leu Thr Gln Ala Ser Arg Asn Ala
35          40          45
Asn Asp Gly Ile Ser Ile Ala Gln Thr Thr Glu Gly Ala Leu Asn Glu
50          55          60
Ile Asn Asn Asn Leu Gln Arg Val Arg Glu Leu Ser Val Gln Ala Thr
65          70          75
Asn Gly Thr Asn Ser Asp Ser Asp Leu Lys Ser Ile Gln Asp Glu Ile
85          90          95
Gln Gln Arg Leu Glu Glu Ile Asp Arg Val Ser Asn Gln Ile Pro Gly
100         105         110
Ile Ser Gly Gly Gly Gly Gly Ile Leu Asp Ser Met Gly Thr Leu Ile
115         120         125
Asn Glu Asp Ala Ala Ala Ala Lys Lys Ser Thr Ala Asn Pro Leu Ala
130         135         140
Ser Ile Asp Ser Ala Leu Ser Lys Val Asp Ala Val Arg Ser Ser Leu
145         150         155         160
Gly Ala Ile Gln Asn Arg Phe Asp Ser Ala Ile Thr Asn Leu
165         170

```

<210> 49  
 <211> 762  
 <212> DNA  
 <213> Salmonella dublin

<400> 49

```

atgcgggggtt ctcctcatca tcctcatcat ggtatggcta gcttgactgg tggacagcaa      60
atgggtoggg atctgtacga ccatgacgat aaggatcoga tggcacasgt catfastaca      120
aacagcctgt cgtctgttgc ccagaataac ctgaacaaat ctcagtcctc actgaattcc      180
gctattgagc gctctgtctc tggctctgcgt atcaacagcg cgaagaagca tgcggcaggc      240
caggcgattg ctaaccgctt cacttctaatt atcaaaagcc tgaactcagc ttcccgtaac      300
gctaacgagc gcatthctat tgcctagacc actgaaggtg cgtctgastga aatcaacaac      360
aacctgcaac gctgtgctga gttctctggt cagggcaata tcccggaat ttccgggtgt      420
ggctggggaa ttctagactc catgggtaca ttaactaatg aagacgctgc cgcagccaag      480
aaaagtacgg ctaaccactt ggtctcaatt gatkcctgat tctcaaaagt ggacgcagtt      540
cgttctcttc tgggggcact tcaaaaaccgt ttctgactcag ccattacca ccttggcaat      600
acggtaacca atctgaactc cgcgcgtagc cgtatcgaag atgctgacta tgcacggaa      660

```

```

gtttctaata tgtctaaagc gcagattctg cagcagcctg gtacttccgt tctggcgag      720
gctaaccagg ttccgcaaaa cgtctctctt tctctgcgtt ag                               762

```

<210> 50

<211> 353

<212> PRT

<213> *Salmonella dublin*

<400> 50

```

Met Arg Gly Ser His His His His His His Gly Met Ala Ser Met Thr
1
Gly Gly Gln Gln Met Gly Arg Asp Leu Tyr Asp Asp Asp Asp Lys Asp
20
Pro Met Ala Gln Val Ile Asn Thr Asn Ser Leu Ser Leu Leu Thr Gln
35
Asn Asn Leu Asn Lys Ser Gln Ser Ser Leu Ser Ser Ala Ile Glu Arg
50
Leu Ser Ser Gly Leu Arg Ile Asn Ser Ala Lys Asp Asp Ala Ala Gly
65
Gln Ala Ile Ala Asn Arg Phe Thr Ser Asn Ile Lys Gly Leu Thr Gln
80
Ala Ser Arg Asn Ala Asn Asp Gly Ile Ser Ile Ala Gln Thr Thr Glu
100
Gly Ala Leu Asn Gln Ile Asn Asn Leu Gln Arg Val Arg Glu Leu
115
Ser Val Gln Ala Thr Ile Pro Gly Ile Ser Gly Gly Gly Gly Gly Ile
130
Leu Asp Ser Met Gly Thr Leu Ile Asn Glu Asp Ala Ala Ala Lys
145
Lys Ser Thr Ala Asn Pro Leu Ala Ser Ile Asp Ser Ala Leu Ser Lys
165
Val Asp Ala Val Arg Ser Ser Leu Gly Ala Ile Gln Asn Arg Phe Asp
180
Ser Ala Ile Thr Asn Leu Gly Asn Thr Val Thr Asn Leu Asn Ser Ala
195
Arg Ser Arg Ile Glu Asp Ala Asp Tyr Ala Thr Glu Val Ser Asn Met
210
Ser Lys Ala Gln Ile Leu Gln Gln Ala Gly Thr Ser Val Leu Ala Gln
225
Ala Asn Gln Val Pro Gln Asn Val Leu Ser Leu Leu Arg
245

```

<210> 51

<211> 537

<212> DNA

<213> *Salmonella dublin*



&lt;400&gt; 51

```

atgggggggt ctcctcatca tcatcctcat ggtatggota gcatgactgg tggacagcaa    60
atgggtcggg stctgtacga cgatgacgat aaggatccga tggcacaagt cattaataca    120
aacagcctgt cgtgttgac ccagaataac ctgaacaaat ctcagtcttc actgagttcc    180
gctattgagc gctctctctc tggctctcgt atcaacagcg cgaaagacga tgcggcaggc    240
caggggattg ctaaccgctt cacttctaat atcaaaagcc tgaactcagc ticcctaac    300
gctaacgacg gcatttctat tgcgcagacc actgaaggtg cgtgaaatga aatcaacaac    360
aacctgcagc gctgtcgtga gttgtctgtt cagggcaata tccccggaat tccccgttgt    420
ggtggtggaa tctagactc catgggtaca ttaatcaatg aagacgctgc cgcagccaag    480
aaaagtaccg ctaccaccct ggcctcaatt gattctgcat tctcaaaagt ggacgcagtt    540
cgttctcttc tgggggcaat tcaaaaacct tctgattcag ccattaccas ccttttag    597

```

&lt;210&gt; 52

&lt;211&gt; 198

&lt;212&gt; PRT

<213> *Salmonella dublin*

&lt;400&gt; 52

```

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

```

&lt;210&gt; 53

&lt;211&gt; 872

&lt;212&gt; DNA

<213> *Salmonella dublin*

&lt;400&gt; 53

```

atggggggtt ctcatcatca tcatcatcat ggtatggcta gcatgactgg tggacagcaa    60
atgggtoggg atctgtacga ccatgacgat aaggstccga tggcacaagt cattaataca    120
aacagcctgt cgctgttgac ccagaataac ctgaacaaat ctcaagtctc actgagttcc    180
gctattgagc gtctgtcttc tggctcgggt atcaacagcg cgaagacga tggggcagge    240
cagggcattg ctaaccgctt cacttotaat atcaaaagcc tgactcagge ttcccgtaac    300
gctaacgaca tcccggaat ttccgggtgt ggtggtgga ttctagactc catgggtaca    360
ttactcaatg aagacyctgc cgcagccaag aasagtacog ctaacccact ggtttcaatt    420
gattctgat tgcctaaaagt ggacgcagtt cgtttcttc tgggggcaat tcaaaacctg    480
tttgattcag ccattaccaa ccttggcaat aogtaacca atctgaactc cgcgcgtagc    540
cgtatcgaag atgctgacta tgcacggaa gtttctasta tctctaaage gcagattctg    600
cagcaggctg gtacttccgt tctggcgcag gctaaccagg ttccgcaaaa cgtctctctc    660
ttactgcgtt ag                                         672

```

<210> 54

<211> 223

<212> PRT

<213> Salmonella dublin

<400> 54

```

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

Gln Ala Ile Ala Asn Arg Phe Thr Ser Asn Ile Lys Gly Leu Thr Gln
85      90      95
Ala Ser Arg Asn Ala Asn Asp Ile Pro Gly Ile Ser Gly Gly Gly Gly
100     105     110
Gly Ile Leu Asp Ser Met Gly Thr Leu Ile Asn Glu Asp Ala Ala Ala
115     120     125
Ala Lys Lys Ser Thr Ala Asn Pro Leu Ala Ser Ile Asp Ser Ala Leu
130     135     140
Ser Lys Val Asp Ala Val Arg Ser Ser Leu Gly Ala Ile Gln Asn Arg
145     150     155     160
Phe Asp Ser Ala Ile Thr Asn Leu Gly Asn Thr Val Thr Asn Leu Asn
165     170     175
Ser Ala Arg Ser Arg Ile Glu Asp Ala Asp Tyr Ala Thr Glu Val Ser
180     185     190
Asn Met Ser Lys Ala Gln Ile Leu Gln Gln Ala Gly Thr Ser Val Leu
195     200     205     210
Ala Gln Ala Asn Gln Val Pro Gln Asn Val Leu Ser Leu Leu Arg
210     215     220

```

<210> 55

<211> 507

<212> DNA

<213> Salmonella dublin

<400> 55

```

atgggggggt ctcctcctca tcatcatcat ggttatggcta gcatgactgg tggacaqcaa      60
atgggtcggg atctgtacga ccatgacgat aaggatccga tggcacaagt cattaataca    120
aacagcctgt cgtctgtgac ccagaaatcc ctgaacaaat ctcagtcctc actgagttcc    180
gcatttgagc gtctgtcttc tggctcgcgt atcaaacagc gaaagacga tgcggcagge    240
caggcgatlg ctaccgctt cacttctaet atcaaaagcc tgaactcaggc ttcocgtaac    300
gctaagaca tcccggaat tcccggtggt ggttggggaa ttctagactc catgggtaca    360
ttaatcaatg aagatcgtgc cgcagccaaq aaaagtaccg ctaaccactc agtttcaatt    420
gattctgcat tgtcaaaagt ggcgcagtt cgttctcttc tgggggcaat tcaaaaccgt    480
tttgattcag ccattaccaa ccttttag

```

<210> 58

<211> 168

<212> PRT

<213> *Salmonella dublin*

<400> 56

```

Met Arg Gly Ser His His His His His His Gly Met Ala Ser Met Thr
1
Gly Gly Gln Gln Met Gly Arg Asp Leu Tyr Asp Asp Asp Asp Lys Asp
20
Pro Met Ala Gln Val Ile Asn Thr Asn Ser Leu Ser Leu Leu Thr Gln
35
Asn Asn Leu Asn Lys Ser Gln Ser Ser Leu Ser Ser Ala Ile Glu Arg
50
Leu Ser Ser Gly Leu Arg Ile Asn Ser Ala Lys Asp Asp Ala Ala Gly
65
Gln Ala Ile Ala Asn Arg Phe Thr Ser Asn Ile Lys Gly Leu Thr Gln
80
Ala Ser Arg Asn Ala Asn Asp Ile Pro Gly Ile Ser Gly Gly Gly Gly
95
Gly Ile Leu Asp Ser Met Gly Thr Leu Ile Asn Glu Asp Ala Ala Ala
110
Ala Lys Lys Ser Thr Ala Asn Pro Leu Ala Ser Ile Asp Ser Ala Leu
125
Ser Lys Val Asp Ala Val Arg Ser Ser Leu Gly Ala Ile Gln Asn Arg
140
Phe Asp Ser Ala Ile Thr Asn Leu
155
160
165

```

Lisboa, 4 de Junho de 2013.

### **REIVINDICAÇÕES**

1. Composição compreendendo flagelina caracterizada por ser utilizada como um medicamento para o tratamento de um tecido de mamífero dos efeitos da reperfusão.
2. Composição compreendendo flagelina para uso como medicamento de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pela reperfusão poder ser causada por uma lesão.
3. Composição compreendendo flagelina para uso como medicamento de acordo com a reivindicação 1, caracterizada por a lesão ser isquemia ou hipóxia.
4. Composição compreendendo flagelina para uso como medicamento de acordo com a reivindicação 3, caracterizada por a isquemia poder ser selecionada a partir do grupo que consiste em taquicardia, enfarte, falha renal aguda, acidente vascular cerebral, hipotensão, embolia, tromboembolia (coágulo de sangue), anemia falciforme, pressão localizada nas extremidades do corpo e tumores.
5. Composição compreendendo flagelina para uso como medicamento de acordo com a reivindicação 3, caracterizada por a hipóxia poder ser selecionada a partir do grupo que consiste em hipóxia hipoxêmica (envenenamento por monóxido de carbono; apneia do sono, doença pulmonar obstrutiva crônica, paragem respiratória; *shunts*), hipóxia anêmica (conteúdo em O<sub>2</sub> reduzido), hipóxia hipoxêmica e hipóxia histotóxica.
6. Composição compreendendo flagelina para uso como medicamento de acordo com a reivindicação 2, caracterizada por a lesão ser selecionada do grupo

consistindo em enfarte do miocárdio, acidente vascular cerebral e lesão renal aguda.

7. Composição compreendendo flagelina para uso como medicamento de acordo com a reivindicação 4, caracterizada por a pressão localizada ser devida a um torniquete.
8. Composição compreendendo flagelina para uso como medicamento de acordo com a reivindicação 1, caracterizada por a composição ser administrada antes de, juntamente com, ou após o influxo de oxigénio.
9. Composição compreendendo flagelina para uso como medicamento de acordo com a reivindicação 1, caracterizada por o tecido ser selecionado do grupo que consiste em: trato gastrointestinal, pulmão, rim, fígado, sistema cardiovascular, endotélio dos vasos sanguíneos, sistema nervoso central, sistema nervoso periférico, músculo, osso e folículo capilar.
10. Composição compreendendo flagelina para uso como medicamento de acordo com a reivindicação 1, caracterizada por a composição ser administrada em combinação com um antioxidante.
11. Composição compreendendo flagelina para uso como medicamento de acordo com a reivindicação 10, caracterizado por o antioxidante ser selecionado do grupo consistindo em amifostina e Vitamina E.
12. Composição compreendendo um agonista do receptor semelhante a Toll 5 (TLR5) caracterizada por ser utilizada como um medicamento para o tratamento de um tecido de mamífero dos efeitos da reperfusão.

Lisboa, 4 de Junho de 2013.

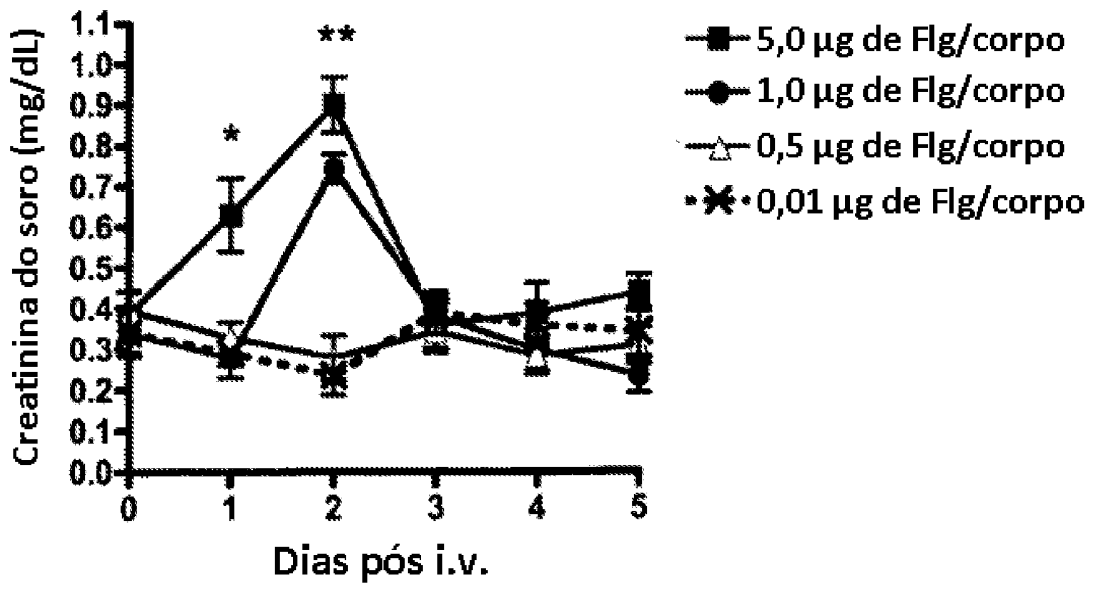


Figura 1

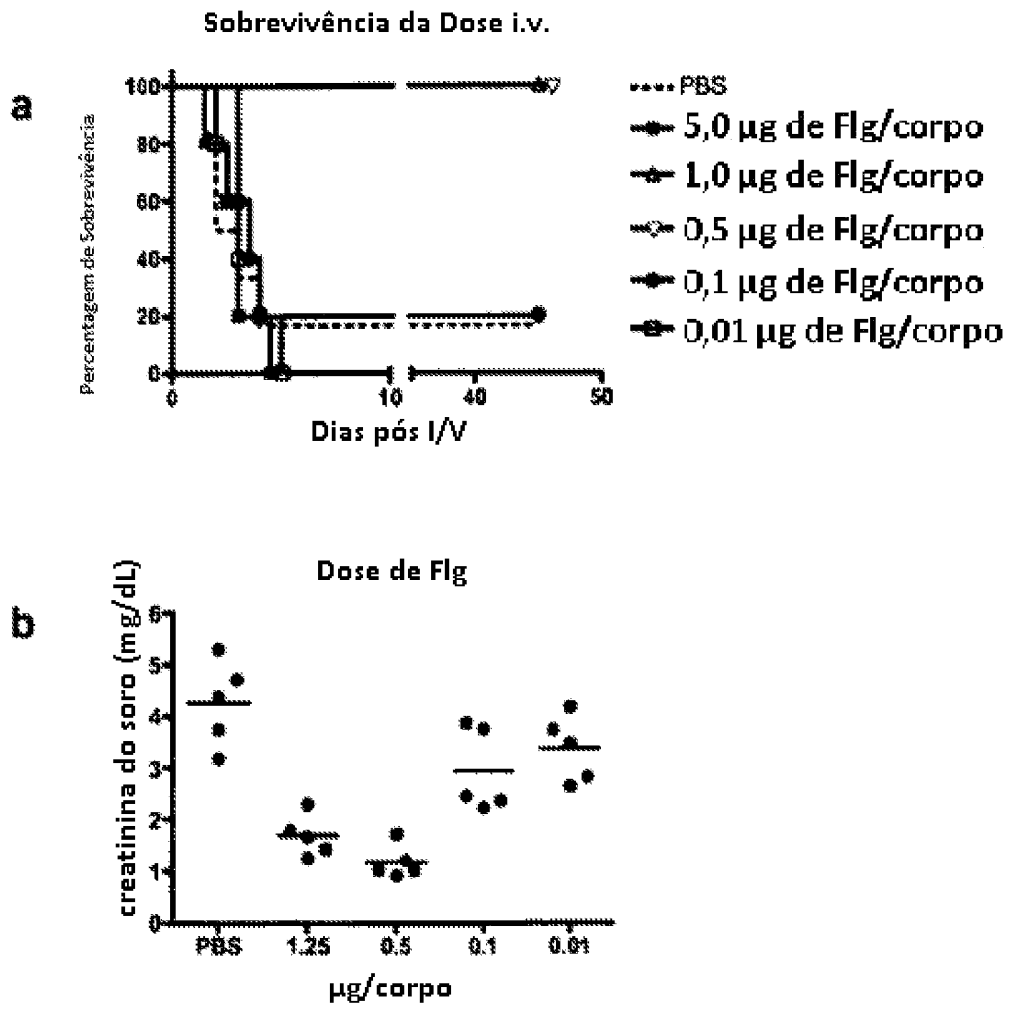


Figura 2

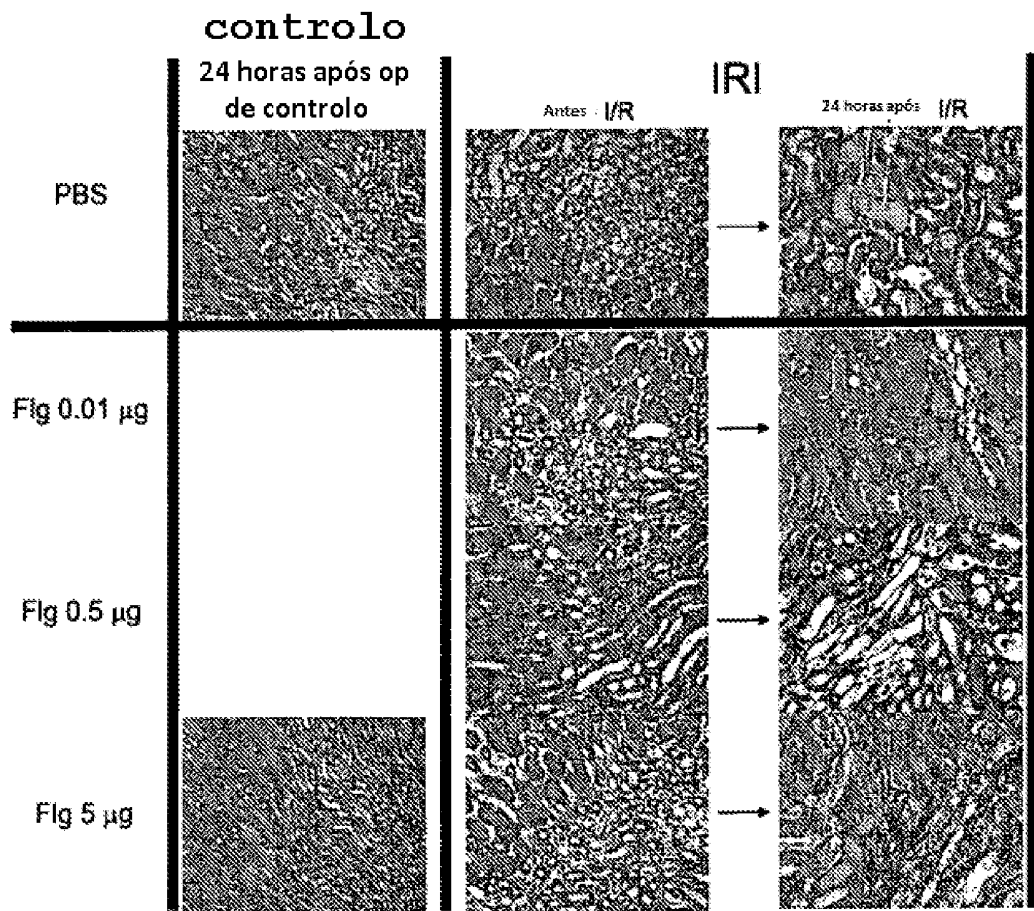


Figura 3



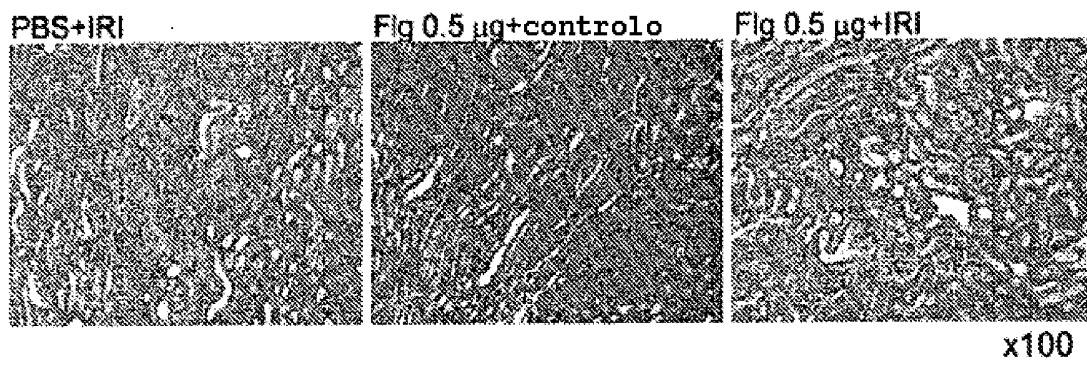
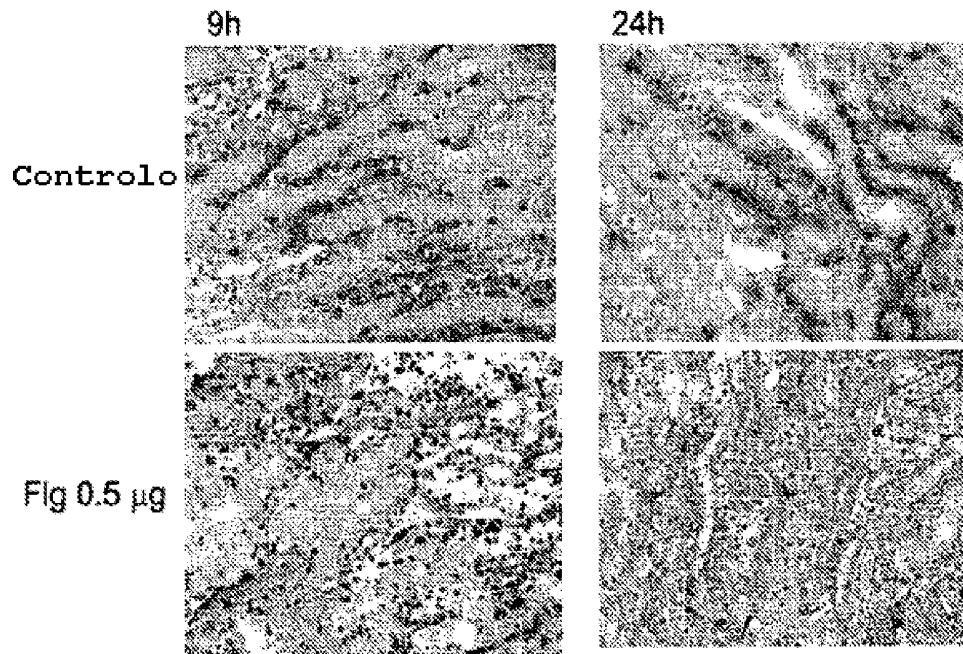
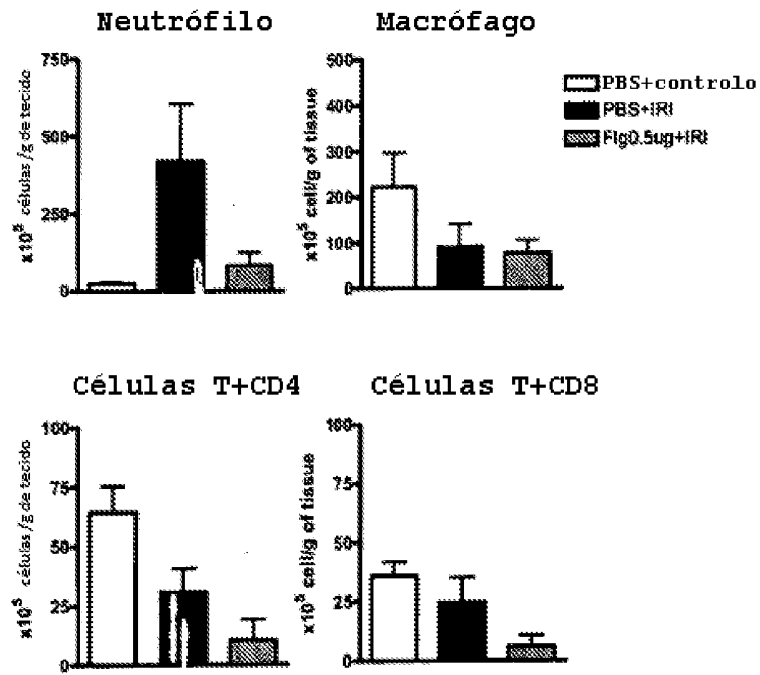


Figura 4



Marcação imuno-histoquímica de RB6, amplificação x200

Figura 5a



24 horas pós I/R

Figura 5b

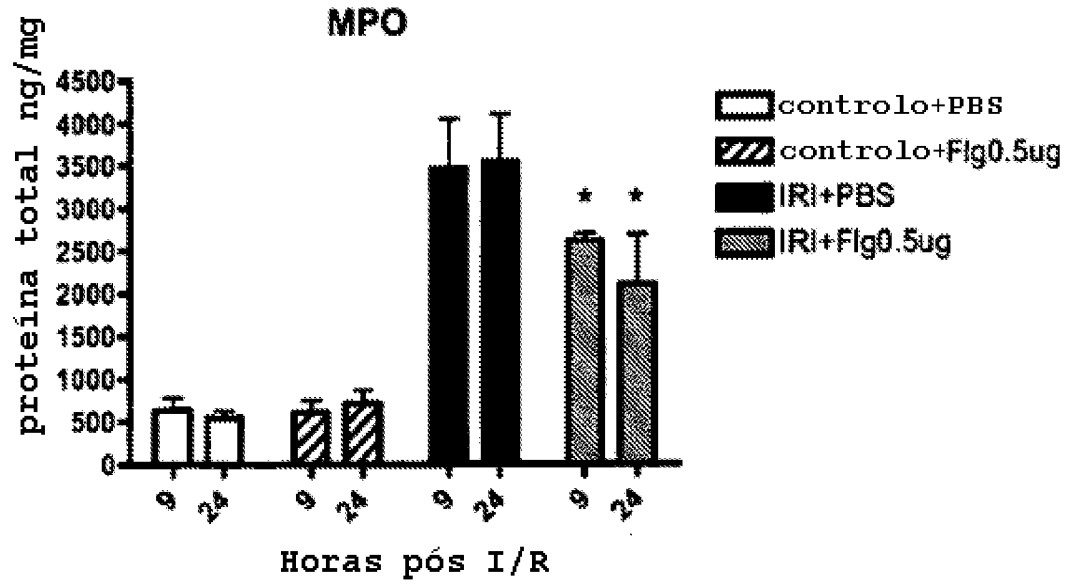


Figura 5c

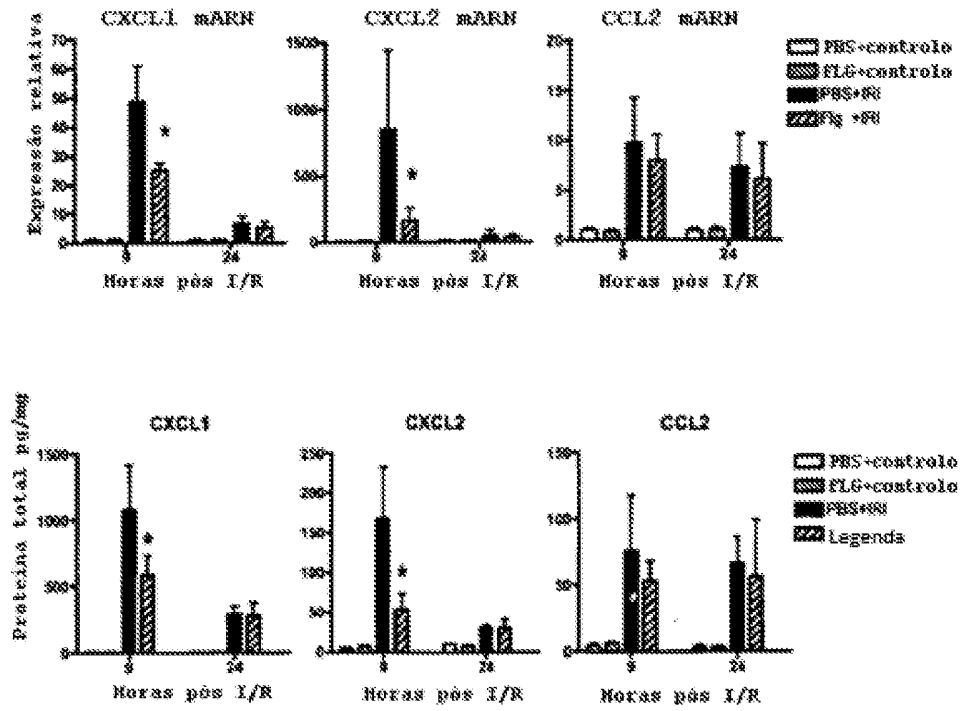


Figura 6

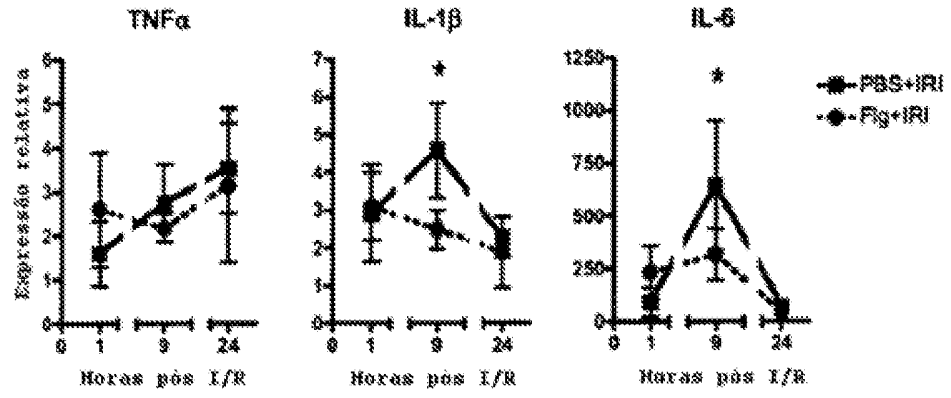


Figura 6b

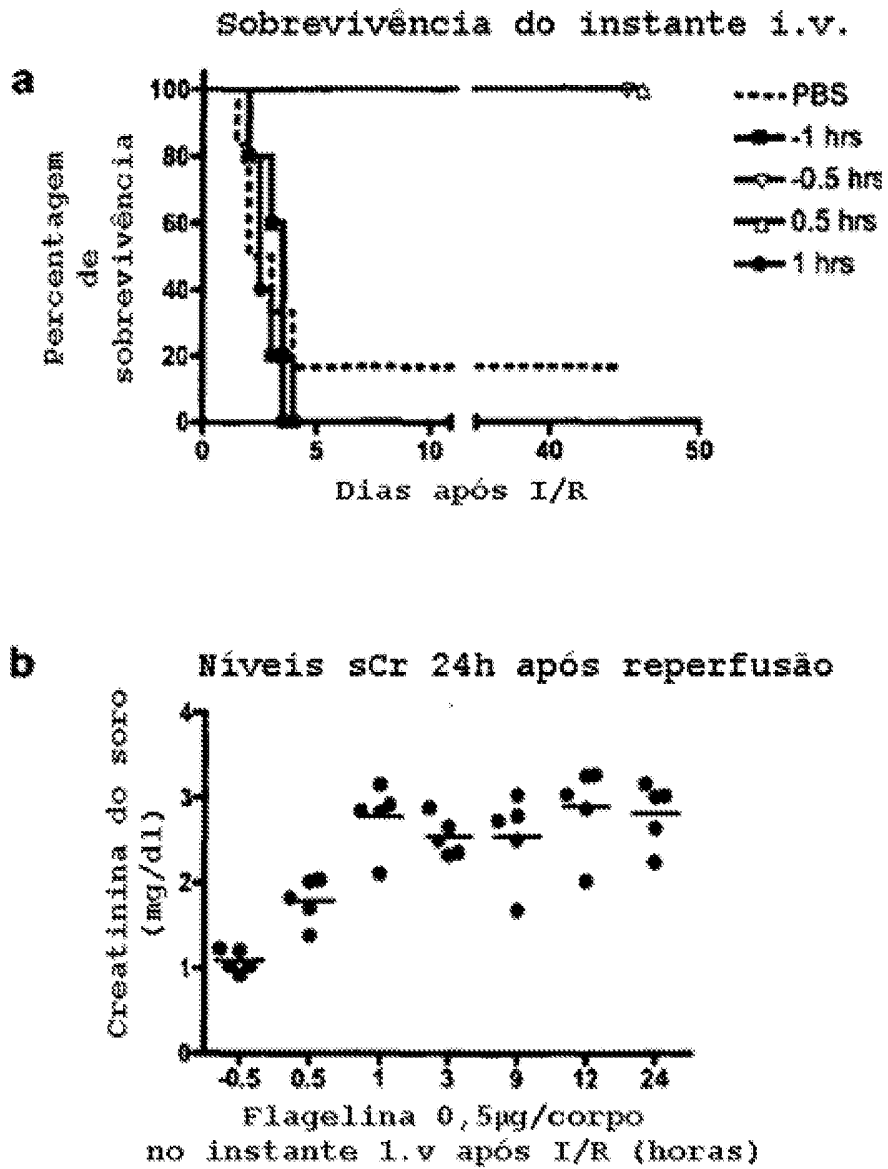


Figura 7

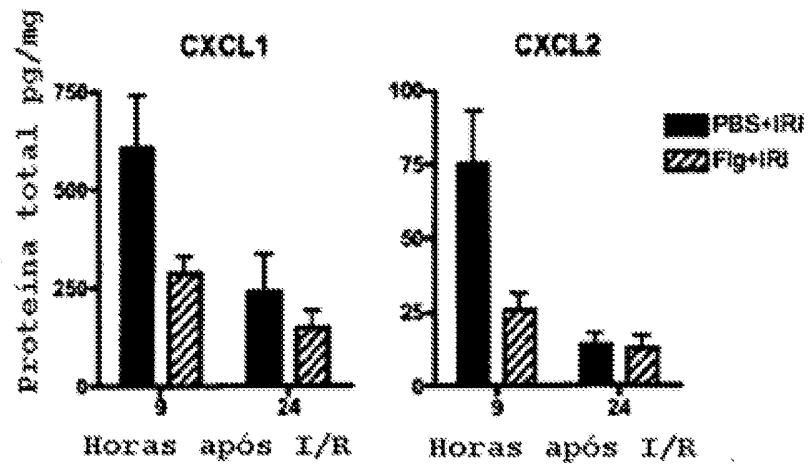


Figura 7c



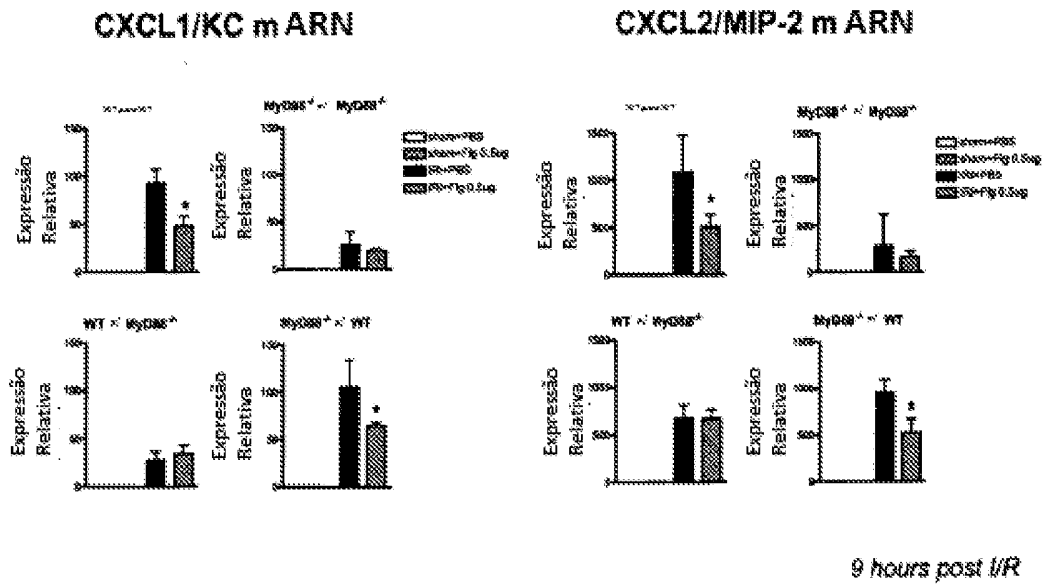


Figura 8

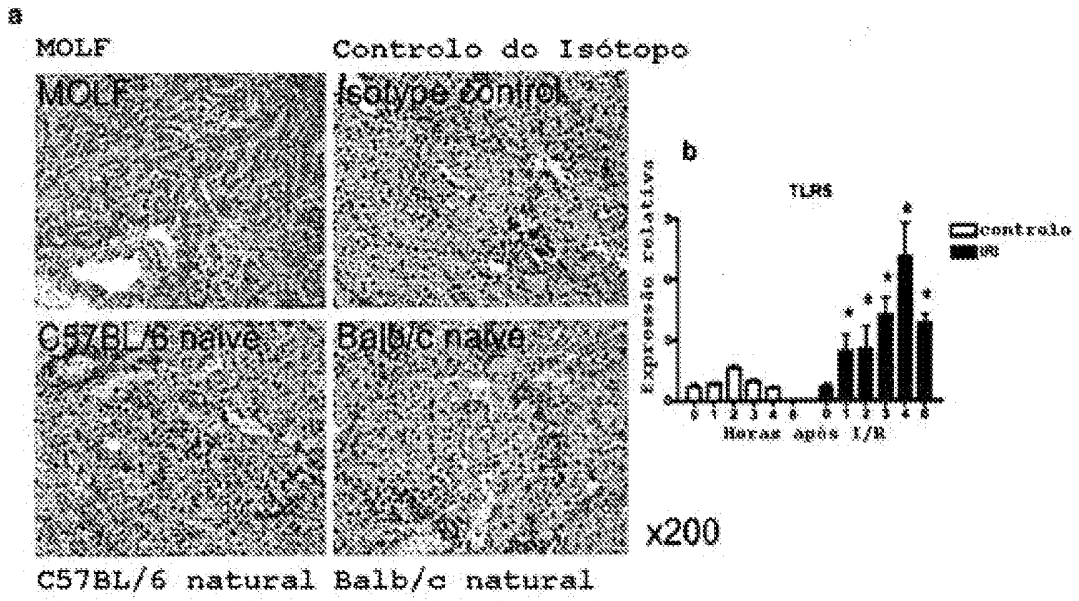


Figura 9

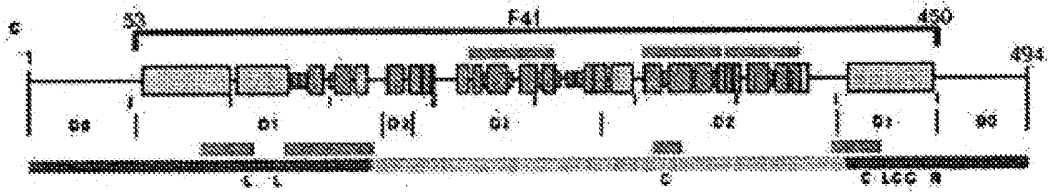


Figura 10

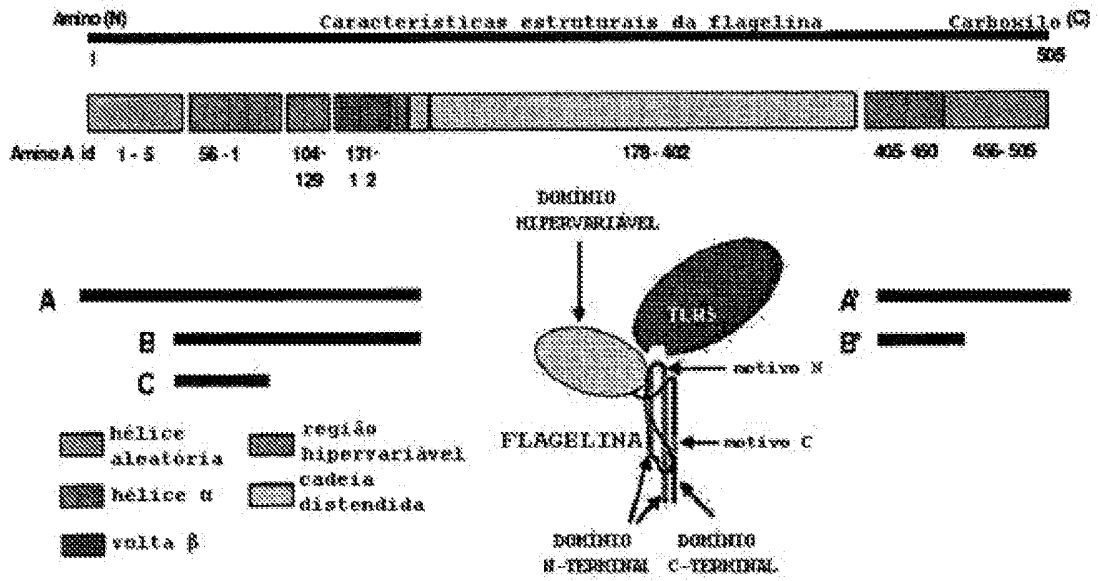


Figura 11

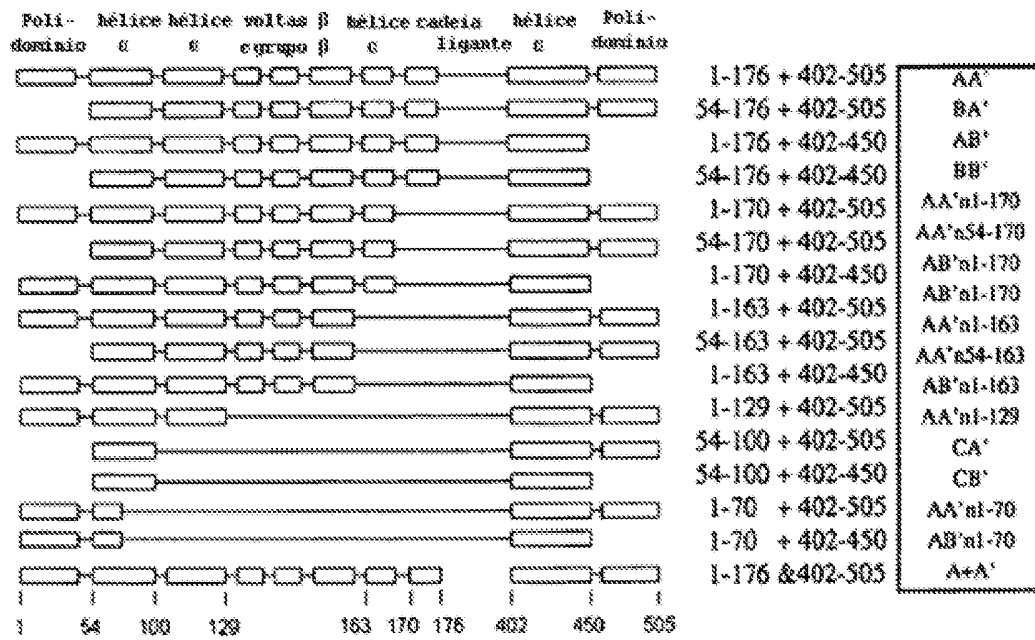


Figura 12

## Figura 13

AA'

Sequência nucleotídica (990 bp):

ATGCGGGGTTCTCATCATCATCATCATCATGTTATGGCTAGCATGACTGGTGGACAGCAA  
 ATGGGTCGGGATCTGTACGACGAAGACGA TAAGGATCCGA TGGCACAAGTCATTAATACA  
 AACAGCCTGTGCGTGTGACCCAGAATAACCTGAACAAATCTCAGTCCTCACTGAGTTCC  
 GCTATTGAGCGTCTGTCTCTGGTCTGCGTATCAACAGCGCGAAAGACGATGCGGCAGGC  
 CAGGCGATTGCTAACCCTTCACTTCTAATATCAAAGGCCGACTCAGGCTTCCCGTAAC  
 GCTAACGACGGCATTCTATTGCGCAGACCAC TGAAGGTGCGCTGAATGAAATCAACAAC  
 AACCTGCAGCGTGTGCGTGTGAGTTGTCTGTTCAGGCCACTAACGGGACTAACCTGATTCC  
 GATCTGAAATCTATCCAGGATGAAATTCAGCAACGCTTGGAAAGAAATCGATCGCGTTTCT  
 AATCAGACTCAATTTAACGGTGTAAAGTCTCTCTCAGGACAACCAGATGAAATCCAG  
 GTTGGTGTAAACGATGGTGAACCAATTACCATCGATCTGCAAAAATTTGATGTGAAAAGC  
 CTTGGCCTTGAATGGCTTCAATGTAAATTCGCCGGGAATTTCCGGTGGTGGTGGGAATT  
 CTAGACTCCATGGGTACATTAATCAATGAAGACGCTGCCCGCAGCCAGAAAAGTACCGCT  
 AACCCACTGGCTTCAATTTGATTCTGCATTTGTCAAAAGTGGACCGCAGTTCTGTTCTTCTG  
 GGGCAATTCAAAACCGTTTTGATTCAGCCATTACCAACCTTGGCAATACGGTAACCAAT  
 CTGAATCCGCGCGTAGCCGATCGAAGATGCTGACTATGCAACCGAAGTTCTAATATG  
 TCTAAGCGCAGATTCTGACAGGCTGGTACTTCCGTTCTGGCGCAGGCTAACCCAGGTT  
 CCGCAAAACGTCCTCTCTTACTGCGTAG

Sequência proteica (329 AA):

MRGSHHHHHGMA SMTGGQQMGRDLYDDDDKDPMAQVINTNSLSLLTQNNLNKSQSSLS SAIERLSS  
 GLRINSAKDDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALNEINNNLQVRRELSVQATN  
 GTNSDSLKLSIQDEIQORLEEIDRVSNQTFNGVKVLSQDNQMKIQVGANDGETITIDLQKIDVKS L  
 GLDGFNVNSPGISGGGGI L D S M G T L I N E D A A A A K K S T A N P L A S I D S A L S K V D A V R S S L G A I Q N R F D  
 S A I T N L G N T V T N L N S A R S R I E D A D Y A T E V S N M S K A Q I L Q Q A G T S V L A Q A N Q V P Q N V L S L L R

AB'

Sequência nucleotídica (825 bp):

ATGCGGGGTTCTCATCATCATCATCATCATGTTATGGCTAGCATGACTGGTGGACAGCAA  
 ATGGGTCGGGATCTGTACGACGAAGACGA TAAGGATCCGA TGGCACAAGTCATTAATACA  
 AACAGCCTGTGCGTGTGACCCAGAATAACCTGAACAAATCTCAGTCCTCACTGAGTTCC  
 GCTATTGAGCGTCTGTCTCTGGTCTGCGTATCAACAGCGCGAAAGACGATGCGGCAGGC  
 CAGGCGATTGCTAACCCTTCACTTCTAATATCAAAGGCCGACTCAGGCTTCCCGTAAAC  
 GCTAACGACGGCATTCTATTGCGCAGACCAC TGAAGGTGCGCTGAATGAAATCAACAAC  
 AACCTGCAGCGTGTGCGTGTGAGTTGTCTGTTCAGGCCACTAACGGGACTAACTCTGATTCC  
 GATCTGAAATCTATCCAGGATGAAATTCAGCAACGCTTGGAAAGAAATCGATCGCGTTTCT  
 AATCAGACTCAATTTAACGGTGTAAAGTCTCTCTCAGGACAACCAGATGAAATCCAG  
 GTTGGTGTAAACGATGGTGAACCAATTACCATCGATCTGCAAAAATTTGATGTGAAAAGC  
 CTTGGCCTTGAATGGGTTCAATGTAAATTCGCCGGGAATTTCCGGTGGTGGTGGGAATT  
 CTAGACTCCATGGGTACATTAATCAATGAAGACGCTGCCCGCAGCCAGAAAAGTACCGCT  
 AACCCACTGGCTTCAATTTGATTCTGCATTTGTCAAAAGTGGACCGCAGTTCTGTTCTTCTG  
 GGGCAATTCAAAACCGTTTTGATTCAGCCATTACCAACCTTTAG

Sequência proteica (274 AA):

MRGSHHHHHHGMASMTGGQQMGRDLYDDDDKDPMAQVINTNSLSLLTQNNLNKSQSSLS SAIERLSS  
 GLRINSAKDDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALNEINNNLQVRRELSVQATN  
 GTNSDSLKLSIQDEIQORLEEIDRVSNQTFNGVKVLSQDNQMKIQVGANDGETITIDLQKIDVRS L  
 GLDGFNVNSPGISGGGGI L D S M G T L I N E D A A A A K K S T A N P L A S I D S A L S K V D A V R S S L G A I Q N R F D  
 S A I T N L

Figura 13

Figura 13, continuação

BA'

Sequência nucleotídica (831 bp):

ATGCCGGGGTTCTCATCATCATCATCATGGTATGGCTAGCATGACTGGTGGACAGCAA  
ATGGGTCCGGGATCTGTACGACGATGACGATAAGGATCCGTTCACTTCTAATATCAAAGGC  
CTGACTCAGGCCTCCCGTAACGCTAACGACGGCATTTCATTGCGCAGACCCTGAAGGT  
GCGCTGAATGAAATCAACAACAACCIGCAGCGGTGCGTGAATGTCTGTTTTCAGGCCACT  
AACGGGACTAACTCTGATCCGATCTGAAATCTATCCAGGATGAAATTCAGCAACGCTCTG  
GAAGAAATCGATCCGCTTCTAATCAGACTCAATTTAACGGTGTAAAGTCCTCTCTCAG  
GACAACCAGATGAAATCCAGGTGGTGGCTAACGATGGTGAAACCATTACCATCGATCTG  
CAAAAATTTGATGTGAAAAGCCTTGGCCCTTGTGGGTTCAAIGTTAAATCCCGGGAATT  
TCCGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGT  
GCAGCCAAGAAAAGTACCGCTAACCCTGCGCTTCAATTGATTCGCAATGTCAAAAGTG  
GACGCAGTTCTCTCTCTCTGGGGCAATTCAAAACCGTTTGGATTCAGCCATTACCAAC  
CTTGGCAATACGGTAACCAATCTGAACCCGCGTAGCCGTAFCGAAGATGCTGACTAT  
GCAACGGAGTTCTTAATATGCTTAAAGCCGAGATTCGACGACGGCTGGTACTTCCGTT  
CTGGCCGAGGCTAACCCAGGTTCCGCAAAACGTTCTCTCTTTAC TCGCTTAG

Sequência proteica (276 AA):

MRGSHHHHHHGMASMTGGQOMGRDLYDDDDKDPFTSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALNEINN  
NLQRVRELSVQATNGTNSDSLKSIQDEIQORLEEDRVSNQTFNGVKVLSQDNQMKIQVGANDGE  
TIIDLQKIDVKSLLGDFNVNSPGISGGGGGILDSMGLINEDAAAARKSTANPLASIDSALSKVD  
AVRSSLGAIQNRFDSAITNLGNTVTLNLSARSRIEDADYATEVSNMSKAQILQQAGTSVLAQANQVP  
QNVLSLLR

BB'

Sequência nucleotídica (666 bp):

ATGCCGGGGTTCTCATCATCATCATCATGGTATGGCTAGCATGACTGGTGGACAGCAA  
ATGGGTCCGGGATCTGTACGACGATGACGATAAGGATCCGTTCACTTCTAATATCAAAGGC  
CTGACTCAGGCCTCCCGTAACGCTAACGACGGCATTTCATTGCGCAGACCCTGAAGGT  
GCGCTGAATGAAATCAACAACAACCIGCAGCGGTGCGTGAATGTCTGTTTTCAGGCCACT  
AACGGGACTAACTCTGATCCGATCTGAAATCTATCCAGGATGAAATTCAGCAACGCTCTG  
GAAGAAATCGATCCGCTTCTAATCAGACTCAATTTAACGGTGTAAAGTCCTCTCTCAG  
GACAACCAGATGAAATCCAGGTGGTGGCTAACGATGGTGAAACCATTACCATCGATCTG  
CAAAAATTTGATGTGAAAAGCCTTGGCCCTTGTGGGTTCAAIGTTAAATCCCGGGAATT  
TCCGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGT  
GCAGCCAAGAAAAGTACCGCTAACCCTGCGCTTCAATTGATTCGCAATGTCAAAAGTG  
GACGCAGTTCTCTCTCTGGGGCAATTCAAAACCGTTTGGATTCAGCCATTACCAAC  
CTTAG

Sequência proteica (221 AA):

MRGSHHHHHHGMASMTGGQOMGRDLYDDDDKDPFTSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALNEINN  
NLQRVRELSVQATNGTNSDSLKSIQDEIQORLEEDRVSNQTFNGVKVLSQDNQMKIQVGANDGE  
TIIDLQKIDVKSLLGDFNVNSPGISGGGGGILDSMGLINEDAAAARKSTANPLASIDSALSKVD  
AVRSSLGAIQNRFDSAITNL

CA'

Sequência nucleotídica (603 bp):

ATGCCGGGGTTCTCATCATCATCATCATGGTATGGCTAGCATGACTGGTGGACAGCAA  
ATGGGTCCGGGATCTGTACGACGATGACGATAAGGATCCGTTCACTTCTAATATCAAAGGC  
CTGACTCAGGCCTCCCGTAACGCTAACGACGGCATTTCATTGCGCAGACCCTGAAGGT

Figura 13, continuação

GGCTGAATGAAATCAACAACAMCTGCAGCGTGGCGTGAGTGTCTGTTCAGGCCACT  
TCCDGGGAATTTCCGGTGGTGGTGGTGGAAATTCAGACTCCATGGGTACATTAACTAAT  
GAAGACCGTCCCGCAGCCAGAAAAGTACCCGTAACCCACTGGCTTCAATTGAATTCGCA  
TTGTCAAAAGTGGAGCGGAGTTCGTTCCTTCCTGGGGCAATTCAAAACCGTTTGGATTCA  
GCCATTACCACCTTGGCAATTCGGTAACCAATCTGAACCTCCGGGTAGCCGTAICGAA  
GATCTGACTATGCAACGGAGTTCCTAATATGCTAAAGCCGAGATTCGCGCAGGCT  
GGTACTCCGTTCTGGGCGAGGCTAACCCAGGTTCCGCAAAACGTCCTCTCTTACTCGGT  
TAG

Sequência proteica (200 AA):

MRGSHHHHHHGMASMTGGQQMGRDLVDDDDKDPFTSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALNEINN  
NLQRVRELSVQATSPGISGGGGGILDSMGTLINEDAAAARKSTANPLASIDSALSKVDAVRSLSGAI  
QNRFDSAITNLGNVTVNLNSARSRIEDADYATEVSNMSKAQILQQAGTFSVLAQANQVPQNVLSLLR

CB'

Sequência nucleotídica (483 bp):

ATGCGGGGTTCTCAATCATCATCATCATGGTATGGCTAGCATGACTGGTGGACAGCAA  
ATGGGTCCGGATCTGTACGACGATGACGATAAGGATCCGTTCACTTCTAATAICAAAGGC  
CTGACTCAGGCTTCCCGTAACGCTAACGACGGCATTTCATATCCGACAGCCATGAAAGT  
GCGCTGATGAAATCAACAACAACTCCAGCGGTGGGAGTGTCTGTTCCGGGCCACT  
TCCCGGGAAATTCGGTGGTGGTGGTGGAAATCTTAGACTCCATGGGTACATTAATCAAT  
GAAGACGCTGCGCAGCCAGAAAAGTACCGCTAACCCACTGGCTCAATTGAATTCGCA  
TGTCAAAAGTGGAGCGGAGTTCGTTCCTTCCTGGGGCAATTCAAAACCGTTTGGATTCA  
GCCATTACCAACCTTAG

Sequência proteica (145 AA):

MRGSHHHHHHGMASMTGGQQMGRDLVDDDDKDPFTSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALNEINN  
NLQRVRELSVQATSPGISGGGGGILDSMGTLINEDAAAARKSTANPLASIDSALSKVDAVRSLSGAI  
QNRFDSAITNL

A

Sequência nucleotídica (639 bp):

ATGCGGGGTTCTCAATCATCATCATCATGGTATGGCTAGCATGACTGGTGGACAGCAA  
ATGGGTCCGGATCTGTACGACGATGACGATAAGGATCCGATCCGCAAGTCAITAAATCA  
ATCAGCTGTGCGCTGTGACCCGAAATAACCTGAACTAAATCTCAGTCCCTCAGTGGTICC  
GCATTTGAGCGTCTGCTCTCTGGTCTGGTATCAACAGCGCGAAGACGATCGGCGCAGGC  
CAGGCGATTCCTAACCCCTTCACCTTCAATATCAAAAGGCTGACTCAGGCCTTCCCGTAAC  
GETAMCGACGGCAATTCATATGCGCAGACCCTGAAAGTCCGCTGAATGAAATCAACRAC  
AACCCTCAGCGTGTGCTGAGTGTCTGTTTCAAGCCACTAAAGGGACTAACCTGATTC  
GATCIGAAAATCTATCCAGGATGAAATTCAGCAACGCTGGAAGAAATCGATCGCGTTCI  
ATLCAAGCTCAATTAAGGCTTAAGTCTGCTCAGGACAACTGATGAAATCCAG  
GTGGCTCAACGATGGTGAACCATTAACCTGATCCTGCAAAAATTAATGAGAAAAGC  
CTTGGCCCTGATGGGTTCAATGTTAATTCGCCGGATGA

Sequência proteica (212 AA), os últimos três aminoácidos são derivados do iniciador e do poliligante pRSETb:

MRGSHHHHHHGMASMTGGQQMGRDLVDDDDKDPFAQVINTNSLSLLTQNNLNKQSLSLSAIERLSS  
GLRINSAKDDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALNEINNNLQRVRELSVQATN  
GTNSDSDLKSIQDEIQORLEEIDRVSNQTFMVGKVLSDQNMKIQVGANOGETITIDLQKIDVKSL  
GLDGFNVNSPFG

Figura 13 (cont.)



Figura 13, continuação

GGCTGAATGAARTCAACACACCTTCACGGGTGGCGGAGITGCTGTTAGCCCACT  
TCCCGGGAATTCGGTGGTGGTGGAAATCTAGACTCCATGGGTACATTAATCAAT  
GAAGACGCTGGCCAGCCAAAGAAAGTACCCCTAACCCACTGGCTTCAATIGATTTCGA  
TTGICAAAGTGGACCGAGTTCCTTCTTCIGGGGCAATTCAAAACCGTTTIGATICA  
GCCATTCCCAACCTTGGCAATACGGTAAACCAATCGAATCCGGCTAGCCCTATCGAA  
GATGCTGACTATGCACGGGAAGTTCTAAATGTCIAAAGCGCGATTCTCCAGCAGCT  
GGTACTTCCGTTCTGCGCAGGCTAACCCAGGTCCCGCAAAACGCTCTCTTACTGGGT  
TAG

Sequência proteica (200 AA):

MRGSHHHHHHGMASMTGGQQMGRDLYDDDDKDPFTSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALNEINN  
NLQRVRELSVQATSPGTSGGGGILDMSGTLINEDAAAARKSTANPLASIOSALSUKVDVRSLSGAI  
QNRFDSAITNLGNVTNLSARSRIEDADYATEVSNMSKAQILQQAGTSVLAQANQVPPQNVLSLLR

CB'

Sequência nucleotídica (403 bp):

ATGCGGGTTCATCATCATCATCATCATGGTATGGCTAGCATGACTGGTGGACAGCAA  
ATGGTCCGGATCTGTACGACGATGACGATAAGGATCCGATTCACITCTAATAICAAAGCC  
CTGACTCAGGCTTCCGGTAAAGCTAACGACGGCAATTCATTTGGTAGAGCCACTGAAGGT  
GGCTTAAATGAATCAACAAACACCTGGCAGGCTGTCGGGAGATTCTCTGTGAGCCCACT  
TCCCGGCAATTCGGTGGTGGTGGAAATCTAGACTCCATGGGATCAATTAATCAAT  
GAAGACGCTGGCCAGCCAAAGAAAGTACCCCTAACCCACTGGCTTCAATIGATTTCGA  
TTGICAAAGTGGACCGAGTTCCTTCTTCIGGGGCAATTCAAAACCGTTTIGATICA  
GCCATTCCCAACCTTGGCAATACGGTAAACCAATCGAATCCGGCTAGCCCTATCGAA  
GATGCTGACTATGCACGGGAAGTTCTAAATGTCIAAAGCGCGATTCTCCAGCAGCT  
GGTACTTCCGTTCTGCGCAGGCTAACCCAGGTCCCGCAAAACGCTCTCTTACTGGGT  
TAG

Sequência proteica (145 AA):

MRGSHHHHHHGMASMTGGQQMGRDLYDDDDKDPFTSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALNEINN  
NLQRVRELSVQATSPGTSGGGGILDMSGTLINEDAAAARKSTANPLASIOSALSUKVDVRSLSGAI  
QNRFDSAITNL

A

Sequência nucleotídica (639 bp):

ATGCGGGTTCATCAATCATCATCATCATCATGGTATGGCTAGCATGACTGGTGGACAGCAA  
ATGGTCCGGATCTGTACGACGATGACGATAAGGATCCGATTCACITCTAATAICAAAGCC  
AACAGCCCTGCGCTGTGACCCAGATTAACCTGAACAAATCTCAGTCTCACIGAGTTCC  
CTATTAGCGTCTGTCTCTTGGTCTGGCTATCAACAGCCGCAAAAGCAGATGGCGCAGGC  
CAAGCGATTGCTAACGCTTTCACTTCTAATATCAANGTCTGACTCAGGERTCCCGTAAC  
GTAAAGCAGCCGATTTCTATTCGGCAGACCCTGAAGTTCGGTGAATGAAATCAACACAC  
AACCTGTAAGCGTGTGCTGAGTTCTCTGTTTCAAGCCACTAACGGGACTAATCTGATTC  
GATCTGAAATCTATCCAGGATGAAATTCAGCAACGCTTGAAGAAATCGATCCGGTTCTI  
AAATGASACTCAATTTACGCTGTTAAGTCTTCTCAGGACACCGATGAAATCCAG  
GTGGTGTAAAGATGTTTGAACCAATTAACATCTGATCTGCAAAAATTTGATGTGAAATC  
CTTGGCTTGTATGGTTCAATGTTAAATGCCCGGATGA

Sequência proteica (212 AA), os últimos três aminoácidos são derivados de iniciador e do poliligante pRSETH:

MRGSHHHHHHGMASMTGGQQMGRDLYDDDDKDPMAQVINTNSLSLTLQNNLNKSQSSLSAIERLSS  
GLRINSAKDDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALNEINNLRVRELSVQATN  
GTNSDSDLKSIQDEIQQRLEEIDRVSNQIQFNGRVLSQDNQMKIQVGANDGETITIDLQRIDVRSI  
GLEGFNVNSPG

Figura 13 (cont.)



Figura 13, continuação

B

Sequência nucleotídica (480 bp):

```

ATGCGGGGTTCTCATCATCATCATCATCATGATGCGTAGCATGACTGGTGGACAGCAA
ATGGGTCGGGATCTGTACAGCATGACGATAGGATCCCTTCACCTTAAATCAAGGT
CTGACTCAGGCTTCCCGTAACGGTARCGACGCGCATTTCATTGGCAGACCCTEAGGT
CGGTGAATGAATCAACAACTTCGACGGTGTGGGGTAGITGTCGTTCAGCCCACT
AACGGACTAGCTTGAATTCGATCGAATGAAATCATCCMGATGAATTCAGCAACGCTG
GAGCAATTCGATCCGCTTCATCAACGCTCAATTTACGGGTGTAAGTCCCTGCTCG
GACCACTGATGAATTCAGGTTGGTGTACGATGATGAACCACTTACCATCGATGTG
CAAAATTTGATGTGAAAGGCTTGGCTTGAATGGTTCAATCTAATTCCTCCAGGATGA

```

Sequência proteica (159 AA), os últimos três aminoácidos são derivados do iniciador e do poliligante pRSETb:  
 MRCSHHHHHGMASMTGGQMGRLYDODDKPFTSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALNEINN  
 NLQRVRELSVQATNGTNSDSLKSLGDEIQORLEEIDRVSNQTFNGVKVLSQBNQMKIQVGANDGE  
 TITIDLQKIDVKSLSLDGFNVN**SPG**

C

Sequência nucleotídica (252 bp):

```

ATGCGGGGTTCTCATCATCATCATCATCATGATGCGTAGCATGACTGGTGGACAGCAA
ATGGGTCGGGATCTGTACAGCATGACGATAGGATCCCTTCACCTTAAATCAAGGT
CTGACTCAGGCTTCCCGTAACGGTARCGACGCGCATTTCATTGGCAGACCCTEAGGT
CGGTGAATGAATCAACAACTTCGACGGTGTGGGGTAGITGTCGTTCAGCCCACT
TCCCGGGATGA

```

Sequência proteica (83 AA), os últimos três aminoácidos são derivados do iniciador e do poliligante pRSETb:  
 MRGSHHHHHGMSMTGGQMGRLYDODDKPFTSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALNEINN  
 NLQRVRELSVQAT**SPG**

GST-A'

Sequência nucleotídica (1038 bp):

```

ATGCGGGGTTCTCATCATCATCATCATCATGATGCGTAGCATGACTGGTGGACAGCAA
ATGGGTCGGGATCTGTACAGCATGACGATAGGATCCCTTCACCTTAAATCAAGGT
CTGACTCAGGCTTCCCGTAACGGTARCGACGCGCATTTCATTGGCAGACCCTEAGGT
CGGTGAATGAATCAACAACTTCGACGGTGTGGGGTAGITGTCGTTCAGCCCACT
TCCCGGGATGA
TCCCGGGATTCGACGGTGTGGGGTAGITGTCGTTCAGCCCACTTACACTCCATG
ATGCGGGGTTCTCATCATCATCATCATCATGATGCGTAGCATGACTGGTGGACAGCAA
ATGGGTCGGGATCTGTACAGCATGACGATAGGATCCCTTCACCTTAAATCAAGGT
CTGACTCAGGCTTCCCGTAACGGTARCGACGCGCATTTCATTGGCAGACCCTEAGGT
CGGTGAATGAATCAACAACTTCGACGGTGTGGGGTAGITGTCGTTCAGCCCACT
TCCCGGGATGA
GELACATIAICAAISGAGAGCGTGGCGAGCCAGCAAAAGTACCGTTACCCACTGGT
ICATITGATCTGGCATTCGCAAAAGTGGACGGGAGTCCGTTCTGCTGGGCGCAATCAA
AACGTTTGAATTCACCATTCGACCTGGTAAACGRTAACCAATCTGACCTGGCG
GHTACCGHTACGAGATGCTTACTATGCAACGGAGTTTCTPATATGCTTAAAGCGCG
ATTTGCACLAGGCTGGTACTTCCGTTCTGCGGAGCTAACCAAGTTCCGCAAAACCGC
CTGCTTACTCCGTTAG

```

Sequência proteica (345 AA):

Figura 13 (cont.)

Figura 13, continuação

MSPTLGVNKRIRGLVQPTRLLEYLEEFYEENLVERDEGDKWRNKKTELGLEFPNLFKYIEGOKLTO  
 SMATIRYIADRHNMLGQCPKERAEISMLEGAULDIRYGVSRILAYSKDFETLKVDFLSKLEPMLKME  
 DRDCHKTYLNGDHYTHPDFMLYDALDVLVLYNDFMCLDAFFKLVCFKRIEALPQIDKYLKSSKYLAW  
 PLOGWQATEFGGDEHPKSDLVPRGSPGISGGGGGILD~~SMGTLINEDAAAAK~~STANPLASIDSALSK  
 VDAVRSSLGAIQNRFD~~SAITNLGNTVTNLSARSRIEDADYATEVSNMSKAQILQOAGTSVLAQANQ~~  
 VPQNVLSLLR

## GST-B'

Sequência nucleotídica (873 bp), GST destacado:

ATGTCGCTTADRTAGGVTATTTSCAAAAATTAAGGCTTTGTGCCAGCCACTCCGATTCCT  
 TTGGARTRIGCTTGAAGAAATATGAAGGCAATTTGTATCAGCGGATGAGGGTGATARA  
 TGCCGAAACAAAAAGCTTGAATTGGGTTTGGAGTTTCCCAATCTTCCTTACTIATAITGAA  
 GGTATGTAAATTAACACAGCTATAGGTCRITATACGTTTATATGCTGACAAAGCAGAC  
 ATGTTGGCTGGTGTCTPALAGACCCGCGAGGATTTCAATCTTGAAGCAGCGGTTTGT  
 CRTATTAGATAGGGGTTCGAGAATTCATATAGTAAGAGCTTGAAACTCTCAAACTT  
 CRTTTCTTAGCAAGTACCGSAAATCCAGAAATGTTCCAGGTCGGTTTTRIGCATARA  
 CRTATTAAATGGGTATCTATTAACCCATCTGACTTCATGTTGATGACCCCTCTTAA  
 GTTGTITATACATGACCCCAATGTCCTGGATGGTTCCTCAAAATTAATTTGGTTTAA  
 AAAGCTATTGAAGCTATCCCAAAATGATAGACTTGTGAAATCCAGTAAGGATATAGA  
 TGGCTTTGACAGGCTGCCAGGCAAGCTTTCGTTGGTGGTGAACATCTCAAAATGCA  
 CTGGTTCGCGGTGGTCCCGGGAATTTCCGGTGGTGGTGGGAATTCAGACTCCATG  
 GGTACATTAATCAATGAAGACGCTGCCCGCAGCCAAGAAAAGTACCGCTAACCCAC TGGCT  
 TCAATTGATTCGCATTGTCAAAGTGGACGCGATTTCGTTCTTCTCTGGGGGCAATTCAA  
 AACCGTITTTGATTCAGCCATFACCAACCTTTAG

Sequência proteica (290 AA):

MSPTLGVNKRIRGLVQPTRLLEYLEEFYEENLVERDEGDKWRNKKTELGLEFPNLFKYIEGOKLTO  
 SMATIRYIADRHNMLGQCPKERAEISMLEGAULDIRYGVSRILAYSKDFETLKVDFLSKLEPMLKME  
 DRDCHKTYLNGDHYTHPDFMLYDALDVLVLYNDFMCLDAFFKLVCFKRIEALPQIDKYLKSSKYLAW  
 PLOGWQATEFGGDEHPKSDLVPRGSPGISGGGGGILD~~SMGTLINEDAAAAK~~STANPLASIDSALSK  
 VDAVRSSLGAIQNRFD~~SAITNL~~

## AAh1-170

Sequência nucleotídica (972 bp):

ATGGGGGTTTCATCATCATCATCATCATGGAATGGCTAGCATGACTGGTGGACAGCAA  
 ATGGGTGGGATCTGTACGACGATGACGATAAGGATCCGATGGCACAAGTCAATTAATACA  
 AACAGCCTGTGCGTGTGACCCAGAAATACCTGAACAAATCTCAGTCTCCACTGAGTTC  
 GCTATTGAGCGTCTGTCTCTGGTCTCGGTATCAACAGCGCAAGAGCGATGCGGCAGGC  
 CAGCGGATTCGTAACCGCTTCACTTCTAATATCAAAGGCTGACTCAGGCTTCCCGTAAC  
 GCTAACGACGGCATTTCTATTGCGCAGACCACTGAAGGTGCGCTGAATGAAATCARCAAC  
 AACCTGCAGCGTGTGGGTGAGTGTCTGTTTCCAGCCACTAACGGGACTAACTCTGATTCC  
 GATCTGAAATCTATCCAGGATGAAATTCAGCAAGCTCTGGAAGAAATCGATCCCGTTTCT  
 AATCGACTCAATTTAACGGTGTAAAGTCTCTCTCAGGACAACCCAGATGAAATCCAG  
 GTTGGTGTCAACGATGTTGAAACCAATACCATCGATCTGCAAAAATTTGATGTGAAAAGC  
 CTTGGCTTATCCCGGGAATTTCCGGTGGTGGTGGTGGGAATTCAGACTCCATGGGTACA  
 TTAATCAATGAAGACGCTGCCCGCAGCCAAGAAAAGTACCGCTAACCCACTGGCTTCAATT  
 GATTCGCATTGTCAAAGTGGACGCGATTTCGTTCTTCTCTGGGGGCAATTCAAAACCGT  
 TTTGATTCAGCCATFACCAACCTTGGCAATACGGTAACCAATCTGAACCTCCGCGGTAGC  
 CGTATCGAAGATGCTGACTATGCAACGGAAGTTCTAATATGTTCAAAGCGCAGATTCGTG  
 CAGCAGGCTGGTACTTCCGTTCTGGCGCAGGCTAACCGGTTCCGCAAAACGTTCTCTCT

Figura 13 (cont.)

**Figura 13, continuação**

TIAC TGGGTTAG

Sequência proteica (323 AA):

M R G S H H H H H H G M A S M T G G Q Q M G R D L Y D D D D K D P M A Q V I N T N S L S L L T Q N N L N K S Q S S L S S A I E R L S S  
G L R I N S A K D D A A G Q A I A N R F T S N I K G L T Q A S R N A N D G I S I A Q T T E G A L N E I N N N L Q R V R E L S V Q A T N  
G T N S D S D L K S I Q D E I Q O R L E E I D R V S N Q T Q F N G V K V L S Q D N Q M K I Q V G A N D G E T I T I D L O K I D V K S L  
G L I P G I S G G G G G I L D S M G T L I N E D A A A K K S T A N P L A S I D S A L S K V D A V R S S L G A I Q N R F D S A I T N L  
G N T V T N L N S A R S R I E D A D Y A T E V S N M S K A Q I L Q Q A G T S V L A Q A N Q V P Q N V L S L L R

**AA'n1-163**

Sequência nucleotídica (951 bp):

A T G C G G G G T T C T C A T C A T C A T C A T C A T C A T G G T A T G G C T A G C A T G A C T G G T G G A C A G C A A  
A T G G G T C G G G A T C T G T A C G A C G A T G A C G A T A A G G A T C C G A T G G C A C A A G T C A T T A A T A C A  
A A C A G C C T G T C G C T G T T G A C C C A G A A T A A C C T G A A C A A A T C C A G T C C T C A C T G A G T T C C  
G C T A T T G A G C G T C T G T C C T C T G G T C T G C G T A T C A A C A G C G C G A A A G A C G A T G C G G C A G G C  
C A G G C G A T T G C T A A C C G C T T C A C T T C T A A T A T C A A A G G C C T G A C T C A G G C T T C C C G T A A C  
G C T A A G C A C G G C A T T T C T A T T G C G C A G A C C A C T G A A G G T G C G C T G A A T G A A A T C A A C A A C  
A A C C T G C A G C G T G T G C G T G A G T T G T C T G T T C A G G C C A C T A A C G G G A C T A A C T C T G A T T C C  
G A T C T G A A A T C T A T C C A G G A T G A A A T T C A G C A A C G T C T G G A A G A A A T C G A T C G C G T T T C I  
A A T C A G A C T C A A T T T A A C G G T G T T A A A G T C C T C T C T C A G G A C A A C C A G A T G A A A A T C C A G  
G T T G G T G C T A A C G A T G G T G A A C C A T T A C C A T C C A T C T G C A A A A A A T T A T C C C G G A A P T  
T C C G G T G G T G T T G G T G G A A T T C T A G A C T C C A T G G G T A C A T T A A T C A A T G A A G A C G C T G C C  
G C A G C C A A G A A A A A G T A C C G C T A A C C C A C T G G C T T C A A T T G A T T C T G C A T T G C A A A A G T G  
G A C G C A G T T C G T T C T C T C T G G G G C A A T T C A A A A C C G T T T G A T T C A G C C A T T A C C A A C  
C T T G C A A T A C G G T A A C C A A T C T G A A C T C C G C C G T A G C C G T A T C G A A G A T G C T G A C T A T  
G C A A C G G A A G T T T C T A A T A T G C T A A A G C C A G A T T C T G C A G C A G G C T G G T A C T T C C G T T  
C T G G C G A G G C T A A C C A G G T T C C G C A A A C G T C C T C T C T T A C T G C G T T A G

Sequência proteica (316 AA):

M R G S H H H H H H G M A S M T G G Q Q M G R D L Y D D D D K D P M A Q V I N T N S L S L L T Q N N L N K S Q S S L S S A I E R L S S  
G L R I N S A K D D A A G Q A I A N R F T S N I K G L T Q A S R N A N D G I S I A Q T T E G A L N E I N N N L Q R V R E L S V Q A T N  
G T N S D S D L K S I Q D E I Q O R L E E I D R V S N Q T Q F N G V K V L S Q D N Q M K I Q V G A N D G E T I T I D L O K I I P G I S  
G G G G G I L D S M G T L I N E D A A A K K S T A N P L A S I D S A L S K V D A V R S S L G A I Q N R F D S A I T N L G N T V T N L  
N S A R S R I E D A D Y A T E V S N M S K A Q I L Q Q A G T S V L A Q A N Q V P Q N V L S L L R

**AA'n154-170**

Sequência nucleotídica (813 bp):

A T G C G G G G T T C T C A T C A T C A T C A T C A T C A T G G T A T G G C T A G C A T G A C T G G T G G A C A G C A A  
A T G G G T C G G G A T C T G T A C G A C G A T G A C G A T A A G G A T C C G T T C A C T T C T A A T A T C A A A G G C  
C T G A C T C A G G C T T C C C G T A A C G C T A A C G A C G G C A T T T C T A T T C C G C A C C A C T G A A G G T  
G C G C T G A A T G A A A T C A A C A A C A C C T G C A G C G T G T G C G T G A G T G T C T G T T C A G G C C A C I  
A A C G G G A C T A A C T C T G A T T C C G A T C T G A A A T C T A T C C A G G A T G A A A T T C A G C A A C G T C I G  
G A G A A A T C G A T C C G T I I C T A A T C A G A C T C A A T T A A C G G T G T T A A A G T C C T C T C T C A G  
G A C A A C C A G A T G A A A A T C C A G G T T G S T G C T A A C G A T G G T G A A A C C A T T A C C A T C G A T C T G  
C A A A A A T T G A T S T G A A A A G C C T T G S C C T T A T C C C G G A A T T T C C G G T G G T G G T G G A  
A F T T A G A C T C C A T G G G T A C A T T A A T C A A T G A A G A C G C T G C C G C A G C C A A G A A A G T A C C  
G C T A A C C A C T G G C T T C A A T T G A T T C T G C A T T G C A A A A G T G G A C G C A G T T C G T T C T C T C T  
C T G G G G C A A T T C A A A C C G T T T G A T T C A G C C A T T A C C A A C C T T G C C A A T A C G G T A A C C  
A A T C T G A A C T C C G C C G T A G C C G T A T C G A A G A T G C T G A C T A T G C A A C G G A A G T T C T A A T  
A T G T C T A A A G C C A G A T T C T G C A G C A G G C T G G T A C T T C C G T T T G G C C A G G C T A A C C A G  
G T T C C G C A A A C G T C C T C T C T T A C T G C G T T A G

Figura 13 (cont.)

**Figura 13, continuação**

Sequência proteica (270 AA):

MRGSHHHHHHGMASMTGGQQMGRDLYDDDDKDPFTSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALNEINN  
NLQVRVRELSVQATNGTNSDSLKSIQDEIQORLEEIDRVSNQTFQNGVKVLSQDNQMKIQVGANDGE  
TITIDLQKIDVKSGLLIPGISGGGGGILD SMGTLINEDAAAARKS TANPLASIDSALS KVDVRS SL  
GAIQNRFD SAITNLGNTVTLNLSARSRIEDADYATEVSNMSKAQILQQAGTSVLAQANQVPQNVLSL  
LR

AA'n54-163

Sequência nucleotídica (792 bp):

ATCGGGGTTCATCATCATCATCATGGAATGGCTAGCATGACTGGTGGACAGCAA  
ATGGGTGGGATCTGTACGACGATGACGATAAGGATCCGTTCACTTCTAATA TCAAAGGC  
CTGACTCAGGCTTCCGSTRACGCTAACGACGGCATTTCATTGGCAGACCCTGAAGGT  
GCGCTGAATGAAATCAACAACAACCIGCAGCGTGTGGGTGAGTGTGCTGTTCAGGCCACT  
AACGGGACTAACCTCTGATTCGATTCGAAATCTATCCAGGATGAAATTCAGCAACGCTCTG  
GAAGAAATCGATCGGTTTCTAATCAGACTCAATTTAACGGTGTAAAGTCCCTCTCTCAG  
GACAACCAGATGAAAATCCAGGTTGGTGCTAACGATGGTGAACCAATTACCAATCGATCTG  
CAAAAATATCCCGGAATTTCCGTTGGTGGTGGTGGTAATTTAGACTCCATGGGTACA  
TTAATCAATGAAGACGCTGCCGCAGCCAAAGAAAAGTACCGCTAACCCACTGGCTTCAATT  
GATTCTGCATTGTCAAAGTGGACGCAGTTCGTTCTTCTCTGGGGCAATTCAAAACCGT  
TTTGATTGAGCCATTACCAACCTTGGCAATACGTAACCAATCTGAATCCCGCGCTAGC  
CGTATCCAGATSCGTACTATGCAACCGAAGTTTCTAATATGCTAAAGCCCGATTTCTG  
CAGCAGGCTGGTACTTCCGTTCTIGGCCAGGCTAACCGGTTCCGCAAAACGTCCTCTCT  
TTACTGCGTTAG

Sequência proteica (263 AA):

MRGSHHHHHHGMASMTGGQQMGRDLYDDDDKDPFTSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALNEINN  
NLQVRVRELSVQATNGTNSDSLKSIQDEIQORLEEIDRVSNQTFQNGVKVLSQDNQMKIQVGANDGE  
TITIDLQKIIPGISGGGGGILD SMGTLINEDAAAARKS TANPLASIDSALS KVDVRS SLGAIQNRF  
DSAITNLGNTVTLNLSARSRIEDADYATEVSNMSKAQILQQAGTSVLAQANQVPQNVLSLLR

AB'n1-170 (or AA'n1-170:402-450)

Sequência nucleotídica (807 bp):

ATCGGGGTTCATCATCATCATCATGGAATGGCTAGCATGACTGGTGGACAGCAA  
ATGGGTGGGATCTGTACGACGATGACGATAAGGATCCGATGGCACAAGTCAATTAATACA  
AACAGCCTGTGGCTGTGACCCAGAATAACCTGAACAAATTCAGTCTCTACTGAGTTCC  
GCTATTGAGCGTCTGTCTCTGGTCTGCGTATCAACAGCGGAAAGACGATGCCGCGGGC  
CAGGCGATTGCTAACCCCTTCACTTCTAATATCAAAGCCCTGACTCAGSCTTCCCGTAAAC  
GCTAACGACGGCATTTCATTGGCAGACCCTGAAGGTGGCTGAATGAAATCAACAAC  
AACCTCAGCGTGTGCTGAGTGTCTGTTCAAGCCACTAACGGGACTAACTCTGATTTCC  
GATCTGAATCTATCCAGGATGAAATTCAGCAACGCTGGAAGAAATCGATCGCTTCT  
AATCAGACTCAATTTAACGGTGTAAAGTCCCTCTCTCAGGACAAACGATGAAAATCCAG  
GTGGTGCCTAACGATGGTGAACCAATACCATCGATCTGCAAAAATTCATGTGAAAAGC  
CTTGGCTTATCCCGGAAATTTCCGTTGGTGGTGGTGGTAATTTAGACTCCATGGGTACA  
TTAATCAATGAAGACGCTGCCGCAGCCAAAGAAAAGTACCGCTAACCCACTGGCTTCAATT  
GATTCTGCATTGTCAAAGTGGACGCAGTTCGTTCTTCTCTGGGGCAATTCAAAACCGT  
TTTGATTGAGCCATTACCAACCTTTAG

Sequência proteica (268 AA):

MRGSHHHHHHGMASMTGGQQMGRDLYDDDDKDPMAQVININSL SLLTQNNLNKSSSLSSATERLSS  
GLRINSARDDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALNEINN LQVRVRELSVQATN

## Figura 13, continuação

GTNSDSLKSIQDEIQORLEEIDRVSNQTFNGVKVLSQDNQMKIQVGANDGETITIDLQKIDVKSL  
GLIPGISGGGGIILDSMGTLINEDAAAANKSTANPLASIDSALSKVDAVRSSLGAIQNRFDASITNL

AB'nl-163 (or AA'nl-163c402-450)

Sequência nucleotídica (786 bp):

ATGGGGGGTTCTCATCATCATCATCATCATGGTATGGCTAGCATGACTGGTGGACAGCAA  
ATGGGTGGGATCTGTACGACGATGACGATAAGGATCCGATGGCACANGTCATTAATACA  
AACAGCCTGTGCTGTGACCCAGAAATAACCTGAACAAATCTCAGTCCTCACTGAGTTCC  
GCTATTGAGCGTCTGTCTCTGGTCTGGGTATCAACAGCCGAAAGACGATGCGGCAGGC  
CAGGCGATTGCTAACCCTTCACTTCTAATAATCAAAGGCCCTGACTCAGGCTTCCCGTAAC  
GCTAACGACGGCATTTCATTTGCSGACAGCCACTGAAGGTGGCTGAATGAAATCAACAAC  
AACCTGCAGCGTGTGGGTGAGTTGTCTGTTGAGCCACTAACGGGACTAACCTTGATTCC  
GATCTGAAATCTATCCAGGATGAAATTCAGCAACGCTTGGAAAGAAATCGATCGCGTTTCT  
AATCAGACTCAATTTAAGCGGTGTTAAAGTCTCTCTCAGGACAACCAGATGAAATCCAG  
GTTGGTGCTAACGATGGTGAACCAATACCATCGATCTGCAAAAAATATCCCGGGAATT  
TCCGGTGGTGGTGGTGAATTCAGACTCCATGGGTACATTATCAATGAAGACGCTGCC  
GCAGCCAAAGAAAGTACCGCTAACCCACTGGCTTCAATIGATTCTGCATTGTCAAAAGTG  
GACGCAGTTCTTCTCTGCGGGCAATTCRAAACCGTTTTGATTAGCCATTACCAAC  
CTTTAG

Sequência proteica (261 AA):

MRGSHHHHHHGMASMTGGQQMGRDLYDDDDKDPMAQVINTNSLSLLTQNNLNKSQSSLSIAIERLSS  
GLRINSADDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALNEINNNLQVRRELSVQATN  
GTNSDSLKSIQDEIQORLEEIDRVSNQTFNGVKVLSQDNQMKIQVGANDGETITIDLQKIPGIS  
GGGGGIILDSMGTLINEDAAAANKSTANPLASIDSALSKVDAVRSSLGAIQNRFDASITNL

AA'nl-129

Sequência nucleotídica (849 bp):

ATGGGGGGTTCTCATCATCATCATCATCATGGTATGGCTAGCATGACTGGTGGACAGCAA  
ATGGGTGGGATCTGTACGACGATGACGATAAGGATCCGATGGCACANGTCATTAATACA  
AACAGCCTGTGCTGTGACCCAGAAATAACCTGAACAAATCTCAGTCCTCACTGAGTTCC  
GCTATTGAGCGTCTGTCTCTGGTCTGGGTATCAACAGCCGAAAGACGATGCGGCAGGC  
CAGGCGATTGCTAACCCTTCACTTCTAATAATCAAAGGCCCTGACTCAGGCTTCCCGTAAC  
GCTAACGACGGCATTTCATTTGCGCAGACCCTGAAGGTGGCTGAATGAAATCAACAAC  
AACCTGCAGCGTGTGGGTGAGTTGTCTGTTGAGCCACTAACGGGACTAACCTTGATTCC  
GATCTGAAATCTATCCAGGATGAAATTCAGCAACGCTTGGAAAGAAATCGATCGCGTTTCT  
AATCAGATCCCGGGAATTTCCGGTGGTGGTGGTGAATTCAGACTCCATGGGTACATTAT  
ATCAATGAAGACGCTGCGCGAGCCAAGAAAGTACCGCTAACCCACTGGCTTCAATIGAT  
ICTGCATTGTCAAAAGTGGACCGAGTTCGTTCTTCTCTGGGGCAATTCRAAACCGTTTT  
GATTCAGCCATTACCAACCTTGGCAATACGGTAACCAATCGAATCCCGCGTAGCCGT  
ATCGAAGATGCTGACTATGCAACGGGAAGTTCTAATATGCTCAAAGCGCAGATTCTGCAG  
CAGGCTGGTACTTCCGTTCTGGCGCAGGCTAACCGGTTCCGCAAAACGTCCTCTCTTA  
CTGCGTTAG

Sequência proteica (282 AA):

MRGSHHHHHHGMASMTGGQQMGRDLYDDDDKDPMAQVINTNSLSLLTQNNLNKSQSSLSIAIERLSS  
GLRINSADDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALNEINNNLQVRRELSVQATN  
GTNSDSLKSIQDEIQORLEEIDRVSNQTFNGVKVLSQDNQMKIQVGANDGETITIDLQKIPGIS  
GGGGGIILDSMGTLINEDAAAANKSTANPLASIDSALSKVDAVRSSLGAIQNRFDASITNL  
GNVTNLNSARSRIEDADYATEVSNMMSKAQILQQAGTSVLA  
QANQVPQNVLSLLR

Figura 13 (cont.)

**Figura 13, continuação**

**AA'n54-129**

**Sequência nucleotídica (690 bp):**

ATGCCGGGTTCTCATCATCATCATCATCATGGTATGGCTAGCATGACTGGTGGACAGCAA  
 ATGGGTCCGGATCTGTACGACGATGACGATAAGGATCCGTTCACTTCTAATATCAAAGGC  
 CTGACTCAGGCTCCCGTAACGCTAACGACGGCATTCTATTGCGCAGACCACTGAAGGT  
 GCGCTGAATGAAATCAACAACAACCTGCAGCGGTGGCGTGGAGTTGTCTGTTCAGGCCACT  
 AACGGGACTAACTCTGATCCGGATCTGAAATCTATCCAGCATGAAATTCAGCAACGCTCG  
 GAAGAATCGATCGCGTCTCTAATCAGATCCCGGGAATTCGGGTGGTGGTGGTGGAAAT  
 CTAGACTCCAATGGGTACATTAATCAATGAAGACGCTGCCGACCCAAAGAAAAGTACCGCT  
 AACCCACTGGCTTCAATGTATCTGCATTGTCAAAGTGGACGCGAGTTCTGTCTCTCTG  
 GGGCAATTCAAAACCGTTTTTGATTCAGCCATTACCAACCTTGGCAATACGGTAACCAAT  
 CTGAATCCCGCGTAGCCGTATCGAAGATGCTGACTATGCAACGGAAGTTCTAATATG  
 TCTAAGCGCAGATTCTGCAGCAGGCTGGTACTTCGGTCTGCGCCAGGCTAACCGGTT  
 CCGCAAACGTCCTCTCTTTACTGCGTTAG

**Sequência proteica (229 AA):**

MRGSHHHHHHGMASMTGGQQMGRDLYDDDDKDPFTSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALNEINN  
 NLQVRVRELSVQATNGTNSDSLKSIQDEIQORLEEIDRVSNQIPGISGGGGGILDSMGTLINEDAAA  
 AKKSTANPLASIDSALSKVDAVRSSLGAIQNRFDSAITNLGNTVTNLNSARSRIEDADYATEVSNMS  
 KAQILQQAGTSVLAQANQVPPQNVLSLLR

**AB'nl-129**

**Sequência nucleotídica (684 bp):**

ATGCCGGGTTCTCATCATCATCATCATCATGGTATGGCTAGCATGACTGGTGGACAGCAA  
 ATGGGTCCGGATCTGTACGACGATGACGATAAGGATCCGATGCCACAAGTCATTAATACA  
 AACAGCCTGTGCGTGTGACCCAGAATAACCTGAACAATCTCAGTCTCACTGAGTTCC  
 GCTATTGAGCGTCTGTGCTCTGGTCTGCGTATCAACAGCGCEAAAGACGATCGCGCAGGC  
 CAGGCGATTGCTAACCGCTTCACTTCTAATATCAAAGGCTGACTCAGGCTCCCGTAA  
 GCTAACGACGGCATTCTAATTGCGCAGACCACTGAAGGTGGCGCTGAATGAAATCAACAAC  
 AACCTGCAGCGGTGTGCGTGAGTGTCTGTTCAGGCCACFAACGGGACTAARTCTGATTC  
 GATCTGAATCTATCCAGGATGAAATTCAGCAACGCTCTGAAGAANTCGATCGCGTTCT  
 AATCAGATCCCGGGAATTCGGTGGTGGTGGTGGAAATCTAGACTCCAATGGGTACATTA  
 ATCAATGAAGACGCTGCCGACCCAAAGAAAAGTACCGCTAACCCACTGGCTTCAATGTAT  
 TCTGCATTGTCAAAAAGTGGACGCAGTTTCGTTCTCTCTGCGGGCAATTCAAAACCGTTTT  
 GATTCAGCCATTACCAACCTTAG

**Sequência proteica (227 AA):**

MRGSHHHHHHGMASMTGGQQMGRDLYDDDDKDPMAQVINTNSLSLLTQNNLNKSQSSLSSAIERLSS  
 GLRINSKDDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALNEINNNLQVRVRELSVQATN  
 GTNSDSLKSIQDEIQORLEEIDRVSNQIPGISGGGGGILDSMGTLINEDAAAAKKSTANPLASIDS  
 ALSKVDAVRSSLGAIQNRFDSAITNL

**AB'n54-129**

**Sequência nucleotídica (525 bp):**

ATGCCGGGTTCTCATCATCATCATCATCATGGTATGGCTAGCATGACTGGTGGACAGCAA  
 ATGGGTCCGGATCTGTACGACGATGACGATAAGGATCCGTTCACTTCTAATATCAAAGGC  
 CTGACTCAGGCTCCCGTAACGCTAACGACGGCATTCTATTGCGCAGACCACTGAAGGT  
 GCGCTGAATGAAATCAACAACAACCTGCAGCGTGTGGCGTGGAGTTGTCTGTTCAGGCCACT



**Figura 13, continuação**

AACGGGACTAAGTCTGATTCGGATCTGAAATCTATCCAGGATGAAATTCAGCAACGTCIG  
GAAGAAATCGATCGCGTTTTCTAATCAGATCCCGGGAAATTTCCSGTGGTGGTGGGAAT  
CTAGACTCCATGGGTACATTAATCAATGAAGACCGTCGCCGAGCCAAAGAAAAGTACCGCT  
AAOCCAC TGGCTTCAATTGATTTCTGCAATGTCAAAGTGGACCGCAGTTCTGTTCTCTCG  
GGGGCAATTCAAAACCGTTTTGATTCAGCCATTACCAACCTTAG

Sequência proteica (174 AA):

MRGSHHHHHHGMASMTGGQQMGRDLYDDDDKDPFTSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALNEINN  
NLQVRRELSVQATNGTNSDSLKSIQDEIQORLEEDRVSNOIFGIGGGGGIILDSMGTLINEDAAA  
AKKSTANPLASIDSALSKVDAVRSSLGAIQNRFDASITNL

**AA'n1-100**

Sequência nucleotídica (762 bp):

ATGCGGGTTCATCATCATCATCATCATGGTATGGCTAGCATGACTGGTGGACAGCAA  
ATGGGTGGGATCTGTACGACGATGACGATAAGGATCCGATGGCACAAGTCATTAATACA  
AACAGCCTGTGCTGTGTGACCCAGATAAACCTGAACAAATCTCAGTCCCTCACTGAGTTCC  
GCTATTGAGCGTCTGTCTCTGGTCTGGTATCAACAGCGCGAAAGACGATGCGGCAGGC  
CAGGGCAATTCCTAACCCGTTCACTTCTAATATCAAAGGCTGACTCAGGCTTCCCGTAAC  
GC TAACGACGGCATTTCTATTGCGCAGACCCTGAAGGTGCGCTGAATGAAATCAACAA  
AACCTGACGGTGTGCGTGAGTTGTCTGTTTCAGGCCACTATCCCGGGAAATTTCCSGTGGT  
GGTGGTGGAAATTCAGACTCCATGGGTACATTAATCAATGAAGACCGTGCCTCAGCCAG  
AAAAGTACCGCTAACCCACTGGCTTCAATTGATTTCTGCAATGTCAAAGTGGACGECAGTT  
CGTTCTCTCTGGGGCAATTCAAAACCGTTTTGATTCAGCCATTACCAACCTTGGCAAT  
ACGGTAACCAATCTGAAC TCCCGCGCTAGCCGATTCGAAGATGCTGACTATGCAACGGAA  
GTTCCTAATATGTC TAAAGCGCAGATTTCTGCAGCAGGCTGGTACTTCCGTTCTGGCGCAG  
GCTAACCCAGGTTCCGCAAAACGTCCTCTCTTTACTGCGTTAG

Sequência proteica (253 AA):

MRGSHHHHHHGMASMTGGQQMGRDLYDDDDKDPMAQVINTNSLSLLTONNLNKSQSSLSAIERLSS  
GLRINSAKDDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALNEINNNLQVRRELSVQATI  
PGISGGGGGIIILDSMGTLINEDAAAARKSTANPLASIDSALSKVDAVRSSLGAIQNRFDASITNLGNT  
VTNLSARSRIEDADYATEVSNMSKAQILOQAGTSVLAQANQVPQNVLSLLR

**AB'n1-100**

Sequência nucleotídica (597 bp):

ATGCGGGTTCATCATCATCATCATCATGGTATGGCTAGCATGACTGGTGGACAGCAA  
ATGGGTGGGATCTGTACGACGATGACGATAAGGATCCGATGGCACAAGTCATTAATACA  
AACAGCCTGTGCTGTGTGACCCAGATAAACCTGAACAAATCTCAGTCCCTCACTGAGTTCC  
GCTATTGAGCGTCTGTCTCTGGTCTGGTATCAACAGCGCGAAAGACGATGCGGCAGGC  
CAGGGCAATTCCTAACCCGTTCACTTCTAATATCAAAGGCTGACTCAGGCTTCCCGTAAC  
GC TAACGACGGCATTTCTATTGCGCAGACCCTGAAGGTGCGCTGAATGAAATCAACAA  
AACCTGACGGTGTGCGTGAGTTGTCTGTTTCAGGCCACTATCCCGGGAAATTTCCSGTGGT  
GGTGGTGGAAATTCAGACTCCATGGGTACATTAATCAATGAAGACCGTGCCTCAGCCAG  
AAAAGTACCGCTAACCCACTGGCTTCAATTGATTTCTGCAATGTCAAAGTGGACGECAGTT  
CGTTCTCTCTGGGGCAATTCAAAACCGTTTTGATTCAGCCATTACCAACCTTAG

Sequência proteica (198 AA):

MRGSHHHHHHGMASMTGGQQMGRDLYDDDDKDPMAQVINTNSLSLLTONNLNKSQSSLSAIERLSS  
GLRINSAKDDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALNEINNNLQVRRELSVQATI  
PGISGGGGGIIILDSMGTLINEDAAAARKSTANPLASIDSALSKVDAVRSSLGAIQNRFDASITNL

Figura 13 (cont.)

## Figura 13, continuação

## AA'ni-70

## Sequência nucleotídica (672 bp):

ATGCGGGGTTCTCATCATCATCATCATCATGGTATGGCTAGCATGACTGGTGGACAGCAA  
ATGGGTCGGGATCTGTACGACGATGACGATAAGGATCCGATGGCACAAGTCATTATATACA  
AACAGCCTGTGCTGTGTGACCCAGAATAACCTGAACAAATCTCAGTCTCTACTGAGTTCC  
GCTATTGAGCGTCTGTCTCTGGTCTGGTATCAACAGCCGAAAGACGATGCGGCAGGC  
CAGGCGATTGCTAACCCTTCACTTCTAAATATCAAAGGCTGACTCAGGCTTCCCGTAAC  
GCTAACGACATCCCGGAATTTCCGGTGGTGGTGGTGGAAATCTAGACTCCATGGGTACA  
TTAATCAATGAAGACGCTGCCCGAGCCAAAGAAAGTACCGCTAACCCTACTGGCTTCAATT  
GATTCGCATTGTCAAAGTGGACGCAGTTCGTTCCTCTCTGGGGCAATTCAAAACCGT  
TTTGATTGAGCCATTACCAACCTTGGCAATACGGTAACCAATCTGAACCTCCGCGCGTAGC  
CGTATCGAAGATGCTGACTATGCAACGGAAGTTCTAAATATGCTAAAGCCGAGATTCTG  
CAGCAGGCTGGTACTTCCGTTCTGGCCAGGCTAACAGGTTCCGCAAAACGCTCTCTCT  
TTACTGCCTTAG

## Sequência proteica (223 AA):

MRGSHHHHHHGMASMTGGQOMGRDLYDDDDKDPMAQVINTNSLSLLTONNLNKSQSSLSSAIERLSS  
GLRINSKDDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNANDIPGISGGGGGILDSMGTLINEDAAAARKSTA  
NPLASIDSALSKVDAVRSSLGAIQNRFDSTAI TNLGNVTNLNSARSR IEDADYATEVSNMSKAQILQ  
QAGTSVLAQANQVPQNVLSLLR

## AB'ni-70

## Sequência nucleotídica (507 bp):

ATGCGGGGTTCTCATCATCATCATCATCATGGTATGGCTAGCATGACTGGTGGACAGCAA  
ATGGGTCGGGATCTGTACGACGATGACGATAAGGATCCGATGGCACAAGTCATTATATACA  
AACAGCCTGTGCTGTGTGACCCAGAATAACCTGAACAAATCTCAGTCTCTACTGAGTTCC  
GCTATTGAGCGTCTGTCTCTGGTCTGGTATCAACAGCCGAAAGACGATGCGGCAGGC  
CAGGCGATTGCTAACCCTTCACTTCTAAATATCAAAGGCTGACTCAGGCTTCCCGTAAC  
GCTAACGACATCCCGGAATTTCCGGTGGTGGTGGTGGAAATCTAGACTCCATGGGTACA  
TTAATCAATGAAGACGCTGCCCGAGCCAAAGAAAGTACCGCTAACCCTACTGGCTTCAATT  
GATTCGCATTGTCAAAGTGGACGCAGTTCGTTCCTCTCTGGGGCAATTCAAAACCGT  
TTTGATTGAGCCATTACCAACCTTTAG

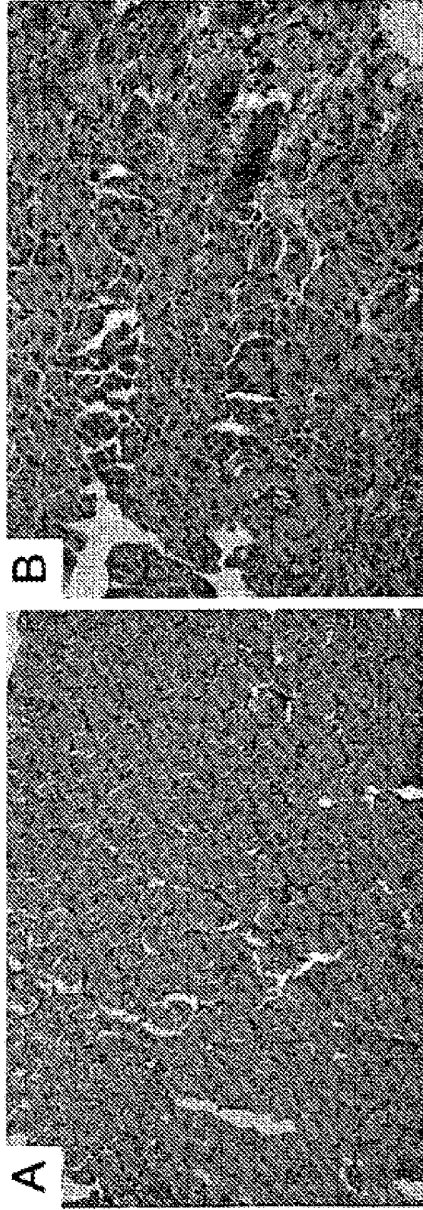
## Sequência proteica (168 AA):

MRGSHHHHHHGMASMTGGQOMGRDLYDDDDKDPMAQVINTNSLSLLTONNLNKSQSSLSSAIERLSS  
GLRINSKDDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNANDIPGISGGGGGILDSMGTLINEDAAAARKSTA  
NPLASIDSALSKVDAVRSSLGAIQNRFDSTAI TNL

Figura 13 (cont.)

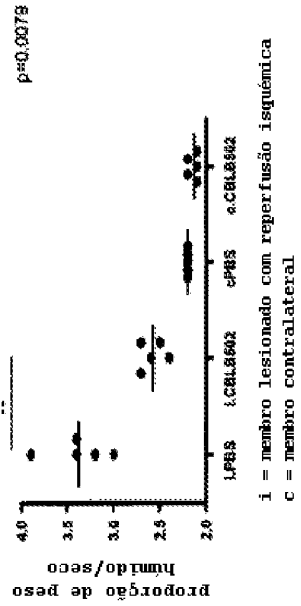
Figura 14

Mancha de hematoxilina/eosina da seção do músculo do membro traseiro ao dia 14 após a reperfusão, 3 horas a seguir a isquemia a quente



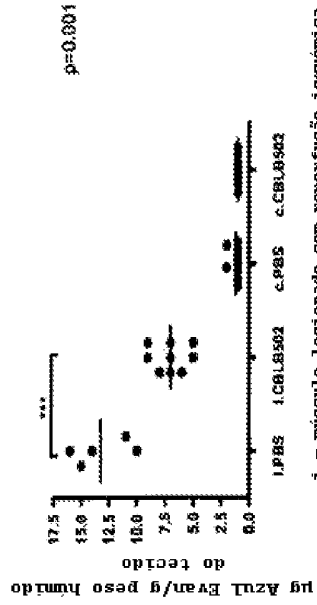
- A. Rato administrado com 0,5µg CBLB502 1.m. no prazo de 15 min. após a reperfusão
- B. Rato administrado com PBS/BSA 1% I.m. no prazo de 15 min. após a reperfusão

C CBLB502 diminui o edema dos tecidos



i = membro lesionado com reperfusão isquêmica  
c = membro contralateral

D CBLB502 atenua o vazamento vascular



i = músculo lesionado com reperfusão isquêmica  
c = músculo contralateral

Figura 14

```

Q53970      1  MAQVINTNLSLLTQNNLNKSSQLSSAIERLSSGLRINSAKDDAAGQAIANRPTANISGLTQASRNAND
P72151      1  MALTVNPNIASLNTQNNLNKSSQLSSAIERLSSGLRINSAKDDAAGQAIANRPTANISGLTQASRNAND
Q5X5M6      1  MAQVINTNVAISLTAQNNLNKSSQLSSAIERLSSGLRINSAKDDAAGQAIANRPTANISGLTQASRNAND
Q6VMV6      1  MAQVINTNLSLLTQNNLNKSSQLSSAIERLSSGLRINSAKDDAAGQAIANRPTANISGLTQASRNAND
P13713      1  MAQVINTNLSLLTQNNLNKSSQLSSAIERLSSGLRINSAKDDAAGQAIANRPTANISGLTQASRNAND
Q93RRE8      1  --MRINENIALALNTSRQLNAGSNSAAQNNENRLLSSGLRINSAGDAAAGLAISENPTSQIRSLNMAKSNQD
Q62551      1  --MKVWNTIISLKTQRYLAKNNEQNTCQGERLARGKRTNYSLEDAAGLAVVTEHVKSTGLDAAASKNSM
Q89012      1  MAQVINTNLSLLTQNNLNKSSQLSSAIERLSSGLRINSAKDDAAGQAIANRPTANISGLTQASRNAND
Q8GN78      1  MAQVINTNLSLMAQNNLNKSSQLSSAIERLSSGLRINSAKDDAAGQAIANRPTANISGLTQASRNAND
Q9FAE7      1  MASTINTNVSLSLTAQNNLNKSSQLSSAIERLSSGLRINSAKDDAAGQAIANRPTANISGLTQASRNAND
Q8ZF76      1  MA-VINTNLSLLTQNNLNKSSQLSSAIERLSSGLRINSAKDDAAGQAIANRPTANISGLTQASRNAND
Q7NSJ4      1  MAQVINTNLSLLTQNNLNKSSQLSSAIERLSSGLRINSAKDDAAGQAIANRPTANISGLTQASRNAND
Q33578      1  -MTTINTNIGALAAQANNMTKTVFVLDQFNTMRLSGLRINAAKDDAAGMAIGEMTQVWGLQAIANQD
Q56826      1  MASVINTNDSALLAQNNLNKSSQLSSAIERLSSGLRINSAKDDAAGQAIANRPTANISGLTQASRNAND
P42273      1  MAQVINTNYLSLVAQNNLNKSSQLSSAIERLSSGLRINSAKDDAAGQAIANRPTANISGLTQASRNAND
Q31059      1  --HVQHSMAAANASRMELITTDQDSKSTENRLLSSGLRINSAGDAAAGLAISENPTSQIRSLNMAKSNQD
Q7VE22      1  MAQVINTNYLSLVAQNNLNKSSQLSSAIERLSSGLRINSAKDDAAGQAIANRPTANISGLTQASRNAND
Q9FA4A      1  --MINTNSMGLNAHANNMGNATAGRSMERLLSSGLRINSAGDAAAGLAISENPTSQIRSLNMAKSNQD
Q8P9C4      1  MAQVINTNVMSLMAQNNLNKSSQLSSAIERLSSGLRINSAKDDAAGQAIANRPTANISGLTQASRNAND
Q82UA3      1  MPQVINTNIALSLTAQNNLNKSSQLSSAIERLSSGLRINSAKDDAAGQAIANRPTANISGLTQASRNAND
Q841CS      1  -GPRINTNGASLMAQNNLNKSSQLSSAIERLSSGLRINSAGDAAAGLAISENPTSQIRSLNMAKSNQD

```

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30

```

Q53970      71  GISIAQTTEGALNEINNSQVREIVVSAAGTNSSDSDLESIQSIIQQLRERIDRVSNQTPFNGVKVLSQ
P72151      71  GISIAQTASGALQSSNTIRIRIALSSAGSNSDADRAALCHVVAQQAELTRISDPTTTPGSRKLLDG
Q5X5M6      71  GISIAQVABGAMQETTNISQVREIVVSAAGTNSSDSDRASIQSIIQQLRERIDRVSNQTPFNGVKVLSQ
Q6VMV6      71  GISVAQTTEGALNEINNSQVREIVVSAAGTNSSDSDLESIQSIIQQLRERIDRVSNQTPFNGVKVLSQ
P13713      71  GISIAQTTEGALNEINNSQVREIVVSAAGTNSSDSDLESIQSIIQQLRERIDRVSNQTPFNGVKVLSQ
Q93RRE8      69  GISLIQTSEGALNEINNSQVREIVVSAAGTNSSDSDLESIQSIIQQLRERIDRVSNQTPFNGVKVLSQ
Q62551      71  GISLITQADEGALSSMSSIQVREIVVSAAGTNSSDSDLESIQSIIQQLRERIDRVSNQTPFNGVKVLSQ
Q89012      69  GISVAQTTEGALNEINNSQVREIVVSAAGTNSSDSDLESIQSIIQQLRERIDRVSNQTPFNGVKVLSQ
Q8GN78      71  GISIAQTTEGALNEINNSQVREIVVSAAGTNSSDSDLESIQSIIQQLRERIDRVSNQTPFNGVKVLSQ
Q9FAE7      71  GISIAQTASGALNEINNSQVREIVVSAAGTNSSDSDRASIQSIIQQLRERIDRVSNQTPFNGVKVLSQ
Q8ZF76      70  GISIAQTTEGALNEINNSQVREIVVSAAGTNSSDSDLESIQSIIQQLRERIDRVSNQTPFNGVKVLSQ
Q7NSJ4      71  GISIAQTTEGALNEINNSQVREIVVSAAGTNSSDSDLESIQSIIQQLRERIDRVSNQTPFNGVKVLSQ
Q33578      70  GKMLVDTTEGALNEINNSQVREIVVSAAGTNSSDSDLESIQSIIQQLRERIDRVSNQTPFNGVKVLSQ
Q56826      71  GISIAQTTEGALNEINNSQVREIVVSAAGTNSSDSDLESIQSIIQQLRERIDRVSNQTPFNGVKVLSQ
P42273      71  GISVAQTTEGALNEINNSQVREIVVSAAGTNSSDSDLESIQSIIQQLRERIDRVSNQTPFNGVKVLSQ
Q31059      69  GISVAQTTEGALNEINNSQVREIVVSAAGTNSSDSDLESIQSIIQQLRERIDRVSNQTPFNGVKVLSQ
Q7VE22      71  GISIAQTTEGALNEINNSQVREIVVSAAGTNSSDSDLESIQSIIQQLRERIDRVSNQTPFNGVKVLSQ
Q9FA4A      69  GISLIQTASGALNEINNSQVREIVVSAAGTNSSDSDLESIQSIIQQLRERIDRVSNQTPFNGVKVLSQ
Q8P9C4      71  GISIAQTASGALNEINNSQVREIVVSAAGTNSSDSDLESIQSIIQQLRERIDRVSNQTPFNGVKVLSQ
Q82UA3      71  GISIAQTASGALNEINNSQVREIVVSAAGTNSSDSDLESIQSIIQQLRERIDRVSNQTPFNGVKVLSQ
Q841CS      70  ANEMQLADEAPDQQLKILNIRIVVSAAGTNSSDSDLESIQSIIQQLRERIDRVSNQTPFNGVKVLSQ

```

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30

```

Q53970      141  DNG-MK--IQVGANDG-----ETITIDLQ-----KID-VKSLG---LDGFM
P72151      141  SPQTS--FQVGNAY-----ETIDISLQASASAISSYQVQ-SMAGTVASVAGYA
Q5X5M6      141  SPQAS--FQVGNAN--ETINPFIQ-----SK-ASSIQGIATATQTB
Q6VMV6      141  NNE-MK--IQVGANDG-----ETITINLA-----KID-ARTLG---LDGFM
P13713      141  DQK-LY--IQVGANDG-----ETIDIDLK-----KID-ARQLG---MDYF
Q93RRE8      139  TQNLTL-FQIGANEG-----QMSLSLIM-----KID-SS-----SLK
Q62551      139  TATGAKTQVSIQASDKAN-----DLINIDLPHAKLSAGTITLGSQSTVAGYSALSVD
Q89012      141  DQT-MK--IQVGANDG-----ETIELALK-----KID-ARTLG---LDGFM
Q8GN78      141  DQK-LY--IQVGANDG-----ETIDIDLK-----NIN-AQSLG---LDKFN
Q9FAE7      141  SPQSAT--FQVGNAN--QTITATQGFRTNHY-GAQLT-ASASQ--RATSGAS
Q8ZF76      140  NIT-NS--IQVGANDG-----ETIDIDLQ-----KID-SKSLG---LGSYS
Q7NSJ4      141  DSR-MT--IQVGANDW-----EVEDIDLK-----KID-KKALK---LQKPT
Q33578      140  SPTEG--LQIGANSG-----QPMVINYDSAAATDQAHKISSASTVVADALDPTT
Q56826      141  DVTEMR--IQVGANDW-----ETIGIRLG-----KIN-SERLG---LKEFS
P42273      141  EKSMT--IQVGNAN-----EVIEMLD-----KID-MDYLQ---VANDR
Q31059      139  QNGDR--VRYTANAGLVGSLQNTTRATQPHULEICDPTTIGGTYKIG-AETVK--SANTALE
Q7VE22      141  NATDMTLSIQGAKEN-----ETIDIKID-----RNS-MWMLY---DAVGT
Q9FA4A      139  GPNR-R--FQIGANEN-----QTVKLDIG-----RNS-AA-----SLG
Q8P9C4      141  SPQAL--FQVGANDG-----QTIGINS-----IVDAN-VDSLQ---EAWFAAS
Q82UA3      141  SPASQI--FQVGANEG-----ETIDPTE-----
Q841CS      140  SPENAO--FQIGDKAN-----QTVNATIG-----STM-SAVVGGQTRFETGAV

```

Figura 15a

Q53970	PLAS	US	PT	SK	VD	VR	SS	GA	VO	DF	SA	Y	N	L	G	N	T	V	N	L	S	A	R	S	R	I	E	D	A	D	A	T	E	V	S	R	N	S	R	A	Q	I	L	C	O	A	G	T	S	V	L	A	O	A	N	C	V	P	Q	V	L	S	L	L	H	--	
F72151	ALAV	TR	AD	IA	LD	OR	AD	GA	VO	DF	SA	Y	N	L	G	N	T	V	N	L	S	A	R	S	R	I	E	D	A	D	A	T	E	V	S	R	N	S	R	A	Q	I	L	C	O	A	G	T	S	V	L	A	O	A	N	C	V	P	Q	V	L	S	L	L	H	--	
Q5X5M6	AIEK	ED	MA	NE	V	ER	BR	GA	VO	DF	SA	Y	N	L	G	N	T	V	N	L	S	A	R	S	R	I	E	D	A	D	A	T	E	V	S	R	N	S	R	A	Q	I	L	C	O	A	G	T	S	V	L	A	O	A	N	C	V	P	Q	V	L	S	L	L	H	--	
Q6VWV6	PLET	ED	MA	NE	V	ER	BR	GA	VO	DF	SA	Y	N	L	G	N	T	V	N	L	S	A	R	S	R	I	E	D	A	D	A	T	E	V	S	R	N	S	R	A	Q	I	L	C	O	A	G	T	S	V	L	A	O	A	N	C	V	P	Q	V	L	S	L	L	H	--	
P13713	PLAT	ED	MA	NE	V	ER	BR	GA	VO	DF	SA	Y	N	L	G	N	T	V	N	L	S	A	R	S	R	I	E	D	A	D	A	T	E	V	S	R	N	S	R	A	Q	I	L	C	O	A	G	T	S	V	L	A	O	A	N	C	V	P	Q	V	L	S	L	L	H	--	
Q93R88	ALIT	ED	MA	NE	V	ER	BR	GA	VO	DF	SA	Y	N	L	G	N	T	V	N	L	S	A	R	S	R	I	E	D	A	D	A	T	E	V	S	R	N	S	R	A	Q	I	L	C	O	A	G	T	S	V	L	A	O	A	N	C	V	P	Q	V	L	S	L	L	H	--	
Q62551	VIGH	ED	MA	NE	V	ER	BR	GA	VO	DF	SA	Y	N	L	G	N	T	V	N	L	S	A	R	S	R	I	E	D	A	D	A	T	E	V	S	R	N	S	R	A	Q	I	L	C	O	A	G	T	S	V	L	A	O	A	N	C	V	P	Q	V	L	S	L	L	H	--	
Q09012	PLSR	ED	MA	NE	V	ER	BR	GA	VO	DF	SA	Y	N	L	G	N	T	V	N	L	S	A	R	S	R	I	E	D	A	D	A	T	E	V	S	R	N	S	R	A	Q	I	L	C	O	A	G	T	S	V	L	A	O	A	N	C	V	P	Q	V	L	S	L	L	H	--	
Q80RT9	PLAT	ED	MA	NE	V	ER	BR	GA	VO	DF	SA	Y	N	L	G	N	T	V	N	L	S	A	R	S	R	I	E	D	A	D	A	T	E	V	S	R	N	S	R	A	Q	I	L	C	O	A	G	T	S	V	L	A	O	A	N	C	V	P	Q	V	L	S	L	L	H	--	
Q8FAE7	ALAT	ED	MA	NE	V	ER	BR	GA	VO	DF	SA	Y	N	L	G	N	T	V	N	L	S	A	R	S	R	I	E	D	A	D	A	T	E	V	S	R	N	S	R	A	Q	I	L	C	O	A	G	T	S	V	L	A	O	A	N	C	V	P	Q	V	L	S	L	L	H	--	
Q8E276	PLET	ED	MA	NE	V	ER	BR	GA	VO	DF	SA	Y	N	L	G	N	T	V	N	L	S	A	R	S	R	I	E	D	A	D	A	T	E	V	S	R	N	S	R	A	Q	I	L	C	O	A	G	T	S	V	L	A	O	A	N	C	V	P	Q	V	L	S	L	L	H	--	
Q7NSJ4	PLET	ED	MA	NE	V	ER	BR	GA	VO	DF	SA	Y	N	L	G	N	T	V	N	L	S	A	R	S	R	I	E	D	A	D	A	T	E	V	S	R	N	S	R	A	Q	I	L	C	O	A	G	T	S	V	L	A	O	A	N	C	V	P	Q	V	L	S	L	L	H	--	
Q33578	AIGV	ED	MA	NE	V	ER	BR	GA	VO	DF	SA	Y	N	L	G	N	T	V	N	L	S	A	R	S	R	I	E	D	A	D	A	T	E	V	S	R	N	S	R	A	Q	I	L	C	O	A	G	T	S	V	L	A	O	A	N	C	V	P	Q	V	L	S	L	L	H	--	
Q56826	PLDT	ED	MA	NE	V	ER	BR	GA	VO	DF	SA	Y	N	L	G	N	T	V	N	L	S	A	R	S	R	I	E	D	A	D	A	T	E	V	S	R	N	S	R	A	Q	I	L	C	O	A	G	T	S	V	L	A	O	A	N	C	V	P	Q	V	L	S	L	L	H	--	
P42273	ALAT	ED	MA	NE	V	ER	BR	GA	VO	DF	SA	Y	N	L	G	N	T	V	N	L	S	A	R	S	R	I	E	D	A	D	A	T	E	V	S	R	N	S	R	A	Q	I	L	C	O	A	G	T	S	V	L	A	O	A	N	C	V	P	Q	V	L	S	L	L	H	--	
Q31059	ALAT	ED	MA	NE	V	ER	BR	GA	VO	DF	SA	Y	N	L	G	N	T	V	N	L	S	A	R	S	R	I	E	D	A	D	A	T	E	V	S	R	N	S	R	A	Q	I	L	C	O	A	G	T	S	V	L	A	O	A	N	C	V	P	Q	V	L	S	L	L	H	--	
Q7V2C2	ALAT	ED	MA	NE	V	ER	BR	GA	VO	DF	SA	Y	N	L	G	N	T	V	N	L	S	A	R	S	R	I	E	D	A	D	A	T	E	V	S	R	N	S	R	A	Q	I	L	C	O	A	G	T	S	V	L	A	O	A	N	C	V	P	Q	V	L	S	L	L	H	--	
Q8P2A4	SIXT	ED	MA	NE	V	ER	BR	GA	VO	DF	SA	Y	N	L	G	N	T	V	N	L	S	A	R	S	R	I	E	D	A	D	A	T	E	V	S	R	N	S	R	A	Q	I	L	C	O	A	G	T	S	V	L	A	O	A	N	C	V	P	Q	V	L	S	L	L	H	--	
Q8P9C4	ALAT	ED	MA	NE	V	ER	BR	GA	VO	DF	SA	Y	N	L	G	N	T	V	N	L	S	A	R	S	R	I	E	D	A	D	A	T	E	V	S	R	N	S	R	A	Q	I	L	C	O	A	G	T	S	V	L	A	O	A	N	C	V	P	Q	V	L	S	L	L	H	--	
Q820A3	-----	PL	ED	MA	NE	V	ER	BR	GA	VO	DF	SA	Y	N	L	G	N	T	V	N	L	S	A	R	S	R	I	E	D	A	D	A	T	E	V	S	R	N	S	R	A	Q	I	L	C	O	A	G	T	S	V	L	A	O	A	N	C	V	P	Q	V	L	S	L	L	H	--
Q844C5	VMO	ED	MA	NE	V	ER	BR	GA	VO	DF	SA	Y	N	L	G	N	T	V	N	L	S	A	R	S	R	I	E	D	A	D	A	T	E	V	S	R	N	S	R	A	Q	I	L	C	O	A	G	T	S	V	L	A	O	A	N	C	V	P	Q	V	L	S	L	L	H	--	

Figura 15b