

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

(21) **PI0617688-7 A2**

(22) Data de Depósito: 19/10/2006
(43) Data da Publicação: 07/06/2011
(RPI 2109)



(51) *Int.Cl.:*
C12N 15/62 2006.01

(54) Título: **MÉTODO PARA EXPRESSÃO RECOMBINANTE DE UM POLIPEPTÍDEO**

(30) Prioridade Unionista: 21/10/2005 EP 05 023003.6,
24/05/2006 EP 06 010665.5

(73) Titular(es): F Hoffmann-La Roche AG

(72) Inventor(es): Erhard Kopetzki

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

(86) Pedido Internacional: PCT EP2006010067 de 19/10/2006

(87) Publicação Internacional: WO 2007/045465 de 26/04/2007

(57) Resumo: MÉTODO PARA A EXPRESSÃO RECOMBINANTE DE UM POLIPEPTÍDEO. A presente invenção refere-se a um descrito um método para a produção recombinante de um polipeptídeo heterólogo em uma célula hospedeira eucariótica. A célula hospedeira compreende um plasmídeo de expressão, em que o plasmídeo de expressão compreende em uma direção 5' para 3' a) um promotor, b) um ácido nucléico codificando um primeiro polipeptídeo, cuja sequência de aminoácidos é selecionada da Tabela 1 dependendo dos dois primeiros aminoácidos do segundo polipeptídeo, c) um ácido nucléico codificando um segundo polipeptídeo compreendendo um ácido nucléico codificando um polipeptídeo heterólogo, um ácido nucléico codificando um ligante, e um ácido nucléico codificando um fragmento de imunoglobulina, e d) uma região 3 não traduzida compreendendo um sinal de poliadenilação. São descritos adicionalmente um plasmídeo e um kit.



Relatório Descritivo da Patente de Invenção para **"MÉTODO PARA A EXPRESSÃO RECOMBINANTE DE UM POLIPEPTÍDEO"**.

A presente invenção refere-se a um método para a expressão recombinante de um polipeptídeo em células eucarióticas.

5 Antecedentes da Invenção

Sistemas de expressão para a produção de polipeptídeos recombinantes são de conhecimento geral no estado da técnica e são descritos por, por exemplo, Marino, M.H., Biopharm. 2 (1989) 18-33; Goeddel, D.V., et al., Methods Enzymol. 185 (1990) 3-7; Wurm, F., and Bernard, A.,
10 Curr. Opin. Biotechnol. 10 (1999) 156-159. Polipeptídeos para uso em aplicações farmacêuticas são preferencialmente produzidos em células mamíferas tais como células CHO, células NS0, células Sp2/0, células COS, células HEK, células BHK e semelhantes. Os elementos essenciais de um plasmídeo de expressão são uma unidade de propagação de plasmídeo procariótico, por exemplo, para E.coli compreendendo uma origem de replicação e um
15 marcador de seleção, um marcador de seleção eucariótico, e um ou mais cassetes de expressão para a expressão do um ou mais genes estruturais de interesse cada um compreendendo um promotor, um gene estrutural, e um terminador de transcrição incluindo um sinal de poliadenilação. Para expressão transitória em células mamíferas pode ser inclusa uma origem de replicação mamífera, tal como a SV40 Ori ou OriP. Como promotor pode ser selecionado um promotor constitutivo ou indutível. Para transcrição otimizada pode ser inclusa uma sequência Kozak na região 5' não traduzida. Para processamento de RNAm, em particular junção de RNAm e terminação de
20 transcrição, sinais de junção de RNAm, dependendo da organização do gene estrutural (organização éxon / íntron), podem ser inclusos bem como um sinal de poliadenilação.

A expressão de um gene é realizada ou como expressão transitória ou como permanente. Um ou mais polipeptídeos de interesse são em geral
30 polipeptídeos secretados e portanto contêm uma extensão de N-terminal (também conhecida como a sequência de sinal) a qual é necessária para o transporte / a secreção do polipeptídeo através da célula para dentro do meio

extracelular.

Em geral, a seqüência de sinal pode ser derivada de qualquer gene codificando um polipeptídeo secretado. Se for usada uma seqüência de sinal heteróloga, preferencialmente é uma seqüência que é reconhecida e processada (isto é, clivada por uma peptidase de sinal) pela célula hospedeira. Para secreção em levedura, por exemplo, a seqüência de sinal nativa de um gene heterólogo a ser expressado pode ser substituída por uma seqüência de sinal de levedura homóloga derivada de um gene secretado, tal como seqüência de sinal de invertase de levedura, alfa-fator líder (incluindo α -fator líderes *Saccharomyces*, *Kluyveromyces*, *Pichia*, e *Hansenula*, o segundo descrito na Patente dos Estados Unidos Nº 5.010.182), seqüência de sinal de fosfatase ácida, ou a seqüência de sinal de glucoamilase de *C. albicans* (publicação de patente européia Nº EP 0 362 179). Na expressão em células mamíferas a seqüência de sinal nativa da proteína de interesse é satisfatória, embora outras seqüências de sinal mamíferas possam ser adequadas, tais como seqüências de sinal de polipeptídeos secretados da mesma espécie ou de espécie relacionada, por exemplo, para imunoglobulinas de origem humana ou murina, bem como seqüências de sinal secretor viral, por exemplo, a seqüência de sinal da glicoproteína D do herpes simples. O fragmento de DNA codificando para um pré-segmento semelhante é ligado *in frame* ao fragmento de DNA codificando um polipeptídeo de interesse.

Na publicação de patente internacional Nº WO 98/28427 é reportada uma proteína de fusão preparada geneticamente ou quimicamente compreendendo a região de imunoglobulina Fc, um derivado ou análogo fundido à porção N-terminal da proteína OB. Uma molécula quimerica, isto é, proteína de fusão ou fusão de anticorpo, compreendendo uma seqüência de introdução de proteína de terminal carboxi e uma região de carga de terminal amino é apresentada na publicação de patente internacional WO 03/035892.

Na Patente dos Estados Unidos Nº 2003/0049227 é reportado um método para a indução de uma reação imune citocida contra um tumor em um mamífero administrando uma imunocitocina, a qual é uma proteína de fusão compreendendo uma parte imunoglobulina de terminal amino e

uma parte citocina de terminal carbóxi.

A publicação de Patente Internacional WO 91/16437 reporta uma proteína fundida recombinante solúvel a qual é estável no sistema circulatório mamífero compreendendo um polipeptídeo o qual contém um sítio de reconhecimento para uma molécula-alvo, tal como um sítio receptor de complemento, e é ligado à extremidade N-terminal de uma cadeia de imunoglobulina. Uma proteína de fusão composta de um anticorpo e um peptídeo tendo uma atividade biológica é reportada na Patente dos Estados Unidos Nº 2003/0103984.

São reportados na Patente dos Estados Unidos Nº 2004/0033511 uma proteína de fusão de anticorpo-citocina e na Patente dos Estados Unidos Nº 2004/0180035 um imunoconjugado de anticorpo-citocina. Uma imunotoxina compreendendo Gelonina e um anticorpo é reportada na publicação de patente internacional Nº WO 94/26910.

Sumário da Invenção

A presente invenção compreende um método para a produção recombinante de um polipeptídeo heterólogo em uma célula hospedeira eucariótica compreendendo um plasmídeo de expressão, em que o plasmídeo de expressão compreende em uma direção 5' para 3' a) um promotor, b) um ácido nucléico codificando um primeiro polipeptídeo, cuja sequência de aminoácidos é selecionada da Tabela 1 dependendo dos dois primeiros aminoácidos do segundo polipeptídeo, c) um ácido nucléico codificando um segundo polipeptídeo compreendendo um ácido nucléico codificando o polipeptídeo heterólogo, um ácido nucléico codificando um ligante, e um ácido nucléico codificando um fragmento de imunoglobulina, e d) uma região 3' não traduzida compreendendo um sinal de poliadenilação. O método compreende adicionalmente a introdução do plasmídeo de expressão em uma célula hospedeira eucariótica a qual é cultivada sob condições adequadas para a expressão do segundo polipeptídeo e o segundo polipeptídeo é recuperado do meio de cultura.

Em uma modalidade da invenção o ácido nucléico codificando o segundo polipeptídeo contém na posição 5' para o ácido nucléico codifican-

do o polipeptídeo heterólogo um ácido nucléico adicional codificando ou um único aminoácido ou um dipeptídeo ou o peptídeo da sequência de aminoácidos QIWNN (SEQ ID NO: 472) ou um fragmento do mesmo.

Em outra modalidade o fragmento de imunoglobulina é obtido ou de uma IgG ou de uma IgE.

Em uma modalidade adicional a célula eucariótica é uma célula mamífera, especialmente uma célula CHO, célula NS0, célula Sp2/0, célula COS, célula K562, célula BHK, célula PER.C6 ou célula HEK.

Em ainda outra modalidade o ligante é um peptídeo ou polipeptídeo selecionado entre o grupo consistindo em SEQ ID NOs: 06, 07, 08, 09, 10, 139, 140, 554, 555, 556, e 557.

Em outra modalidade o fragmento de imunoglobulina compreende o domínio constante de carboxi-terminal de uma cadeia pesada ou leve de uma imunoglobulina que ocorre naturalmente ou sintética, isto é, ou o domínio C_H1 , a região de articulação, o domínio C_H2 , o domínio C_H3 de uma cadeia pesada ou o domínio C_L de uma cadeia leve. Adicionalmente o fragmento de imunoglobulina compreende um fragmento de domínio variável.

Em outra modalidade o fragmento de domínio variável é um domínio variável de uma cadeia pesada ou leve de imunoglobulina na qual a partir de um até seis aminoácidos do domínio variável são eliminados.

Em uma modalidade adicional a partir de uma até seis regiões (FR1, FR2, FR3, CDR1, CDR2, CDR3) do domínio variável são eliminadas.

Em uma modalidade adicional o domínio variável é eliminado.

Em outra modalidade o fragmento de imunoglobulina é derivado de uma imunoglobulina que ocorre naturalmente ou uma variante da mesma.

Em uma modalidade adicional o fragmento de imunoglobulina é derivado de uma imunoglobulina no mínimo parcialmente sintética.

Em ainda outra modalidade da invenção a sequência de aminoácidos do polipeptídeo heterólogo é de a partir de 5 até 500 resíduos aminoácidos, mais preferencial de a partir de 10 até 350 resíduos aminoácidos, o mais preferencial de a partir de 15 até 150 resíduos aminoácidos.

Esta invenção compreende adicionalmente um plasmídeo com-

preendendo em uma direção 5' para 3' a) um promotor, b) um ácido nucléico codificando um primeiro polipeptídeo, cuja seqüência de aminoácidos é selecionada da Tabela 1 dependendo dos dois primeiros aminoácidos do segundo polipeptídeo, c) um ácido nucléico codificando um segundo polipeptídeo compreendendo um ácido nucléico codificando um polipeptídeo heterólogo, um ácido nucléico codificando um ligante, e um ácido nucléico codificando um fragmento de imunoglobulina, e d) uma região não traduzida 3' compreendendo um sinal de poliadenilação.

Esta invenção ainda compreende adicionalmente um kit para a preparação de um plasmídeo para a expressão de um polipeptídeo heterólogo em uma célula eucariótica compreendendo um plasmídeo o qual compreende em uma direção 5' para 3' a) um promotor, b) um ácido nucléico codificando um primeiro polipeptídeo, cuja seqüência de aminoácidos é selecionada entre o grupo consistindo em SEQ ID NO: 36, 37, 319, 320, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 327, 328, e 329, c) um ácido nucléico codificando um segundo polipeptídeo compreendendo i) um ácido nucléico codificando um peptídeo da seqüência de aminoácidos QIWNN (SEQ ID NO: 472) ou uma fração N-terminal do mesmo, ii) um sítio de clonagem compreendendo no mínimo um sítio de clivagem de restrição adequado para a inserção de um ácido nucléico codificando um polipeptídeo heterólogo, iii) um ácido nucléico codificando um ligante selecionado entre o grupo consistindo em SEQ ID NOs 06, 07, 08, 09, 10, 139, 140, 554, 555, 556, e 557, e iv) um ácido nucléico codificando um fragmento de imunoglobulina, e d) uma região não traduzida 3' compreendendo um sinal de poliadenilação.

Descrição Detalhada da Invenção

A presente invenção compreende um método para a expressão recombinante de um polipeptídeo heterólogo de interesse em uma célula hospedeira eucariótica compreendendo um vetor de expressão, o qual contém um promotor adequado, um terminador de transcrição, um marcador selecionável, uma seqüência de ácido nucléico codificando um polipeptídeo, e uma seqüência de ácido nucléico codificando uma seqüência de sinal, em que a seqüência de ácido nucléico codificando a seqüência de sinal é sele-

cionada entre a Tabela 1 dependendo dos dois primeiros aminoácidos do seguinte polipeptídeo. A sequência de ácido nucléico codificando o polipeptídeo heterólogo inicia dentro de quinze nucleotídeos depois da extremidade da sequência de ácido nucléico codificando a sequência de sinal. A sequência de ácido nucléico codificando o polipeptídeo heterólogo pode ser ou inserida dentro de uma região FR1 de uma imunoglobulina, dentro de uma região V_L de uma imunoglobulina ou dentro do primeiro domínio constante de uma imunoglobulina ou pode substituir toda ou uma fração de uma região FR1 de uma imunoglobulina, uma região V_L de uma imunoglobulina, ou o primeiro domínio constante de uma imunoglobulina.

Dentro do escopo da presente invenção alguns dos termos usados são definidos como se segue:

Uma "molécula de ácido nucléico" conforme usado aqui, neste requerimento de patente, se refere a um ácido nucléico codificando um polipeptídeo que ocorre naturalmente, ou parcialmente ou totalmente não natural o qual pode ser produzido de modo recombinante. A molécula de ácido nucléico pode ser composta de fragmentos de DNA os quais são ou isolados ou sintetizados por meios químicos. A molécula de ácido nucléico pode ser integrada em outro ácido nucléico, por exemplo, em um plasmídeo de expressão ou no genoma / cromossoma de uma célula hospedeira eucariótica. Plasmídeo inclui vetores de vai-vém e de expressão. Tipicamente, o plasmídeo também compreenderá uma unidade de propagação procariótica compreendendo uma origem de replicação (por exemplo, a origem de replicação ColE1) e um marcador selecionável (por exemplo, gene de resistência a ampicilina ou tetraciclina) para replicação e seleção, respectivamente, do vetor em bactérias.

Um "cassete de expressão" se refere a uma sequência de ácido nucléico que contém os elementos necessários para expressão e secreção de no mínimo o gene estrutural contido em uma célula.

Uma molécula de ácido nucléico é igualmente caracterizada por sua sequência de ácido nucléico consistindo em nucleotídeos individuais ou/e por uma sequência de aminoácidos codificados pela molécula de ácido

nucléico.

Um "gene" denota um segmento, por exemplo, sobre um cromossoma ou sobre um plasmídeo o qual é necessário para a expressão de um peptídeo, polipeptídeo ou proteína. Além da região codificante o gene compreende outros elementos funcionais incluindo um promotor, íntrons, e terminadores.

Um "gene estrutural" denota a região codificante de um gene sem uma sequência de sinal.

Um "gene de resistência" ou um "marcador selecionável", o qual é usado de modo intercambiável dentro deste requerimento, é um gene que permite que células carregando o gene sejam especificamente selecionadas para ou contra, na presença de um agente de seleção correspondente. Um marcador selecionável útil positivo é um gene de resistência a antibiótico. Este marcador selecionável permite que a célula hospedeira transformada com o gene seja positivamente selecionada para na presença do antibiótico correspondente; uma célula hospedeira não transformada não seria capaz de crescer ou sobreviver sob as condições de cultura seletivas. Marcadores selecionáveis podem ser positivos, negativos ou bifuncionais. Marcadores selecionáveis positivos permitem a seleção para células carregando o marcador, ao passo que marcadores selecionáveis negativos permitem que células carregando o marcador sejam eliminados seletivamente. Tipicamente, um marcador selecionável conferirá resistência a um fármaco ou compensará um defeito metabólico ou catabólico na célula hospedeira. Genes de resistência úteis com células eucarióticas incluem, por exemplo, os genes para aminoglicosídeo fosfotransferase (APH), tais como a higromicina fosfotransferase (hyg), neomicina e G418 APH, diidrofolato redutase (DHFR), timidina quinase (tk), glutamina sintetase (GS), asparagina sintetase, triptofano sintetase (indole), histidinol deidrogenase (histidinol D), e genes codificando resistência a puromicina, bleomicina, fleomicina, cloranfenicol, Zeocin, e ácido micofenólico. Genes marcadores são descritos na publicação de patente internacional Nº WO 92/08796 e na publicação de patente internacional Nº WO 94/28143.

“Elementos reguladores” conforme usado aqui, neste requerimento de patente, se referem a seqüências de nucleotídeos presentes em cis, necessários para transcrição e/ou translação do gene compreendendo a seqüência de ácido nucléico codificando um polipeptídeo de interesse. Os elementos reguladores transcricionais normalmente compreendem um promotor a montante da seqüência genética estrutural a ser expressada, sítios de iniciação e terminação transcricionais, e uma seqüência de sinal de poliadenilação. O termo “sítio de iniciação transcripcional” se refere à base de ácido nucléico no gene correspondente ao primeiro ácido nucléico incorporado no transcripto primário, isto é, o precursor de RNAm; o sítio de iniciação transcripcional pode se sobrepor com a seqüência promotora. O termo “sítio de terminação transcripcional” se refere a uma seqüência de nucleotídeos normalmente representada na extremidade 3' de um gene de interesse a ser transcrito, que faz com que a RNA polimerase termine a transcrição. A seqüência de sinal de poliadenilação, ou sinal de adição poly-A proporciona o sinal para a clivagem em um sítio específico na extremidade 3' de RNAm eucariótico e a adição pós-transcripcional no núcleo de uma seqüência de cerca de 100 a 200 nucleotídeos adenina (polyA tail) à extremidade 3' clivada. A seqüência de sinal de poliadenilação pode incluir a seqüência de consenso AATAAA localizada a cerca de 10 a 30 nucleotídeos a montante do sítio de clivagem.

Para produzir um polipeptídeo secretado, o gene estrutural de interesse inclui um segmento de DNA que codifica uma seqüência de sinal / peptídeo líder. A seqüência de sinal dirige o polipeptídeo recém-sintetizado para e através da membrana do ER onde o polipeptídeo pode ser enviado para secreção. A seqüência de sinal é clivada por algumas peptidases de sinal enquanto a proteína cruza a membrana do ER. Como para a função da seqüência de sinal o reconhecimento pelo mecanismo de secreção da células hospedeiras é essencial. Portanto a seqüência de sinal usada deve ser reconhecida pelas proteínas e enzimas das células hospedeiras do mecanismo de secreção.

Elementos reguladores translacionais incluem um códon de ini-

ciação translacional initiation (AUG) e códon de interrupção (TAA, TAG, ou TGA). Um sítio de ingresso de ribossoma interno (IRES) pode ser incluso em alguns constructos.

Um "promotor" se refere a uma seqüência de polinucleotídeo que controla a transcrição de um gene / gene estrutural ou seqüência de ácido nucléico ao qual é encadeado operavelmente. Um promotor inclui sinais para ligação de RNA polimerase e iniciação de transcrição. Os promotores usados serão funcionais no tipo celular da célula hospedeira na qual é contemplada a expressão da seqüência selecionada. Um grande número de selecionado incluindo selecionado constitutivos, indutíveis e repressíveis de uma variedade de fontes diferentes, são de conhecimento geral na técnica (e identificados em bandos de dados tais como GenBank) e estão disponíveis como ou dentro de polinucleotídeos clonados (de, por exemplo, depositários tais como ATCC bem como outras fontes comerciais ou individuais). Um "promotor" compreende uma seqüência de nucleotídeos que dirige a transcrição de um gene estrutural. Tipicamente, um promotor está localizado na região não codificante 5' ou não traduzida de um gene, proximal ao sítio de iniciação transcripcional de um gene estrutural. Elementos de seqüência dentro de promotores que funcionam na iniciação de transcrição são frequentemente caracterizados por seqüências de nucleotídeos de consenso. Estes elementos promotores incluem sítios de ligação de RNA polimerase, seqüências TATA, seqüências CAAT, elementos específicos de diferenciação (DSEs; McGehee, R.E., et al., *Mol. Endocrinol.* 7 (1993) 551), elementos de reação de AMP cíclico (CREs), elementos de reação sérica (SREs; Treisman, R., *Seminars in Cancer Biol.* 1 (1990) 47), elementos de reação de glucocorticóides (GREs), e sítios de ligação para outros fatores de transcrição, tais como CRE/ATF (O'Reilly, M.A., et al., *J. Biol. Chem.* 267 (1992) 19938), AP2 (Ye, J., et al., *J. Biol. Chem.* 269 (1994) 25728), SP1, proteína de ligação de elementos de reação de cAMP (CREB; Loeken, M.R., *Gene Expr.* 3 (1993) 253) e fatores de octâmeros (vide, em geral, Watson et al., eds., *Molecular Biology of the Gene*, 4th ed. (The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc. 1987), e Lemaigre, F.P. e Rousseau, G.G., *Biochem.*

J. 303 (1994) 1-14). Se um promotor for um promotor indutível, então o índice de transcrição aumenta em resposta a um agente indutor. Em contraste, o índice de transcrição não é regulado por um agente indutor se o promotor for um promotor constitutivo. Também são conhecidos promotores repressíveis. Por exemplo, o promotor c-fos é especificamente ativado na ligação do hormônio do crescimento a seu receptor sobre a superfície celular. Expressão regulada por tetraciclina (tet) pode ser obtida por promotores híbridos artificiais que consistem, por exemplo, em um promotor de CMV seguido por dois sítios Tet-operadores. O Tet-repressor liga aos dois sítios Tet-operadores e bloqueia a transcrição. Na adição do indutor tetraciclina, Tet-repressor é liberado dos sítios Tet-operadores e a transcrição prossegue (Gossen, M. and Bujard, H., PNAS 89 (1992) 5547-5551). Para outros promotores indutíveis incluindo metalotioneína e promotores de choque térmico, vide, por exemplo, Sambrook et al. (supra) e Gossen et al., Curr. Opin. Biotech. 5 (1994) 516-520. Entre os promotores eucarióticos que foram identificados como fortes promotores para alto nível de expressão são o promotor precoce SV40, promotor tardio principal de adenovírus, promotor de metalotioneína-I de camundongo, longa repetição de terminal do sarcoma vírus Rous, fator 1 alfa de alongamento de hamster chinês (CHEF-1, vide por exemplo, a Patente dos Estados Unidos Nº 5.888.809), EF-1 alfa humana, ubiquitina, e promotor precoce imediato do citomegalovírus humano (CMV IE).

O "promotor" pode ser constitutivo ou indutível. Um reforçador (isto é, um elemento de DNA de ação cis que age sobre um promotor aumentando a transcrição) pode ser necessário funcionar em combinação com o promotor para aumentar o nível de expressão obtido com um promotor somente, e pode ser incluso como um elemento regulador transcricional. Frequentemente, o segmento de polinucleotídeo contendo o promotor incluirá seqüências reforçadoras também (por exemplo, CMV ou SV40).

Um "reforçador", conforme usado aqui, neste requerimento de patente, se refere a uma seqüência de polinucleotídeo que reforça a transcrição de um gene ou seqüência codificante à qual é encadeado opera-

velmente. Diferentemente de promotores, reforçadores são relativamente independentes da orientação e da posição e foram encontrados 5' ou 3' (Lusky, M., et al., *Mol. Cell Bio.* 3 (1983) 1108) para a unidade de transcrição, dentro de um íntron (Banerji, J., et al., *Cell* 33 (1983) 729) bem como dentro da própria seqüência codificante (Osborne, T.F., et al., *Mol. Cell Bio.* 4 (1984) 1293). Portanto, reforçadores podem ser dispostos a montante ou a jusante do sítio de iniciação de transcrição ou em distâncias consideráveis do promotor, embora na prática reforçadores possam sobrepor fisicamente e funcionalmente com promotores. Um grande número de reforçadores, de uma variedade de diferentes fontes são de conhecimento geral na técnica (e identificados em bandos de dados tais como GenBank) e estão disponíveis como ou dentro de seqüências de polinucleotídeos clonados (de, por exemplo, depositários tais como a ATCC bem como outras fontes comerciais ou individuais). Uma série de polinucleotídeos compreendendo seqüências promotoras (tais como o promotor de CMV comumente usado) também compreendem seqüências reforçadoras. Por exemplo, todos os fortes promotores listados acima também podem conter fortes reforçadores (vide, por exemplo, Bendig, M.M., *Genetic Engineering* 7 (1988) 91-127).

Um "sítio de ingresso de ribossoma interno" ou "IRES" descreve uma seqüência a qual promove funcionalmente iniciação de translação independente do gene 5' do IRES e permite que dois cistrons (frames de leitura aberta) sejam traduzidos de um único transcripto em uma célula animal. O IRES proporciona um sítio de ingresso de ribossoma independente para translação do frame de leitura aberta imediatamente a jusante (a jusante é usado de modo intercambiável aqui, neste requerimento de patente, com 3') deste. Diferentemente de RNAm bacteriano o qual pode ser policistrônico, isto é, codificar vários polipeptídeos diferentes que são traduzidos seqüencialmente a partir dos RNAs, a maioria dos RNAs de células animais são monocistrônicos e codificam para a síntese de somente uma proteína. Com um transcripto policistrônico em uma célula eucariótica, a translação iniciaria a partir do sítio de iniciação de translação mais 5', terminaria no primeiro códon de parada, e o transcripto seria liberado do ribossoma, resultando na

translação de somente o primeiro polipeptídeo codificado no RNAm. Em uma célula eucariótica, um transcripto policistrônico tendo um IRES encadeado operavelmente ao segundo frame de leitura aberta ou subsequente no transcripto permite a translação seqüencial deste frame de leitura aberta a jusante para produzir os dois ou mais polipeptídeos codificados pelo mesmo transcripto. O uso de elementos de IRES na construção vetorial foi previamente descrito, vide, por exemplo, Pelletier, J., et al., *Nature* 334 (1988) 320-325; Jang, S.K., et al., *J. Virol.* 63 (1989) 1651- 1660; Davies, M.V., et al., *J. Virol.* 66 (1992) 1924-1932; Adam, M.A., et al., *J. Virol.* 65 (1991) 4985-4990; Morgan, R.A., et al., *Nucl. Acids Res.* 20 (1992) 1293-1299; Sugimoto, Y., et al., *Biotechnology* 12 (1994) 694-698; Ramesh, N., et al., *Nucl. Acids Res.* 24 (1996) 2697-2700; e Mosser, D.D., et al., *Biotechniques* 22 (1997) 150-152).

“Encadeado operavelmente” se refere a uma justaposição de dois ou mais componentes, em que os componentes descritos deste modo estão em uma relação permitindo que os mesmos funcionem em sua maneira pretendida. Por exemplo, um promotor e/ou reforçador são encadeados operavelmente a uma seqüência codificante, se agir em cis para controlar ou modular a transcrição da seqüência encadeada. Geralmente, mas não necessariamente, as seqüências de DNA que são “encadeadas operavelmente” são contíguas e, onde necessário, usam duas regiões codificando proteína tais como uma seqüência secretora líder / de sinal e um polipeptídeo, contíguos e no frame de leitura. No entanto, embora um promotor encadeado operavelmente esteja geralmente localizado a montante da seqüência codificante, não é necessariamente contíguo com este. Reforçadores não devem ser contíguos. Um reforçador é encadeado operavelmente a uma seqüência codificante se o reforçador aumenta a transcrição da seqüência codificante. Reforçadores encadeados operavelmente podem estar localizados a montante, dentro, ou a jusante de seqüências codificantes e em considerável distância do promotor. Um sítio de poliadenilação é encadeado operavelmente a uma seqüência codificante se estiver localizado na extremidade a jusante da seqüência codificante de tal modo que a transcrição prossiga através da seqüência codificante para a seqüência de poliadenilação. A en-

cadeação é realizada por métodos recombinantes conhecidos na técnica, por exemplo, usando metodologia de PCR e/ou por ligação em sítios de restrição convenientes. Se não existirem sítios de restrição convenientes, então são usados adaptadores de oligonucleotídeos sintéticos ou ligantes de acordo com a prática convencional.

O termo “expressão” conforme usado aqui, neste requerimento de patente, se refere a transcrição e/ou translação ocorrendo dentro de uma célula hospedeira. O nível de transcrição de um produto desejado em uma célula hospedeira pode ser determinado com base na quantidade de RNAm correspondente que está presente na célula. Por exemplo, RNAm transcrito de uma seqüência selecionada pode ser quantificado por PCR ou por hibridização Northern (vide Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989)). Proteína codificada por uma seqüência selecionada pode ser quantificada por vários métodos, por exemplo, por ELISA, testando a atividade biológica da proteína, ou empregando testes que são independentes de semelhante atividade, tais como Western blotting ou radioimunoensaio, usando anticorpos que reconhecem e ligam à proteína (vide Sambrook et al., 1989, *supra*).

Uma “célula hospedeira” se refere a uma célula na qual o gene codificando o polipeptídeo da invenção é introduzido. Células hospedeiras inclui tanto células procarióticas usadas para propagação dos plasmídeos / vetores, quanto células eucarióticas para expressão do gene estrutural. Tipicamente, as células eucarióticas são células mamíferas.

Um “polipeptídeo” é um polímero de resíduos aminoácidos unidos por ligações peptídicas, quer produzidas naturalmente ou sinteticamente. Polipeptídeos de menos de cerca de 20 resíduos aminoácidos podem ser referidos como “peptídeos.” Polipeptídeos compreendendo uma ou mais cadeias de polipeptídeos ou compreendendo uma cadeia de aminoácido de uma extensão de 100 aminoácidos ou mais podem ser referidos como “proteínas”.

Uma “proteína” é uma macromolécula compreendendo uma ou mais cadeias de polipeptídeo em que no mínimo uma cadeia tem uma ex-

tensão de aminoácido de 100 aminoácidos ou mais. Uma proteína também pode compreender componentes não peptídicos, tais como grupamentos carboidrato. Carboidratos e outros substituintes não peptídicos podem ser adicionados a uma proteína pela célula na qual a proteína é produzida, e podem variar com o tipo de célula. Proteínas são definidas aqui, neste requerimento de patente, em termos de suas estruturas de espinha dorsal de aminoácido; adições tais como grupamentos carboidrato são geralmente não especificadas, mas não obstante podem estar presentes.

“DNA heterólogo” ou “polipeptídeo heterólogo” se refere a uma molécula de DNA ou um polipeptídeo, ou uma população de moléculas de DNA ou uma população de polipeptídeos, que não existem naturalmente dentro de uma dada célula hospedeira. Moléculas de DNA heterólogas a uma célula hospedeira particular podem conter DNA derivado da espécie de célula hospedeira (isto é, DNA endógeno) na medida que o DNA hospedeiro seja combinado com DNA não hospedeiro (isto é, DNA exógeno). Por exemplo, uma molécula de DNA contendo um segmento de DNA não hospedeiro codificando um polipeptídeo encadeado operavelmente a um segmento de DNA hospedeiro compreendendo um promotor é considerado uma molécula de DNA heteróloga. Em vez, uma molécula de DNA heteróloga pode compreender um gene estrutural endógeno encadeado operavelmente com um promotor exógeno.

Um peptídeo ou polipeptídeo codificado por uma molécula de DNA não hospedeira é um peptídeo ou polipeptídeo “heterólogo”.

Um “vetor de clonagem” é uma molécula de ácido nucléico, tal como um plasmídeo, cosmídeo, fagomídeo ou cromossoma artificial bacteriano (BAC), o qual tem a capacidade de replicar autonomamente em uma célula hospedeira. Vetores de clonagem tipicamente contêm um ou um número pequeno de sítios de reconhecimento de endonuclease de restrição que permitem inserção de uma molécula de ácido nucléico em um modo determinável sem perda de uma função biológica essencial do vetor, bem como seqüências de nucleotídeo codificando um gene de resistência que é adequado para uso na identificação e seleção de células transformadas com

o vetor de clonagem. Genes de resistência tipicamente incluem genes que proporcionam resistência a tetraciclina ou resistência a ampicilina.

Um "plasmídeo de expressão" é uma molécula de ácido nucléico codificando uma proteína a ser expressada em uma célula hospedeira. Tipicamente, um plasmídeo de expressão compreende uma unidade de propagação de plasmídeo procariótico, por exemplo, para *E.coli*, compreendendo uma origem de replicação, e um marcador de seleção, um marcador de seleção eucariótico, e um ou mais cassetes de expressão para a expressão de um ou mais genes estruturais de interesse compreendendo um promotor, um gene estrutural, e um terminador de transcrição incluindo um sinal de poliadenação. A expressão genética é geralmente disposta sob o controle de um promotor, e diz-se que um gene estrutural semelhante é "encadeado operavelmente a" o promotor. Similarmente, um elemento regulador e um promotor de núcleo são encadeados operavelmente se o elemento regulador modula a atividade do promotor de núcleo.

Uma "unidade de transcrição policistrônica" é uma unidade de transcrição na qual mais de um gene estrutural está sob o controle do mesmo promotor.

Um "polipeptídeo isolado" é um polipeptídeo que é essencialmente livre de componentes celulares contaminantes, tais como carboidrato, lipídeo, ou outras impurezas proteínáceas associadas com o polipeptídeo na natureza. Tipicamente, uma preparação de um polipeptídeo isolado contém o polipeptídeo em uma forma altamente purificada, isto é, no mínimo cerca de 80% pura, no mínimo cerca de 90% pura, no mínimo cerca de 95% pura, mais de 95% pura, ou mais de 99% pura. Um modo de mostrar que uma preparação de proteína em particular contém um polipeptídeo isolado é pelo aparecimento de uma única banda depois de eletroforese por dodecil sulfato de sódio (SDS)-gel de poliacrilamida da preparação protéica e tintura Coomassie Brilliant Blue do gel. No entanto, o termo "isolado" não exclui a presença do mesmo polipeptídeo em formas físicas alternativas, tais como dímeros ou alternativamente formas glicosiladas ou derivadas.

O termo "imunoglobulina" se refere a uma proteína consistindo

em um ou mais polipeptídeos substancialmente codificados por genes de imunoglobulina. Os genes de imunoglobulina reconhecidos incluem os genes de domínios constantes (região) diferentes bem como miríade de genes de regiões variáveis de imunoglobulina. Imunoglobulinas podem existir em uma variedade de formatos, incluindo, por exemplo, Fv, Fab, e F(ab)₂ bem como cadeias únicas (scFv) (por exemplo, Huston, J.S., et al., PNAS USA 85 (1988) 5879-5883; Bird, R.E., et al., Science 242 (1988) 423-426; em geral, Hood et al., Immunology, Benjamin N.Y., 2nd edition (1984); e Hunkapiller, T. and Hood, L., Nature 323 (1986) 15-16).

Uma imunoglobulina em geral compreende no mínimo dois polipeptídeos de cadeia leve e dois polipeptídeos de cadeia pesada. Cada uma das cadeias dos polipeptídeos pesadas e leves contém um domínio variável (região) (geralmente a porção terminal amino da cadeia do polipeptídeo) o qual contém uma região de ligação (domínio) que é capaz de interagir com um antígeno. Cada uma das cadeias dos polipeptídeos pesadas e leves compreende uma região constante (geralmente a porção terminal carboxila). A região constante da cadeia pesada media a ligação do anticorpo i) a células carregando um receptor de Fc (FcγR), tal como células fagocitárias, ou ii) a células carregando o receptor de Fc neonatal (FcRn) também conhecido como receptor de Brambell. Também media a ligação a alguns fatores incluindo fatores do sistema de complemento clássico tais como componente (C1q).

O domínio variável de uma cadeia leve ou pesada de imunoglobulina por sua vez compreende diferentes segmentos, isto é, quatro regiões de *framework* (FR) e três regiões hipervariáveis (CDR).

Um "fragmento de imunoglobulina" denota um polipeptídeo compreendendo no mínimo os domínios constantes de uma cadeia de uma imunoglobulina, isto é, C_H1, região de articulação, C_H2, e C_H3 e opcionalmente C_H4 de uma cadeia pesada de uma imunoglobulina ou C_L de uma cadeia leve de uma imunoglobulina. Também são compreendidos derivados e variantes dos mesmos. Adicionalmente um domínio variável, no qual um ou mais aminoácidos ou regiões de aminoácidos são eliminados, pode estar presente. Em uma modalidade preferencial o domínio variável é eliminado

no fragmento de imunoglobulina.

"Terminador de transcrição" conforme denotado dentro deste requerimento é uma seqüência de DNA de 50 a 750 pares de base de extensão a qual dá à RNA polimerase o sinal para terminação da síntese de RNAm. Terminadores muito eficientes (fortes) na extremidade 3' de um cassette de expressão são aconselháveis para evitar que a RNA polimerase seja lida apressadamente particularmente ao usar promotores fortes. Terminadores de transcrição ineficazes podem levar à formação de um RNAm semelhante a operon o qual pode ser a razão para uma expressão genética indesejada, por exemplo, codificada por plasmídeo.

O termo "ligante" conforme usado dentro deste requerimento denota ligantes de peptídeos de origem natural ou sintética. Eles estão construindo uma cadeia linear de aminoácidos. A cadeia tem uma extensão de a partir de 1 até 50 aminoácidos, preferencial entre 3 e 25 aminoácidos. O ligante pode conter seqüências de aminoácidos repetitivas ou partes de polipeptídeos que ocorrem naturalmente, tais como polipeptídeos com uma função de articulação.

"Ligantes sintéticos" são designados para serem ricos em resíduos glicina, glutamina, e serina. Estes resíduos são dispostos em uma pequena unidade peptídica de até cinco aminoácidos, tal como GGGGS, QQQQG, ou SSSSG. A pequena unidade peptídica é repetida por duas a cinco vezes para formar uma unidade multimérica. Em cada uma das extremidades de terminal amino e/ou carbóxi da unidade multimérica até seis aminoácidos adicionais podem ser adicionados.

O termo "molécula biologicamente ativa" conforme usado aqui, neste requerimento de patente, se refere a uma molécula orgânica, por exemplo, uma macromolécula biológica tal como um peptídeo, proteína, glicoproteína, nucleoproteína, mucoproteína, lipoproteína, polipeptídeo ou proteína sintéticos, que causa um efeito biológico quando administrada em ou a sistemas biológicos artificiais, tais como bioensaios usando linhagens celulares e vírus, ou in vivo a um animal, incluindo mas não limitado a aves e mamíferos, incluindo seres humanos. Este efeito biológico pode ser mas não

está limitado a inibição ou ativação enzimática, ligação a um receptor ou um ligante, quer no sítio de ligação ou circunferencial, no disparo de sinal ou na modulação de sinal.

Moléculas biologicamente ativas são sem limitação, por exemplo, hormônios, citocinas, fatores de crescimento, ligantes de receptores, agonistas ou antagonistas, agentes citotóxicos, agentes antivirais, agentes de estudo por imagens, inibidores enzimáticos, ativadores enzimáticos ou moduladores da atividade enzimática tais como substâncias alostéricas.

O termo "aminoácido" conforme usado dentro deste requerimento compreende alanina (código de três letras: ala, código de uma letra: A), arginina (arg, R), asparagina (asn, N), ácido aspártico (asp, D), cisteína (cys, C), glutamina (gln, Q), ácido glutâmico (glu, E), glicina (gly, G), histidina (his, H), isoleucina (ile, I), leucina (leu, L), lisina (lys, K), metionina (met, M), fenilalanina (phe, F), prolina (pro, P), serina (ser, S), treonina (thr, T), triptofano (trp, W), tirosina (tyr, Y), e valina (val, V).

Métodos e técnicas de conhecimento de uma pessoa versada na técnica, os quais são úteis para realizar a presente invenção, são descritos, por exemplo, em Ausubel, F.M., ed., *Current Protocols in Molecular Biology*, Volumes I to III (1997), Wiley and Sons; Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989).

Esta invenção compreende um método para a produção recombinante de um polipeptídeo heterólogo em uma célula hospedeira eucariótica. A célula hospedeira compreende um plasmídeo de expressão, o qual compreende na direção 5' para 3' a) um promotor, b) um ácido nucléico codificando um primeiro polipeptídeo cuja sequência de aminoácidos é selecionada da Tabela 1 dependendo dos dois primeiros aminoácidos do segundo polipeptídeo, c) um ácido nucléico codificando um segundo polipeptídeo compreendendo um ácido nucléico codificando um polipeptídeo heterólogo tendo uma atividade biológica, um ácido nucléico codificando um peptídeo ou polipeptídeo selecionado entre o grupo consistindo em SEQ ID NO: 06-10, 139, 140, e 554-557, um ácido nucléico codificando um fragmento de

imunoglobulina, e d) uma região não traduzida 3'. Este plasmídeo de expressão é introduzido em uma célula hospedeira o qual é cultivado sob condições adequadas para a expressão do segundo polipeptídeo. O segundo polipeptídeo secretado é recuperado do meio de cultura.

O primeiro polipeptídeo é uma chamada seqüência de sinal. A seqüência de sinal é responsável pela secreção do polipeptídeo fixado / subsequente / operavelmente encadeado. Para ser eficaz a seqüência de sinal tem de ser reconhecida e processada pelas proteínas e enzimas dentro da célula expressando o polipeptídeo. No caso de uma célula hospedeira eucariótica, a seqüência de sinal é preferencialmente uma seqüência eucariótica. Para assegurar que o segundo polipeptídeo de acordo com a presente invenção seja secretado corretamente, a seqüência de sinal é selecionada entre seqüências de sinal de imunoglobulina humana e murina. Uma compilação de seqüências de sinal é mostrada na tabela 1.

Qual seqüência de sinal é selecionada depende dos aminoácidos subsequentes. Deve ser assegurado que a peptidase de sinal, a qual cliva a seqüência de sinal depois do processo de secreção, reconheça a seqüência de sinal do polipeptídeo secretado e a remova. Para proporcionar uma transição "natural" da seqüência de sinal para o polipeptídeo heterólogo a seqüência de sinal deve ser escolhida deste modo, de modo que os dois primeiros aminoácidos do polipeptídeo heterólogo sejam idênticos aos dois primeiros aminoácidos das seqüências de aminoácidos da região -FR1 da imunoglobulina natural seguinte.

Tabela 1: Série dos dois primeiros aminoácidos (dados em código de uma letra) do segundo polipeptídeo atribuído a peptídeos de sinal (primeiro polipeptídeo dado em código de uma letra).

início do segundo polipeptídeo com aminoácidos	primeiro peptídeo (seqüência de sinal) seqüência de aminoácidos	SEQ ID NO:
AC	MEFQTQVLMSLLCMS	163
	MESQTQVLMFLLWVS	164
	MVSTPQFLVFLFWIP	165

início do segundo polipeptídeo com aminoácidos	primeiro peptídeo (seqüência de sinal) seqüência de aminoácidos	SEQ ID NO:
AD	MESQTLVFISILLWLY	166
AG	MSVPTQLLGLLLLWLT	167
AH	MKSQTQVFIFLLLCVS	168
	MKSQTQVVFLLLCVS	169
AI	MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC	68
	MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC	69
	MDMRVPAQLLGLLQLWLSGARC	70
	MDMRVPAQLLGLLLLWLSGARC	71
	MDMRVPAQLLGLLLLWLPDTRC	72
	MDMRVPAQLLGLLLLWFPGARC	73
	MDMRVPAQLLGLLLLWFPGARC	74
	MDMRVLAQLLGLLLLCFPGARC	75
	MDMRVLAQLLGLLLLCFPGARC	76
	MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARC	77
	MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARC	78
	MDMRVPAQLLGLLLLWFPGSRC	79
	MDMRVPAQLLGLLLLWFPGSRC	80
	MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARC	81
	MDMRVPAQRLGLLLLWFPGARC	82
	MRVPAQLLGLLLLWLPGARC	83
	MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARC	84
	MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARC	85
	MDMRVPAQLLGLLLLWLPGAKC	86
	MAWISLILSLLALSS	170
	MAWTSILILSLLALCS	171
	MRCLAEFLGLLVLWIP	172
AL	MGWNWIFILISVTT	173
AQ	MRFQVQVLGLLLLWIS	174
	MRPSIQFLGLLLLFWLH	175

início do segundo polipeptídeo com aminoácidos	primeiro peptídeo (seqüência de sinal) seqüência de aminoácidos	SEQ ID NO:
AR	MDIRAPAQFLGILLWFP	176
	MDMMVLAQFLAFLWFP	177
	MDMRAPAQFLGILLWFP	178
	MDMRAPAQFLGILLWFP	179
	MDMRAPAQVFGFLWFP	180
	MDMRASAQFHGILLWFP	181
	MDMRASAQFHGILLWFP	182
	MDMWTSAQFLGILLWFL	183
	MNTRAPAEFLGFLWFL	184
	MRAPAPFLGLLFCFL	185
	MRTAPFLGLLFCFS	186
	MSISTQLLGLLWLT	187
	MSLPTQLQGLLWLT	188
	MSVLTQVLALLWLT	189
	MSVPTQLALLWLT	190
	MSVPTQVLGLLWLT	191
	TDFHMQIFSFMISFT	192
AS	MAWTSILSLLALCS	193
AT	MRCLAEFLRLVLWIP	194
CQ	MPWALLLTLLTHSAVSVV	138
DA	MKLPVRLLVLMFWIPSSS	195
DI	MDMRVPAQLLGLLWLRGARC	68
	MDMRVPAQLLGLLWLRGARC	69
	MDMRVPAQLLGLLQLWLSGARC	70
	MDMRVPAQLLGLLWLSGARC	71
	MDMRVPAQLLGLLWLPDTRC	72
	MDMRVPAQLLGLLWFPGARC	73
	MDMRVPAQLLGLLWFPGARC	74
	MDMRVLAQLLGLLLCFPGARC	75

início do segundo polipeptídeo com aminoácidos	primeiro peptídeo (seqüência de sinal) seqüência de aminoácidos	SEQ ID NO:
DI (continuação)	MDMRVLAQLLGLLLLCFPGARC	76
	MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARC	77
	MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARC	78
	MDMRVPAQLLGLLLLWFPGSRC	79
	MDMRVPAQLLGLLLLWFPGSRC	80
	MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARC	81
	MDMRVPAQRLGLLLLWFPGARC	82
	MRVPAQLLGLLLLWLPGARC	83
	MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARC	84
	MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARC	85
	MDMRVPAQLLGLLLLWLPGAKC	86
	MRLPAQLLGLLMLWVPGSSE	87
	MRLPAQLLGLLMLWVPGSSE	88
	MRLPAQLLGLLMLWVPGSSG	89
	MRLPAQLLGLLMLWVPGSSG	90
	MRLPAQLLGLLMLWIPGSSA	91
	MRLPAQLLGLLMLWIPGSSA	92
	MRLPAQLLGLLMLWVSGSSG	93
	MRLPAQLLGLLMLWVSGSSG	94
	MRLLAQLLGLLMLWVPGSSG	95
	MVLQTQVFISLLLWISGAYG	103
	MDIRAPAQFLGILLWFPARC	196
	MDMMVLAQFLAFLLLWFPARC	197
	MDMRAPAQFFGILLWFPIRC	198
	MDMRAPAQFLGILLWFPARC	199
	MDMRAPAQIFGFLLLWFQTRC	200
	MDMRAPAQVFGFLLLWFPARC	201
	MDMRASAQFLGFLLLWFP	202
	MDMRDPPQFLAFLLLWIP	203

início do segundo polipeptídeo com aminoácidos	primeiro peptídeo (seqüência de sinal) seqüência de aminoácidos	SEQ ID NO:
DI (continuação)	MDMRTPAQFLGILLWFPIKC	204
	MDMRVPAHVFGFLLWFPTRC	205
	MDSQAQVLILLLLWVSTCG	206
	MDSQAQVLMILLLSVSTCG	207
	MDSQAQVLMILLWVSTCG	208
	MDSQARVLMILLWVSTCG	209
	MEFQTQVFVFLWLSVDG	210
	MEFQTQVLMISLLCMSACA	211
	MEKDTLLLWVLLLWVPSTG	212
	MESDTLLLWVLLLWVPSTG	213
	MESQIQAFVFVFLWLSVDG	214
	MESQIQVFVFVFLWLSVDG	215
	MESQNHVLMFLLLWVSTCG	473
	MESQTHVLMFLLLWVSTCG	474
	MESQTQVFVYMLLWLSVDG	475
	MESQTQVLISLLFWVSTCG	476
	MESQTQVLMFLLLWVSACA	477
	MESQTQVLMISLLFWVSTCG	478
	METDPLLLWVLLLWVPSTG	479
	METDTILLWVLLLWVPSTG	480
	METDTLLLWVLLLWVPSTG	481
	METDTLLLWVLLLWVPSTG	482
	METHSQVFVYMLLWLSVEG	483
	MGFKMESHTQAFVFAFLWLSVDG	484
	MGVPTQLLLLWLTVRC	485
	MIASAQFLGILLLCFQTRC	486
	MKFPSQLLLFLLFRITIIC	487
	MKFPSQLLLLLLFGIPMIC	488
	MMSSAQFLGILLLCFQTRC	489

início do segundo polipeptídeo com aminoácidos	primeiro peptídeo (seqüência de sinal) seqüência de aminoácidos	SEQ ID NO:
DI (continuação)	MMSSAQFLGLLLLCFQTRY	490
	MNMLTQLLGLLLLWFAGKC	491
	MRCLAEFLGLLVLWIPAIG	492
	MRCLAEFLRLLVLWIPATG	493
	MRCSLQFLGVLMFWISVSG	494
	MRFSAQLLGLLVLWIPSTA	495
	MRPSIQFLGLLLFWLHAQC	496
	MRVLAELLGLLFCFLVRC	497
	MRVLPEFLGLLLLWISVRC	498
	MSISTQLLGLLLLWLTARC	499
	MSVLTQVLALLLLWLTARC	500
	MSVPTQLLALLLLWLTARC	501
	MSVPTQLLGLLLLWLTAGC	502
	MSVPTQVLGLLLLWLTARC	503
	MVFTPQILGLMLFWISSTG	504
	MVFTPQILGLMLFWISSRG	505
	MVLGLKWVFFVVFYQSRG	506
	MVSTSQLLGLLLFWTSSRG	507
	PAQFLFLLVLWIQSRC	508
DR	MSLLTQLQGLLLLWLT	216
DV	MRLPAQLLGLLMLWVPGSSE	87
	MRLPAQLLGLLMLWVPGSSE	88
	MRLPAQLLGLLMLWVPGSSG	89
	MRLPAQLLGLLMLWVPGSSG	90
	MRLPAQLLGLLMLWIPGSSA	91
	MRLPAQLLGLLMLWIPGSSA	92
	MRLPAQLLGLLMLWVSGSSG	93
	MRLPAQLLGLLMLWVSGSSG	94
	MRLLAQLLGLLMLWVPGSSG	95

início do segundo polipeptídeo com aminoácidos	primeiro peptídeo (seqüência de sinal) seqüência de aminoácidos	SEQ ID NO:
DV (continuação)	MLPSQLIGFLLLWVPASRG	105
	MLPSQLIGFLLLWVPASRG	106
	MVSPLQFLRLLLLWVPASRG	107
	LILKVQC	217
	LVLK VLC	218
	MDMRASAQFHGILLWFPARC	219
	MKLPVLLVLLLFTSPSSS	220
	MKLPVRLVLFWIPSSS	221
	MMSPAQFLFLLVLWIQTNG	222
	MMSPAQFLFLLVLWIRTNG	223
	MMSPVHSIFILLWIVISG	224
	MMSPVQFLFLLMLWIQTNG	225
	MNFGRLRIFLVTLKVQC	226
	MNLPVHLLVLLFWIPSRG	227
	MNTRAPAEFLGFLLLWFLARC	228
	MRFQVQVLGLLLLWISAQC	229
	MRVLSLLYLLTAIPGILS	230
EI	METPAQLLFLLLLWLPDTTG	96
	METPAQLLFLLLLWLPDTTG	97
	MEAPAQLLFLLLLWLPDTTG	98
	MEAPAQLLFLLLLWLPDTTG	99
	MEAPAQLLFLLLLWLPDTTG	100
	MEAPAQLLFLLLLWLTDTTG	101
	MEPWKPQHSFFLLLLWLPDTTG	102
	MLPSQLIGFLLLWVPASRG	105
	MLPSQLIGFLLLWVPASRG	106
	MVSPLQFLRLLLLWVPASRG	107
	MDFHVQIFSFM LISVTILSSG	231
	MDFQMQLISLLISVTIVSNG	232

início do segundo polipeptídeo com aminoácidos	primeiro peptídeo (seqüência de sinal) seqüência de aminoácidos	SEQ ID NO:
EI (continuação)	MDFQVQIFSFLISVTILTNG	233
	MDMRAPAQFLGILLWFPARC	234
	MNFHVQIFSFMLISVTIGSSG	235
	MTMLSLVLLLSFLLCSRA	236
	MVSTPQFLVFLLFWIPACG	237
	TELICVFLFLLSVTAILSSG	238
EI	MDCGISLVFLVLILKVC	239
EM	MDMWVQIFSLLLICVTSKG	240
EN	LLISVTIMSRG	241
	MDFQVQIFSFLISASIMSRG	242
	MDFQVQIFSFLISIVMSRG	243
	MDFQVQIFSFLISVSIMSRG	244
	MDLQVQIISFLLIIVTIMSRG	245
ET	MGSQVHLLSFLLLWISDTRA	104
	MGEQRIRSchATSGAESAR	246
	MGSQVHLLSFLLLWISDTRA	247
	MTMFSLALLLSLLLCVSSRA	248
	MTMLSLAPLLSLLLSRA	249
	MXTMDEHESGAVTPHQVLKSRA	250
EV	MDWTWRILFLVAAATGAHS	28
	MDWTWRILFLVAAATGAHS	29
	MDWTWRILFLVAAATSAHS	30
	MDWTWSILFLVAAPTGAHS	31
	MDCTWRILFLVAAATGTHA	32
	MDWTWRILFLVAAATDAYS	33
	MDWTWRVFCLLAVAPGAHS	34
	MDWIWRILFLVGAATGAHS	35
	MELGLSWVFLVAILEGVQC	38
	MELGLSWIFLLAILKGVQC	39

início do segundo polipeptídeo com aminoácidos	primeiro peptídeo (seqüência de sinal) seqüência de aminoácidos	SEQ ID NO:
EV (continuação)	MEFGLSWVFLVAIIKGVQC	40
	MELGLSWVFLVAILEGVQC	41
	MEFGLSWIFLAAILKGVQC	42
	MEFGLSWVFLVAILKGVQC	43
	MELGLRWVFLVAILEGVQC	44
	MEFGLSWLFLVAILKGVQC	45
	MEFGLSWVFLVALLRGVQC	46
	MEFGLSWVFLVALLRGVQC	47
	MEFGLSWVFLVAILKGVQC	48
	MELGLCWVFLVAILEGVQC	49
	MEFGLSWVFLVAILKGVQC	50
	MEFWLSWVFLVAILKGVQC	51
	MTEFGLSWVFLVAIFKGVQC	52
	MEFGLSWVFLVAILKGVQC	53
	MEFGLSWVFLVVILQGVQC	54
	MEFGLSWVFLVAILKGVQC	55
	MGSTAILALLLAVLQGVCS	64
	MGSTAILGLLLAVLQGVCA	65
	IKWSWIFLFLLSGTAVHS	251
	IKWSWISLFLLSGTAVHS	252
	LILKVQC	253
	LVLKVQC	254
	MAVVTGKGLPSPKLEVNS	255
	MDFGLIFFIVALLKVQC	256
	MDFGLSLVFLVLILKVQC	257
	MDMRASAQFHGILLWFPARC	258
	MEWELSLIFIFALLKDVQC	259
	MEWSCIFLFLLSVTAVHS	260
	MEWSCIFLFLLSVTAIHS	261

início do segundo polipeptídeo com aminoácidos	primeiro peptídeo (seqüência de sinal) seqüência de aminoácidos	SEQ ID NO:
EV (continuação)	MEWSWIFLFLLSGTAVLS	262
	MGWNWIFILISVTTALS	263
	MGWSCIILFLVATATVHS	264
	MGWNWIFILISVTTVHS	265
	MGWSCIMLFLAATATVHS	266
	MGWSWIFFFLLSGTAVLS	267
	MGWSWIFLFFLSGTAVLS	268
	MGWSWIFLFLLSGSAVLS	269
	MGWSWIFLFLLSGSAVHS	270
	MGWSWIFLFLLSGTAVHS	271
	MGWSWIFLFLLSGTAVLS	509
	MGWSWIFLFLLSGTAVLS	510
	MGWSWIFLLFLSGTAVLS	511
	MGWSWIFLLFLSGTAVHS	512
	MGWSWIFLLFLSGTAVLS	513
	MGWSWVFLSFLSGTAVLS	514
	MKCSWVIFFLMAVVIINS	515
	MKLWLNWILLVALLNIQC	516
	MLLGLKWVFFVVFYQVHC	517
	MLLGLKWVFFVVFYQGVHC	518
	MMVLSLLYLLTALPGILS	519
	MNFGLSLIFLVLIKVC	520
	MQLGHLLPDGSVNS	521
	MVSETHVLIFLLLWVSVHC	522
	RSVPTQLLGLLLLWLTVNS	523
GH	MGWSYIILFLVATAT	272
GI	IDINVQIFRFLISVTSSG	273
GK	MNMLTQLLGLLLLWFA	274
GR	MRTPAHFLGLLLLCFL	275

início do segundo polipeptídeo com aminoácidos	primeiro peptídeo (seqüência de sinal) seqüência de aminoácidos	SEQ ID NO:
HV	MRWSCILFLVATATVHS	276
IG	MNFHVQIFSFMLISVT	277
IH	MEWSCIFLFLLSVTA	278
II	MDFQVQIFQIPVKQCL	279
	MDFQVQIFSFLISAS	280
	MKFPSQLLLFLFRIT	281
IK	MDMRTPAQFLGILLWFP	282
IL	MAVLALLFCLVTFPS	283
	MDFHVQIFSFMLISVT	284
	MDFQVQIFSFLISAS	285
	MDFQVQIFSFLISR	286
	MDFQVQIFSFLISVT	287
	TELICVFLFLLSVTA	288
IM	LLISVT	289
	MDFQVQIFSFLISAS	290
	MDFQVQIFSFLISVS	291
	MDFQVQIFSFLISVS	292
	MDFQVQIFSFLMSAS	293
	MDLQVQIISFLIIVT	294
	MHFQVQIFSFLISAS	295
IN	MKCSWVIFFLMAVVI	296
IQ	MKLWLNWLLVALLN	297
IR	MDMRAPAQFFGILLWFP	298
IS	MIYSLQLLRMLVLWIP	299
	MMSPVHSIFILLWIV	300
	MSYSLQLLRMLVLWIP	301
IT	MSYSLQLLRMLVLWIP	302
IV	MDFQMQUIISLLISVT	303
KN	MDFQVQIFQIPVKQCLIISRG	304

início do segundo polipeptídeo com aminoácidos	primeiro peptídeo (seqüência de sinal) seqüência de aminoácidos	SEQ ID NO:
LM	MDFQVQIFSFLISAS	305
LP	MAWVSFYLLPFIFSTGLCA	127
	MAWTQLLLLFPLLLHWTGSLS	128
	MAWTPLLFLTLLHCTGSLS	129
LR	MRPTLSFLGSCSSLI	306
MI	MKFPSQLLLLLLFGIP	307
NF	MAW AP LLLTLAHCTGSWA	133
NI	MDMRVPAQLLGLLLWLRGARC	68
	MDMRVPAQLLGLLLWLRGARC	69
	MDMRVPAQLLGLLQLWLSGARC	70
	MDMRVPAQLLGLLLWLWSGARC	71
	MDMRVPAQLLGLLLWLDPDTRC	72
	MDMRVPAQLLGLLLWFPARGC	73
	MDMRVPAQLLGLLLWFPARGC	74
	MDMRVLAQLLGLLLCFPARGC	75
	MDMRVLAQLLGLLLCFPARGC	76
	MDMRVPAQLLGLLLWLPGARC	77
	MDMRVPAQLLGLLLWLPGARC	78
	MDMRVPAQLLGLLLWFPGSRC	79
	MDMRVPAQLLGLLLWFPGSRC	80
	MDMRVPAQLLGLLLWLPGARC	81
	MDMRVPAQLLGLLLWFPGARC	82
	MRVPAQLLGLLLWLPGARC	83
	MDMRVPAQLLGLLLWLPGARC	84
	MDMRVPAQLLGLLLWLPGARC	85
	MDMRVPAQLLGLLLWLPGAKC	86
	MESDTLLLWVLLLWVPSTS	308
	MESQTLVFISILLWLYADG	309
	MESQTQVFLSLLLWVSTCG	310

início do segundo polipeptídeo com aminoácidos	primeiro peptídeo (seqüência de sinal) seqüência de aminoácidos	SEQ ID NO:
NI (continuação)	METDTLLLWVLLLWVPSTG	311
PV	MGWSCIMFLAATATVHS	312
	MGWSCIMFLAATATGVHS	313
QA	MD M RVP AQ LLGLLLLWLRGARC	68
	MD M RVP AQ LLGLLLLWLRGARC	69
	MD M RVP AQ LLGLLQLWLSGARC	70
	MD M RVP AQ LLGLLLLWLSGARC	71
	MD M RVP AQ LLGLLLLWLPDTRC	72
	MD M RVP AQ LLGLLLLWFPGARC	73
	MD M RVP AQ LLGLLLLWFPGARC	74
	MD M RVL AQ LLGLLLLCFPGARC	75
	MD M RVL AQ LLGLLLLCFPGARC	76
	MD M RVP AQ LLGLLLLWLPGARC	77
	MD M RVP AQ LLGLLLLWLPGARC	78
	MD M RVP AQ LLGLLLLWFPGSRC	79
	MD M RVP AQ LLGLLLLWFPGSRC	80
	MD M RVP AQ LLGLLLLWLPGARC	81
	MD M RVP AQ RLGLLLLWFPGARC	82
	M RVP AQ LLGLLLLWLPGARC	83
	MD M RVP AQ LLGLLLLWLPGARC	84
	MD M RVP AQ LLGLLLLWLPGARC	85
	MD M RVP AQ LLGLLLLWLPGAKC	86
	MAW TP LLLLLSHCTGSLS	130
	MAW TP LLLLFLSHCTGSLS	131
	MAW TL LLLVLLSHCTGSLS	132
	MAW TP LFLFLTCCPGSNS	134
	MAW TP LFLFLTCCPGSNS	135
	MAWISLILSLLALSSAIS	314
	IGWSYIILLLVATATVHS	315

início do segundo polipeptídeo com aminoácidos	primeiro peptídeo (seqüência de sinal) seqüência de aminoácidos	SEQ ID NO:
EV (continuação)	MAWTSLILSLLALCSASS	316
	MAWTSLILSLLALCSAIS	317
	MGWSCVLLFLVSGTAVLC	318
QI	MDT LC STLLLLTIPSWVLS	36
	MDT LC YTLLLLTTPSWVLS	37
	MDFQVQIFSFLISASIISRG	319
	MDFQVQIFSFLISASILFRG	320
	MDFQVQIFSFLISASILSRG	321
	MDFQVQIFSFLISASIMSRG	322
	MDFQVQIFSFLISASLMSRG	323
	MDFQVQIFSFLISRILSRG	324
	MDFQVQIFSFLISVSIMSRG	325
	MDFQVQIFSFLMSASIMSRG	326
	MDTLCSTLLLLTIPSWVLS	327
	MGWSWIFLFLSGTAVHC	328
	MHFQVQIFSFLISASIMSRG	329
QL	MKH LW FFLLLVAAPRWVLS	56
	MKH LW FFLLLVAAPRWVLS	57
	MKH LW FFLLLVAAPRWVLP	58
	MKH LW FFLLLVAAPRWVLS	59
	MKH LW FFLLLVAAPRWVLS	60
	MKH LW FFLLLVAAPRWVLS	61
	MKH LW FFLLLVAAPRWVLS	62
	MKH LW FFLLLVAAPRWVLS	63
	MAW VS FYLLPFIFSTGLCA	127
	M A WTQ LL LLFPLLLHWTGSLS	128
	M AWT PL LFLTLLHCTGSLS	129
	MAWTPLFFFFVLHCSSFS	330
QM	MDWTWRILFLVAAATGAHS	28

início do segundo polipeptídeo com aminoácidos	primeiro peptídeo (seqüência de sinal) seqüência de aminoácidos	SEQ ID NO:
QM (continuação)	MDWTWRILFLVAAATGAHS	29
	MDWTWRILFLVAAATSAHS	30
	MDWTWSILFLVAAPTGAHS	31
	MDCTWRILFLVAAATGTHA	32
	MDWTWRILFLVAAATDAYS	33
	MDWTWRVFCLLAVAPGAHS	34
	MDWIWRILFLVGAATGAHS	35
	MRVLGFLCLVTVLP GSLS	331
QP	MAWVSFYLLPFIFSTGLCA	127
	MAWTQLLLLFPLLLHWTGSLS	128
	MAWTPLLFLTLLLHCTGSLS	129
	MAWTPLLLLLLSHCTGSLS	130
	MAWTPLLLLLFLSHCTGSLS	131
	MAWTLLLLVLLSHCTGSLS	132
	MAWAPLLLTLSSLLTGSLS	137
	MAWTPLFFFFLLHCSSFS	332
QS	MAWSPLFLTLLTHCAGSWA	108
	MAWSPLLLTLLAHCTGSWA	109
	MASFPLLLTLLTHCAGSWA	110
	MAGFPLLLTLLTHCAGSWA	111
	MTCSPLLLTLIHCTGSWA	112
	MAWALLLLTLLTQGTGSWA	113
	MAWALLLLSLLTQGTGSWA	114
	MAWALLLLTLLTQGTGSWA	115
	MAWALLLLTLLTQGTGSWA	116
	MAWALLLLTLLTQDTGSWA	117
QT	MAWTPLFLFLTCCPGSNS	134
	MAWTPLFLFLTCCPGSNS	135
	MAWMMLLLGLLAYGSGVDS	136

início do segundo polipeptídeo com aminoácidos	primeiro peptídeo (seqüência de sinal) seqüência de aminoácidos	SEQ ID NO:
QV	MDWTWRILFLVAAATGAHS	28
	MDWTWRILFLVAAATGAHS	29
	MDWTWRILFLVAAATSAHS	30
	MDWTWSILFLVAAPTGAHS	31
	MDCTWRILFLVAAATGTHA	32
	MDWTWRILFLVAAATDAYS	33
	MDWTWRVFCLLAVAPGAHS	34
	MDWIWRILFLVGAATGAHS	35
	MDTLCSTLLLLTIPSWVLS	36
	MDTLCYTLLLLTTPSWVLS	37
	MELGLSWVFLVAILEGVQC	38
	MELGLSWIFLLAILKGVQC	39
	MEFGLSWVFLVAIIKGVQC	40
	MELGLSWVFLVAILEGVQC	41
	MEFGLSWIFLAAILKGVQC	42
	MEFGLSWVFLVAILKGVQC	43
	MELGLRWVFLVAILEGVQC	44
	MEFGLSWLFLVAILKGVQC	45
	MEFGLSWVFLVALLRGVQC	46
	MEFGLSWVFLVALLRGVQC	47
	MEFGLSWVFLVAILKGVQC	48
	MEI GLCWVFLVAILEGVQC	49
	MEFGLSWVFLVAILKGVQC	50
	MEFWLSWVFLVAILKGVQC	51
	MTEFGLSWVFLVAIFKGVQC	52
	MEFGLSWVFLVAILKGVQC	53
	MEFGLSWVFLVVILQGVQC	54
	MEFGLSWVFLVAILKGVQC	55
	MKHLWFFLLLVAAPRWVLS	56

início do segundo polipeptídeo com aminoácidos	primeiro peptídeo (seqüência de sinal) seqüência de aminoácidos	SEQ ID NO:
QV (continuação)	MKHLWFFLLLVAAPRWVLS	57
	MKHLWFFLLLVAAPRWVLP	58
	MKHLWFFLLLVAAPRWVLS	59
	MKHLWFFLLLVAAPRWVLS	60
	MKHLWFFLLLVAAPRWVLS	61
	MKHLWFFLLLVAAPRWVLS	62
	MKHLWFFLLLVAAPRWVLS	63
	MSVSFLIFLPVLGLPWGVLS	66
	MDWTWRILFLVAAATGAHS	67
	IFLFLLSITAVHC	333
	KGGSCVSLFLVATANVHF	334
	MAVLALLFCLVTFPSILS	335
	MAVLGLLFCLVTFPSVLS	336
	MAVLGLLLCLVTFPSVLS	337
	MAWSWVFLFFLSVTTVHS	338
	MDWIWIMLHLLAATGIQS	339
	MECSWVFLFLLSLTAVHC	340
	MEFGLSWVFLVALLRGVQC	341
	MEWLXXFLLFLSLTAVHC	342
	MEWSGVFIFLLSVTAVHS	343
	MEWSGVFIFLLSVTAVYS	524
	MEWSRVFIFLLSVTAVHS	525
	MEWSWVFLFFLSVTTVHS	526
	MEWSWVFLFLLSLTSVHS	527
	MGRLTFSFLLLLPVPVLS	528
	MGWSCIIFFLVATATVHF	529
	MGWSCIIFLVAAANVHS	530
	MGWSCIIFLVAAATVHS	531
	MGWSCIIFLVATATVHS	532

início do segundo polipeptídeo com aminoácidos	primeiro peptídeo (seqüência de sinal) seqüência de aminoácidos	SEQ ID NO:
QV (continuação)	MGWSCIILFLVATATVHS	533
	MGWSCIILFLVSTATVHS	534
	MGWSCIILILVAAATVHS	535
	MGWSCIILILVAAATVHS	536
	MGWSCIILILVAAATVQF	537
	MGWSCIMLFLAARATVHS	538
	MGWSCIMLFLAATATVHF	539
	MGWSCIMLFLAATATVHF	540
	MGWSCIMLFLAATATVHS	541
	MGWSCIMLFLAATATVHS	542
	MGWSCIMLFLAATATVHS	543
	MGWSFLPLFLAATATGVHS	544
	MGWSRIFLFLLSITAVHC	545
	MGWSSIILFLVATATVHS	546
	MGWSWIFPFLLSGTAVHC	547
	MGWSYIIFFLVATATVHF	548
	MGWSYIIFFLVATATVHS	549
	MGWSYIILFLVATATGHS	550
	MGWSYIILFLVATATVHS	551
	MGWSYIILFLVATATVNS	552
	MRWSCIILFLVATATVHS	553
SA	METPASFLCLLLLWTT	344
SF	MAWTPLFFFFLLHCS	345
	MAWTPLFFFFVLHCS	346
SI	MKSQTQVFIFLLLCVSAHG	347
	MKSQTQVFVFLLLCVSAHG	348
SK	MDMWVQIFSLLLICVT	349
SR	MXTMDEHESGAVTPHQVLK	350
	MGEQRIRSCHATSGAE	351

início do segundo polipeptídeo com aminoácidos	primeiro peptídeo (seqüência de sinal) seqüência de aminoácidos	SEQ ID NO:
SR (continuação)	MNLPVHLLVLLLFWIP	352
	MTMFSLALLLSLLLLCVS	353
	MTMLSLAPLLSLLLL	354
	MTMLSLVLLLSFLLLC	355
	MVFTPQILGLMLFWIS	356
	MVLGLKWVFFVVFYQ	357
	MVSTSQLLGLLFWTS	358
	PAQFLFLLVLWIQ	359
SS	MAWIPLFLGVLAYCTGSVA	118
	MAWTALLLSLLAHFTGSVA	119
	MAWTPLLLPLLTFTVSEA	120
	MAWIPLLLPLLTCTGSEA	121
	MAWTPLWLTLLTLCIGSVV	122
	MAWTVLLLGLLSHCTGSVT	123
	MAWATLLLPLLNLYTGSIA	124
	MAWIPLLLPLLTCTGSEA	125
	MAWIPLLLPLLICTVSVA	126
	IDINVQIFRLLISVT	360
	MKLPVLLVLLLFSTP	361
	MKLPVRLLVLMFWIP	362
	MKLPVRLLVLMFWIP	363
ST	MEKDTLLLWVLLLVVP	364
	MESDTLLLWVLLLVVP	365
	MESDTLLLWVLLLVVP	366
	METDPLLLWVLLLVVP	367
	METDTILLWVLLLVVP	368
	METDTLLLWVLLLVVP	369
	METDTLLLWVLLLVVP	370
	METDTLLLWVLLLVVP	371

início do segundo polipeptídeo com aminoácidos	primeiro peptídeo (seqüência de sinal) seqüência de aminoácidos	SEQ ID NO:
ST (continuação)	MRFSAQLLGLLVLWIP	372
	MVFTPQILGLMLFWIS	373
SY	MAWIPLFLGVLAYCTGSVA	118
	MAWTALLLSLLAHFTGSVA	119
	MAWTPLLLPLLTFTCTVSEA	120
	MAWIPLLLPLLTCTGSEA	121
	MAWTPLWLTLLTLCIGSVV	122
	MAWTVLLLGLLSHCTGSVT	123
	MAWATLLLPLLNLYTGSIA	124
	MAWIPLLLPLLTCTGSEA	125
	MAWIPLLLPLLICTVSVA	126
TC	MDSQAQVLILLLLWVS	374
	MDSQAQVLMLLLSVS	375
	MDSQAQVLMLLLLWVS	376
	MDSQARVLMLLLLWVS	377
	MESQNHVLMFLLWVS	378
	MESQTHVLMFLLWVS	379
	MESQTQVFLSLLWVS	380
	MESQTQVLISLLFWVS	381
	MESQTQVLMsLLFWVS	382
TG	METPASFLCLLLLWTTSAV	383
TN	QHGHEGLCSVSWVPVA	384
	MMSPAQFLFLLVLWIQ	385
	MMSPAQFLFLLVLWIR	386
	MMSPVQFLFLLMLWIQ	387
TR	MIASAQFLGLLLLCFQ	388
	MMSSAQFLGLLLLCFQ	389
	MMSSAQFLGLLLLCFQ	390
	MDMRAPAQIFGFLLLLFQ	391

início do segundo polipeptídeo com aminoácidos	primeiro peptídeo (seqüência de sinal) seqüência de aminoácidos	SEQ ID NO:
TR (continuação)	MDMRVPAHVFGFLLWFP	392
VC	MDCGISLVFLVLILK	393
VD	MEFQTQVFVFLWLS	394
	MESQIQAFVFLWLS	395
	MESQIQVFVFLWLS	396
	MESQTQVFVYMLLWLS	397
	MGFKMESHTQAFVFAFLWLS	398
VE	METHSQVFVYMLLWLS	399
VH	MEWLXXFLLFLSLTA	400
	MEWSCIFLFLSVTA	401
	MEWSGVFIFLLSVTA	402
	MEWSRVFIFLLSVTA	403
	MEWSWVFLFLLSVTT	404
	MEWSWVFLFLLSLTS	405
	MGWNWIFILISVTT	406
	MGWSCIIFFLVATAT	407
	MGWSCIIILFLVAAAN	408
	MGWSCIIILFLVAAAT	409
	MGWSCIIILFLVATAT	410
	MGWSCIIILFLVATAT	411
	MGWSCIIILFLVATAT	412
	MGWSCIIILFLVSTAT	413
	MGWSCIIILVAAAT	414
	MGWSCIIILVAAAT	415
	MGWSCIMLFLAARAT	416
	MGWSCIMLFLAATAT	417
	MGWSCIMLFLAATAT	418
	MGWSCIMLFLAATAT	419
	MGWSCIMLFLAATAT	420

início do segundo polipeptídeo com aminoácidos	primeiro peptídeo (seqüência de sinal) seqüência de aminoácidos	SEQ ID NO:
VH (continuação)	MGWSCIMFLAATAT	421
	MGWSCIMFLAATAT	422
	MGWSCIMFLAATAT	423
	MGWSRIFLFLLSITA	424
	MGWSSIILFLVATAT	425
	MGWSWIFLFLLSGSA	426
	MGWSWIFLFLLSGTA	427
	MGWSWIFLFLLSGTA	428
	MGWSWIFLFLLSGTA	429
	MGWSWIFPFLLSGTA	430
	MGWSYIIFFLVATAT	431
	MGWSYIIFFLVATAT	432
	MGWSYIILFLVATAT	433
	MGWSYIILFLVATAT	434
	MGWSYIILFLVATAT	435
	MLLGLKWVFFVVFYQ	436
	MRWSCILFLVATAT	437
	MRWSCILFLVATAT	438
	MVSETHVLIFLLLVWS	439
	IFLFLLSITA	440
	IGWSYIILLVATAT	441
	IKWSWIFLFLLSGTA	442
	IKWSWISLFLLSGTA	443
	KGGSCVSLFLVATAN	444
	MAWSWVFLFFLSVTT	445
	MECSWVFLFLLSLTA	446
VI	MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC	68
	MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC	69
	MDMRVPAQLLGLLQLWLSGARC	70

início do segundo polipeptídeo com aminoácidos	primeiro peptídeo (seqüência de sinal) seqüência de aminoácidos	SEQ ID NO:
VI (continuação)	MDMRVPAQLLGLLLLWLSGARC	71
	MDMRVPAQLLGLLLLWLPDTRC	72
	MDMRVPAQLLGLLLLWFPGARC	73
	MDMRVPAQLLGLLLLWFPGARC	74
	MDMRVLAQLLGLLLLCFPGARC	75
	MDMRVLAQLLGLLLLCFPGARC	76
	MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARC	77
	MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARC	78
	MDMRVPAQLLGLLLLWFPGSRC	79
	MDMRVPAQLLGLLLLWFPGSRC	80
	MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARC	81
	MDMRVPAQRLGLLLLWFPGARC	82
	MRVPAQLLGLLLLWLPGARC	83
	MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARC	84
	MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARC	85
	MDMRVPAQLLGLLLLWLPGAKC	86
	MIYSLQLLRMLVLWIPISK	447
	MSYSLQLLRMLVLWIPISK	448
	MSYSLQLLRMLVLWIPITK	449
VL	LVLK	450
	MAVLGLLFCLVTFPS	451
	MAVLGLLLCLVTFPS	452
	MDRLTSSFLLLIVPA	453
	MEWSWIFLFLLSGTA	454
	MGRLTFSFLLLLPVPA	455
	MGWSCVLLFLVSGTA	456
	MGWSWIFFFLLSGTA	457
	MGWSWIFLFFLSGTA	458
	MGWSWIFLFLLSGSA	459

início do segundo polipeptídeo com aminoácidos	primeiro peptídeo (seqüência de sinal) seqüência de aminoácidos	SEQ ID NO:
VL (continuação)	MGWSWIFLFLLSGTA	460
	MGWSWIFLFLLSGTA	461
	MGWSWIFLLFLSGTA	462
	MGWSWIFLLFLSGTA	463
	MGWSWVFLSFLSGTA	464
VM	MDFQVQIFSFLISIS	465
VN	MAVVTGKGLPSPKLE	466
	MGWSYIILFLVATAT	467
	MQLGHLLPDGS	468
	RSVPTQLLGLLLLWLT	469
VQ	LILK	470
	LVLK	471
	MDFGLIFFIVALLK	141
	MDFGLSLVFLVLILK	02
	MGWSCIIILVAAAT	05
	MNFGRLRIFLVLTk	20
	MNFGLSLIFLVILK	21
VR	MGVPTQLLLLWLT	22
	MRVLAELLGLLLFCFL	23
	MRVLPEFLGLLLWIS	24
VS	MRCSLQFLGVLMFWIS	25
	REWSWNFLFLLSGTT	26
VY	MEWSGVFIFLLSVTA	27

início do segundo polipeptídeo com aminoácidos	primeiro peptídeo (seqüência de sinal) seqüência de aminoácidos	SEQ ID NO:
se a combinação dos dois primeiros aminoácidos do segundo polipeptídeo não for listada nesta tabela estes primeiros polipeptídeos podem ser usados	ELWVLMVWVP	142
	ELWVLMVWVPSTS	143
	HDHALTSSSPQPSSPLCL	144
	LAVITSNIWFPMVCMS	145
	MDMWTSAQFLGILLWFLARC	146
	MDRLTSSFLLLIVPAVLS	147
	MLRAIKAAPFSRFGCS	148
	MRAPAPFLGLLLFCFLARC	149
	MRCSPHFLELLVFWIL	150
	MRPTLSFLGSCSSILRC	151
	MRTPAHFLGLLLLCFLGRC	152
	MRTPAFLGLLLFCFSARC	153
	MSLLTQLQGLLLLWLTDRC	154
	MSLPTQLQGLLLLWLTARC	155
	MTMLSLAPLLSLLLCVS	156
	MTSLSQLLGMLMLQSL	157
	MVFAPQILGFLLLWIS	158
	MVFTPHILGLLLFWIS	159
	QHGHEGLCSVSWVPVATNS	160
	REWSWNFLFLLSGTTVSS	161
	TDFHMQIFSMLISFTARC	162

Se o dipeptídeo dos dois primeiros aminoácidos do segundo polipeptídeo não for explicitamente listado na Tabela 1, e não se pretender usar nenhuma seqüência conforme listado na última linha da Tabela 1, é vantajoso não enfileirar o primeiro polipeptídeo e o segundo polipeptídeo diretamente juntos. Em um caso semelhante é favorável inserir uma seqüência curta de até cinco aminoácidos para se assemelhar ao início da seqüência da região FR1 da imunoglobulina a qual iria / poderia naturalmente seguir o primeiro polipeptídeo. Esta seqüência pode ser um único aminoácido ou

um dipeptídeo, o peptídeo QIWNN (SEQ ID NO: 472) ou um fragmento do mesmo para se assemelhar aos dois primeiros aminoácidos da região FR1 da imunoglobulina natural seguinte. Em uma modalidade, esta seqüência é o peptídeo QIWNN (SEQ ID NO:472), ou uma fração N-terminal do mesmo compreendendo no mínimo o dipeptídeo QI.

Depois do primeiro polipeptídeo ou opcionalmente depois da seqüência curta inserida o segundo polipeptídeo compreende um polipeptídeo heterólogo. Este polipeptídeo heterólogo tem uma seqüência de aminoácidos de a partir de 5 até 500 resíduos aminoácidos. Em uma modalidade preferencial da invenção a seqüência de aminoácidos é de a partir de 10 até 350 resíduos aminoácidos e em uma modalidade mais preferencial de a partir de 15 até 150 resíduos aminoácidos. O polipeptídeo heterólogo conjugado à imunoglobulina é selecionada entre o grupo compreendendo moléculas biologicamente ativas. Estas moléculas apresentam um efeito biológico quando administradas a um sistema biológico artificial ou uma célula viva, tal como em sistemas de teste, ou a um organismo vivo, tal como aves ou mamíferos, incluindo seres humanos. Estes compostos biologicamente ativos compreendem, mas não estão limitados a, agonistas bem como antagonistas de receptores, inibidores bem como ativadores de enzimas, e semelhantes, e também peptídeos, polipeptídeos, e proteínas apresentando atividade citotóxica, antiviral, antibacteriana, ou anti-cancerígena, bem como antígenos. O efeito biológico pode ser, mas não está limitado, a inibição enzimática, ligação a um receptor, quer no sítio de ligação ou circunferencial, e disparo de sinal. Estes compostos biologicamente ativos são, por exemplo, úteis para aplicações farmacêuticas, terapêuticas, ou de diagnóstico.

O segundo polipeptídeo compreende adicionalmente depois do polipeptídeo heterólogo um ligante. Ligantes que podem ser usados preferencialmente com a presente invenção são listados na Tabela 2.

Tabela 2: Possíveis ligantes.

ligante Nº	ligante seqüência de aminoácidos	SEQ ID NO:
1	[Ser(Gly) ₄] ₃	06
2	[Ser(Gly) ₄] ₅	07
3	[Gly(Gln) ₄] ₃	08
4	Gly(Ser) ₁₅ Gly	09
5	GST	10
6	[(Gly) ₄ Ser] ₃ -Gly-Ala-Ser	139
7	Gly(Ser) ₁₅ Gly-Ala-Ser	140
8	[(Gly) ₄ Ser] ₃ -Gly	554
9	[(Gly) ₄ Ser] ₅ -Gly	555
10	[(Gly) ₄ Ser] ₃ -Gly ₂	556
11	[(Gly) ₄ Ser] ₅ -Gly ₂	557

Depois do ligante um fragmento de imunoglobulina segue como a parte carbóxi-terminal do segundo polipeptídeo.

O segundo polipeptídeo compreende um polipeptídeo heterólogo seguido por um ligante e seguido por um fragmento de imunoglobulina como parte carbóxi-terminal, isto é, um ácido nucléico codificando o segundo polipeptídeo compreende em uma direção 5' para 3' ácidos nucléicos codificando um polipeptídeo heterólogo, um ligante, e um fragmento de imunoglobulina.

Moléculas de imunoglobulina são atribuídas a cinco classes diferentes: IgA (Imunoglobulina A), IgD, IgE, IgG, e IgM. Destas IgG e IgE são mais frequentemente usadas em aplicações farmacêuticas e diagnósticas. Dentro destas classes as imunoglobulinas diferem em sua estrutura global mas os blocos de construção são similares. Todas as imunoglobulinas são compostas de duas cadeias de polipeptídeos diferentes, uma cadeia leve e uma cadeia pesada.

Um fragmento de imunoglobulina compreende um ou mais domínios constantes de carbóxi-terminal de uma cadeia leve ou pesada de imunoglobulina, por exemplo, compreende ou no mínimo o domínio C_H1-,

C_H2-, C_H3 e a região de articulação de uma cadeia pesada de imunoglobulina e opcionalmente um domínio C_H4, ou o domínio C_L de uma cadeia leve de imunoglobulina. A imunoglobulina da qual o fragmento é derivado pode ser uma imunoglobulina que ocorre naturalmente ou uma imunoglobulina sintética. Em uma modalidade da invenção o fragmento de imunoglobulina adicionalmente contém um fragmento de um domínio variável de cadeia pesada ou leve ou de uma variante do mesmo. No fragmento de domínio variável um ou mais aminoácidos ou uma ou mais regiões são eliminados. Em uma modalidade a partir de um a seis aminoácidos do domínio variável são eliminados. Em outra modalidade a partir de um a seis regiões do domínio variável são eliminadas. Em uma modalidade adicional o domínio variável é eliminado. A presença de um domínio variável funcional, isto é, de reconhecimento antigênico, no fragmento de imunoglobulina não é essencial para a presente invenção. Uma imunoglobulina não funcionável de acordo com a invenção é uma imunoglobulina não possuindo um domínio variável de reconhecimento antigênico. Em uma modalidade, o fragmento de imunoglobulina é uma imunoglobulina não funcionável. Em uma modalidade, os domínios variável e constantes compreendidos no fragmento de imunoglobulina são/derivados do mesmo anticorpo, isto é, pertencem ao mesmo anticorpo.

As diferentes seqüências de ácidos nucléicos são encadeadas operavelmente sobre um plasmídeo de expressão. Para expressão o plasmídeo é introduzido em uma célula hospedeira. Proteínas são preferencialmente produzidas em células mamíferas tais como células CHO, células NS0, células Sp2/0, células COS, células HEK, células K562, células BHK, células PER.C6, e semelhantes.

Os exemplos, listagem de seqüência e figuras seguintes são proporcionados para auxiliar no entendimento da presente invenção, cujo verdadeiro escopo é determinado nas reivindicações anexadas. Entende-se que podem ser feitas modificações nos procedimentos determinados sem se afastar do espírito da invenção.

Descrição das Figuras:

- Figura 1 Estrutura comum de imunoglobulinas da classe das IgG.
- Figura 2 Mapa de plasmídeo do vetor de expressão de cadeia pesada- $\gamma 1$ anti-IGF-1R 4818.
- Figura 3 Mapa de plasmídeo do vetor de expressão de cadeia leve- κ anti-IGF-1R 4802.
- Figura 4 Mapa de plasmídeo do vetor genético da região constante de cadeia pesada- $\gamma 1$ 4962.
- Figura 5 Mapa de plasmídeo do vetor de expressão de cadeia leve κ anti-IGF-1R modificado 4964.
- Figura 6 Mapa de plasmídeo do vetor de expressão de cadeia leve anti-IGF-1R modificado 4963.
- Figura 7 Géis SDS-PAGE corados com Coomassie Blue de conjugados de imunoglobulina purificados por afinidade; disposição de amostras de acordo com a Tabela 6.
- Figura 8 Imunodeteção da cadeia leve em sobrenadantes da cultura celular depois de expressão transitória em células HEK293 EBNA; disposição de amostras de acordo com a Tabela 6.
- Figura 9 Imunodeteção da cadeia pesada em sobrenadantes da cultura celular depois de expressão transitória em células HEK293 EBNA; disposição de amostras de acordo com a Tabela 6.

Exemplos

Material e Métodos

Informação geral referente às seqüências de nucleotídeos de cadeias leve e pesada de imunoglobulinas humanas é dada em: Kabat, E.A., et al., (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, fifth ed., NIH Publication No 91-3242.

Aminoácidos de cadeias de anticorpos são numeradas de acordo com a numeração EU (Edelman, G.M., et al., PNAS 63 (1969) 78-85; Kabat, E.A., et al., (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Ed., NIH Publication No 91-3242).

Técnicas de DNA Recombinante

Métodos de rotina foram usados para manipular DNA conforme descrito em Sambrook, J., et al., Molecular cloning: A laboratory manual; Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 1989. Os reagentes biológicos moleculares foram usados de acordo com as instruções do fabricante.

Determinação de Proteína

A concentração de proteína foi determinada determinando a densidade ótica (OD) a 280 nm, usando o coeficiente de extinção molar calculado com base na sequência de aminoácidos.

Determinação da sequência de DNA

Sequências de DNA foram determinadas por seqüenciamento de filamento duplo realizado na MediGenomix GmbH (Martinsried, Alemanha).

Análise de seqüências de DNA e de proteína e tratamento dos dados das seqüências

O pacote do software do GCG (Genetics Computer Group, Madison, Wisconsin) versão 10.2 e Infomax's Vector NTI Advance suite versão 8.0 foi usado para criação, mapeamento, análise, anotação, e ilustração de seqüências.

Síntese de gene

Segmentos genéticos desejados foram preparados pela MediGenomix GmbH (Martinsried, Alemanha) a partir de oligonucleotídeos fabricados por síntese química. Os segmentos genéticos de 100 a 600 bp de extensão os quais foram flanqueados por sítios de clivagem de endonuclease de restrição singulares foram reunidos por recozimento e ligação de oligonucleotídeos incluindo amplificação por PCR e subsequentemente clonados no vetor de clonagem pCR2.1-TOPO-TA (Invitrogen Corp., EUA) através de protuberâncias em A. A sequência de DNA dos fragmentos genéticos subclonados foram confirmadas por seqüenciamento de DNA.

Purificação por afinidade de conjugados de imunoglobulina

Os conjugados de imunoglobulina expressados e secretados foram purificados por cromatografia de afinidade usando Protein A-

Sepharose® CL-4B (GE Healthcare former Amersham Bioscience, Suécia) de acordo com métodos conhecidos. Em resumo, depois de centrifugação (10.000 g por 10 minutos) e filtração através de um filtro de 0,45 µm o conjugado de imunoglobulina contendo sobrenadantes de cultura clarificados foi aplicado sobre uma coluna Protein A-Sepharose® CL-4B equilibrada com tampão de PBS (10 mM de Na₂HPO₄, 1 mM de KH₂PO₄, 137 mM de NaCl e 2,7 mM de KCl, pH 7.4). Proteínas não ligadas foram lavadas com tampão de equilíbrio de PBS e 0,1 M de tampão de citrato, pH 5.5. Os conjugados de imunoglobulina foram elutriados com 0,1 M de tampão de citrato, pH 3.0, e as frações contendo o conjugado de imunoglobulina foram neutralizadas com 1 M de Tris-Base. Em seguida, os conjugados de imunoglobulina foram extensivamente dialisados contra tampão de PBS a 4°C, concentrados com um dispositivo de filtro centrífugo ultrafree equipado com uma membrana Biomax-SK (Millipore Corp., EUA) e armazenado em um banho gelado a 0°C.

Exemplo 1

Fabricação dos plasmídeos de expressão

Os segmentos genéticos codificando um domínio variável de cadeia leve de anticorpo (região) (V_L) anti-receptor de fator I de crescimento semelhante a insulina (IGF-1R) e o domínio constante de cadeia leve kappa humana (região) (C_L) foram unidos como segmentos genéticos ao domínio variável de cadeia pesada anti-IGF-1R (região) (V_H) e a região constante de cadeia pesada gama1 humana (C_H1-Hinge-C_H2-C_H3).

a) Vetor 4818

O vetor 4818 é o plasmídeo de expressão para a expressão transitória de um anticorpo anti-IGF-1R (também denotado como anti-IGF-1R a seguir) cadeia pesada (cassete de expressão organizado genomicamente; organização éxon-íntron) em células HEK293 EBNA (para seqüências vide a Patente dos Estados Unidos Nº 2005/0008642). Compreende os seguintes elementos funcionais:

Além do cassete de expressão de cadeia pesada-γ1 anti-IGF-1R este vetor contém:

- um gene de resistência a higromicina como um marcador selecionável,
- uma origem de replicação, oriP, do vírus Epstein-Barr (EBV),
- uma origem de replicação do vetor pUC18 a qual possibilita replicação deste plasmídeo em *E. coli*, e
- um gene de beta-lactamase o qual confere resistência a ampicilina em *E. coli*.

A unidade de transcrição do gene de cadeia pesada-gama1 anti-IGF-1R é composta dos seguintes elementos:

- o reforçador precoce imediato e promotor do citomegalovírus humano (HCMV),
- uma região não traduzida 5' sintética (UT),
- uma sequência de sinal de cadeia pesada de imunoglobulina murina incluindo um íntron da sequência de sinal (sequência de sinal 1, íntron, sequência de sinal 2 [L1-íntron-L2]),
- o segmento codificando cadeia pesada variável anti-IGF-1R clonada arranjado com um único sítio de restrição BsmI na extremidade 5' (L2 sequência de sinal) e um sítio doador de junção e um único sítio de restrição NotI na extremidade 3',
- um íntron 2 híbrido de cadeia pesada de camundongo / humana incluindo o elemento reforçador de cadeia pesada de camundongo (parte JH₃, JH₄) (Neuberger, M.S., EMBO J. 2 (1983) 1373-1378),
- a região constante do gene de cadeia γ 1-pesada humana genômica,
- a sequência de sinal de poliadenilação de γ 1-imunoglobulina humana ("poly A"), e
- os únicos sítios de restrição AscI e SgrAI na extremidade 5' e 3', respectivamente.

O mapa de plasmídeo do vetor de expressão de cadeia pesada- γ 1 anti-IGF-1R 4818 é mostrado na Figura 2.

b) Vetor 4802

O vetor 4802 é o plasmídeo de expressão para a expressão

transitória de uma cadeia leve de anticorpo anti-IGF-1R (cDNA) em células HEK293 EBNA. Compreende os seguintes elementos funcionais.

Além do cassete de expressão de cadeia leve-kappa anti-IGF-1R este vetor contém:

- um gene de resistência a higromicina como um marcador selecionável,
- uma origem de replicação, oriP, do vírus Epstein-Barr (EBV),
- uma origem de replicação do vetor pUC18 a qual possibilita replicação deste plasmídeo em *E. coli*, e
- um gene de β -lactamase o qual confere resistência a ampicilina em *E. coli*.

A unidade de transcrição do gene de cadeia leve κ anti-IGF-1R é composta dos seguintes elementos:

- o reforçador precoce imediato e promotor do citomegalovírus humano (HCMV),
- o cDNA de cadeia leve variável anti-IGF-1R clonado incluindo
- a 5'-UT nativa e
- a sequência de sinal de cadeia leve nativa do gene da linhagem germinativa de imunoglobulina humana disposta com um único sítio de restrição BglII na extremidade 5',
- a região constante do gene de cadeia leve- κ humana,
- a sequência de sinal de κ -poliadenilação de imunoglobulina humana ("poly A"), e
- os únicos sítios de restrição AscI e FseI na extremidade 5' e 3', respectivamente.

O mapa de plasmídeo do vetor de expressão de cadeia leve- κ anti-IGF-1R 4802 é mostrado na Figura 3.

c) Plasmídeo 4962

O vetor 4962 serviu como estrutura básica para a reunião dos plasmídeos de expressão 4965, 4966, e 4967. Estes plasmídeos possibilitaram a expressão transitoria de cadeias pesadas de anticorpo modificado

(conjugação de N-terminal sem domínio variável, organização de cDNA) em células HEK 293 EBNA. O plasmídeo 4962 compreende os seguintes elementos funcionais.

Além do cassete de expressão para a região constante de cadeia pesada-gama1 este vetor contém:

- um gene de resistência a higromicina como um marcador selecionável,
- uma origem de replicação, oriP, do vírus Epstein-Barr (EBV),
- uma origem de replicação do vetor pUC18 a qual possibilita replicação deste plasmídeo em *E. coli*, e
- um gene de beta-lactamase o qual confere resistência a ampicilina em *E. coli*.

A unidade de transcrição do gene da região constante de cadeia pesada- $\gamma 1$ (C_H1 -Hinge- C_H2 - C_H3) é composta dos seguintes elementos:

- o reforçador precoce imediato e promotor do citomegalovírus humano (HCMV),
- um ligante sintético (SEQ ID NO: 01) compreendendo um único sítio de restrição BglII na extremidade 5' e um único sítio de restrição NheI na extremidade 3' (sítio NheI dentro do N-término de C_H1)

HCMV-promotor AlaSer(CH1)

...agatcttttgccaccgctagc...

BglII

NheI

- os domínios constantes de gene de cadeia pesada- $\gamma 1$ humana (região) (C_H1 -Hinge- C_H2 - C_H3 , organização de cDNA),
- a sequência de sinal de poliadenilação de $\gamma 1$ -imunoglobulina humana ("poly A"), e
- os únicos sítios de restrição AscI e FseI na extremidade 5' e 3', respectivamente.

O mapa de plasmídeo do vetor genético dos domínios constantes de cadeia pesada- $\gamma 1$ /região 4962 é mostrado na Figura 4.

d) Plasmídeo 4964

O vetor 4964 serviu como estrutura básica para a reunião dos

plasmídeos de expressão 4976 e 4977. Estes plasmídeos possibilitaram a expressão transitória das cadeias leves de anticorpo anti-IGF-1R modificado (conjugação de N-terminal) em células HEK 293 EBNA.

O plasmídeo 4964 é uma variante do plasmídeo de expressão 4802.

A unidade de transcrição do gene de cadeia leve- κ anti-IGF-1R foi modificada conforme indicado abaixo:

A sequência de sinal de cadeia leve nativa é substituída por um ligante sintético disposto com um único sítio de restrição BglII na extremidade de 5'- e um único sítio de restrição NheI na extremidade 3' unido diretamente ao domínio variável V_L-IGF-1R (região) (SEQ ID NO: 03).

	- V _L -1R18
... <u>agatct</u> atatatatatatgctagcgaaattgtgtgaca...	
	AlaSerGluIleValLeuThr...
BglII	NheI

O mapa de plasmídeo do vetor de expressão de cadeia leve- κ anti-IGF-1R modificada 4964 é mostrado na Figura 5.

e) Plasmídeo 4969

O plasmídeo de expressão 4969 é derivado do plasmídeo 4802 o qual é um plasmídeo de expressão para a cadeia leve do anticorpo anti-IGF-1R. O plasmídeo codifica um fragmento de cadeia leve de anticorpo modificado (conjugação de N-terminal sem domínio variável; polipeptídeo-ligante-região constante de cadeia kappa).

Para a construção do plasmídeo 4969 um único sítio de restrição BglII foi introduzido na extremidade 3' do CMV-promotor e um único sítio de restrição BbsI foi introduzido dentro da região constante da cadeia leve do anticorpo anti-IGF-1R (SEQ ID NO: 04).

-- C-kappa	BbsI
cgaactgtggctgcaccatctgtcttcattcttc...	
ArgThrValAlaAlaProSerValPhellePhe...	

f) Plasmídeo 4963

Este plasmídeo enabled the transient expressão of anti-IGF-1R antibody cadeias leves in HEK 293 EBNA cells.

O plasmídeo 4963 é uma variante do plasmídeo de expressão 4802.

A unidade de transcrição do gene de cadeia leve- κ anti-IGF-1R foi modificada conforme indicado abaixo:

- a região genética constante de cadeia leve- κ humana foi ligeiramente modificada na região de ligação C-kappa-Ig-kappa pA (inserção de um único sítio de restrição HindIII e KsaI, SEQ ID NO: 558).

...C-kappa Ig-kappa-pA
...AaaagcttcaacaggggagagtgtTGAagggagaggcgcccca
...LysSerPheAsnArgGlyGluCys

HindIII

Kasi

O mapa de plasmídeo do vetor de expressão de cadeia leve anti-IGF-1R modificado 4963 é mostrado na Figura 6.

Exemplo 2

Fabricação dos plasmídeos de expressão finais

Os genes de fusão de imunoglobulina (cadeia pesada e leve) compreendendo o segmento genético de imunoglobulina, segmento genético ligante, e segmento genético de polipeptídeo foram reunidos com técnicas e métodos recombinantes conhecidos por conexão dos segmentos genéticos concordantes (ácidos nucleicos).

As seqüências de ácido nucléico codificando os ligantes de peptídeos e polipeptídeos foram cada uma sintetizadas por síntese química e em seguida ligadas em um plasmídeo de *E. coli*. As seqüências de ácido nucléico subclonadas foram verificadas por seqüenciamento de DNA.

As cadeias de polipeptídeo de imunoglobulina empregadas, o fragmento de imunoglobulina, a localização da conjugação do polipeptídeo (N-terminal), o ligante empregado e o polipeptídeo empregado são listados na Tabela 2 (página\ 45), Tabela 3, e Tabela 3a.

Tabela 3: Proteínas e polipeptídeos empregados; a seqüência de aminoácidos e a numeração das posições é como na cepa de referência BH8 (Locus HIVH3BH8; HIV-1 isolado LAI/IIIB clone BH8 da França; Ratner, L., et al., Nature 313 (1985) 277-384).

proteínas e polipeptídeos	SEQ ID NO:
HIV-1 gp41 (posição 507-851 de BH8 gp 160)	11
T-651 (vide, por exemplo, a Patente dos Estados Unidos Nº 6.656.906)	12
Ectodomínio variante HIV-1 gp41 mutante único: I568P	13
Ectodomínio variante HIV-1 gp41 mutante quádruplo: I568P, L550E, L566E, I580E	14

Tabela 3a: Segmentos genéticos preparados quimicamente usados para construção genética de conjugado de imunoglobulina.

Inseriro	SEQ ID NO:
Inseriro 4964 (introdução de únicos sítios de restrição)	15
Inseriro 4965 (com T-651) compreendendo sequência de sinal (MDTLCSTLLLLTIPSWVLS), sequência curta inserida (QIWNN), polipeptídeo heterólogo (MTWMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELL), ligante (GGGGSGGGGSGGGGSG)	16
Inseriro 4966 (com T-651) compreendendo sequência de sinal (MDTLCSTLLLLTIPSWVLS), sequência curta inserida (QIWNN), polipeptídeo heterólogo (MTWMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELL), ligante (GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSG)	17
Inseriro 4967 (com T-651) compreendendo sequência de sinal (MDTLCSTLLLLTIPSWVLS), sequência curta inserida (QIWNN), polipeptídeo heterólogo (MTWMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELL), ligante (GSSSSSSSSSSSSSSSSSG)	18
Inseriro 4969 (mutante único gp41) compreendendo peptídeo de sinal (MEFGLSWVFLVALLRGVQC), sequência curta inserida (Q), poli-	19

Inseriro	SEQ ID NO:
peptídeo heterólogo (VQARQLLSGIVQQQNNLLRAIEGQQHLLQLTWGPKQLQARIL AVERYLKDQQLLGIWGCSGKLICTTAVPWNASWSNKSLEQIWNN MTWMEWDREINNYTSLIHSLEESQNQQEKNEQELL), ligante (GGGGSGGGGSGGGGSG)	

Os componentes usados para a construção dos plasmídeos de expressão finais para expressão transitória das cadeias leves e pesadas dos polipeptídeos de imunoglobulinas modificadas (os cassetes de expressão) são listados na Tabela 4 com respeito ao plasmídeo de base usado, ao sítio de clonagem, e à sequência de ácido nucléico inserida codificando os polipeptídeos de imunoglobulina conjugados.

Tabela 4: Componentes empregados na construção dos plasmídeos de expressão usados.

Plasmídeo de expressão	Vetor de base	Segmento genético de DNA inserido	Sítios de clonagem
conjugação de N-terminal: Cadeia pesada (sem domínio variável)			
4965	4962	Inseriro 4965 (249 Bp)	BgIII / NheI
4966	4962	Inseriro 4966 (279 Bp)	BgIII / NheI
4967	4962	Inseriro 4967 (252 Bp)	BgIII / NheI
conjugação de N-terminal: Cadeia leve (sem domínio variável)			
4969	4802	Inseriro 4969 (589 Bp)	BgIII / BbsI
conjugação de N-terminal: Cadeia leve (incluindo o domínio variável)			
4976	4964	Inseriro 4965 (249 Bp)	HindIII / KsaI
4977	4964	Inseriro 4967 (252 Bp)	HindIII / KsaI

Na Tabela 5 são listado: os polipeptídeos usados com propriedades inibitórias do HIV-1 (variantes do ectodomínio T-651 e HIV-1 gp41), os

ligantes usados para ligar a cadeia leve ou pesada de imunoglobulina com o polipeptídeo e o peso molecular deduzido das cadeias de anticorpos modificadas conforme deduzido a partir das seqüências de aminoácidos codificadas.

Tabela 5: Sumário dos polipeptídeos empregados e o peso molecular deduzido das cadeias de polipeptídeos da imunoglobulina modificada.

plasmídeo de expressão	polipeptídeo	peso molecular [Da]	ligante SEQ ID NO:
Plasmídeos de referência			
4818	cadeia pesada anti-IGF-1R	49263,5	sem ligante
4802	cadeia leve anti-IGF-1R	23572,2	sem ligante
Fusões de N-terminal: Cadeia pesada (sem domínio variável)			
4965	T-651	42227,3	554
4966	T-651	42857,9	555
4967	T-651	42644,7	09
Fusões de N-terminal: Cadeia leve (sem domínio variável)			
4969	Gp41 mutante único	27247,3	554
Fusões de N-terminal: Cadeia leve (incluindo o domínio variável)			
4976	T-651	29851,9	139
4977	T-651	30269,2	140

Exemplo 3

Expressão transitória de variantes de imunoglobulina em células HEK293 EBNA

Variantes de imunoglobulina recombinante foram geradas por

transfecção transitória de células HEK293-EBNA em crescimento aderentes (linhagem de células de rim embrionário humano 293 expressando antígeno nuclear do Vírus Epstein-Barr; Número de depósito ATCC (*American type culture collection*) nº CRL-10852) cultivadas em DMEM (meio de Eagle modificado por Dulbecco, Gibco, Invitrogen Corp., EUA) suplementado com 10% de ultrabaixo IgG FCS (soro de feto de vitelo, Gibco, Invitrogen Corp., EUA), 2 mM de Glutamina (Gibco, Invitrogen Corp., EUA), 1% de volume por volume (v/v) de aminoácidos não essenciais (Gibco, Invitrogen Corp., EUA) e 250 µg/ml de G418 (Roche Molecular Biochemicals, Roche Diagnostics GmbH, Alemanha). Para transfecção, foi usado reagente de transfecção Fugene® 6 Transfection Reagent (Roche Molecular Biochemicals, Roche Diagnostics GmbH, Alemanha) em uma proporção de reagente (µl) para DNA (µg) variando de 3:1 a 6:1. Cadeias leve e pesada de polipeptídeo de imunoglobulina foram expressadas a partir de dois plasmídeos diferentes usando uma proporção molar de cadeia leve para cadeia pesada codificando plasmídeo from 1:2 to 2:1. Variantes de imunoglobulina contendo sobrenadantes de cultura celular foram colhidos no dia 4 a 11 depois de transfecção. Os sobrenadantes foram armazenados a 0° C em um banho de água gelada até a purificação.

Informação geral referente a expressão recombinante de imunoglobulinas humanas em, por exemplo, células HEK293 é dada em: Meissner, P., et al., *Biotechnol. Bioeng.* 75 (2001) 197-203.

Exemplo 4

Análise da expressão usando SDS PAGE, Western blotting transferência e detecção com conjugados de anticorpos imunoglobulina específicos

Os polipeptídeos expressados e secretados foram processados por dodecil sulfato sódio (SDS) eletroforese por gel de poliacrilamida (SDS-PAGE), e os polipeptídeos separados foram transferidos para uma membrana a partir do gel e subsequentemente foram detectados por um método imunológico.

SDS-PAGE

Tampão da amostra de LDS, concentrado quatro vezes (4x): 4 g

de glicerol, 0,682 g de Tris-Base, 0,666 g de Tris-cloridrato, 0,8 g de LDS (dodecil sulfato de lítio), 0,006 g de EDTA (etileno diamina tetra ácido), 0,75 ml de uma 1% em peso (em peso / vol) de solução de Serva Blue G250 em água, 0,75 ml de uma 1% em peso (em peso/ vol) de solução de vermelho fenol, adicionar água para preparar um volume total de 10 ml.

O caldo de cultura contendo o polipeptídeo secretado foi centrifugado para remover células e debris celulares. Uma alíquota do sobrenadante clarificado foi misturado com 1/4 volumes (em vol/ vol) de 4xLDS tampão de amostra e 1/10 volume (v/v) de 0,5 M de 1,4-ditiotreitol (DTT). Em seguida as amostras foram incubadas por 10 min a 70°C e a proteína foi separada por SDS-PAGE. O sistema de gel NuPAGE® Pre-Cast (Invitrogen Corp., EUA) foi usado de acordo com as instruções do fabricante. Em particular, foi usado 10% de géis NuPAGE® Novex® Bis-Tris Pre-Cast (pH 6.4) e um tampão de operação NuPAGE® MOPS.

Western blot

Tampão de transferência: 39 mM de glicina, 48 mM de Tris-cloridrato, 0,04% em peso (em peso/ vol) SDS, e 20% por volume de metanol (v/v).

Depois do SDS-PAGE as cadeias polipeptídicas de conjugado de imunoglobulina separadas foram transferidas eletroforéticamente para uma membrana de filtro de nitrocelulose (medida do poro: 0,45 µm) de acordo com o método "Semidry-Blotting-Method" de Burnette (Burnette, W.N., Anal. Biochem. 112 (1981) 195-203).

Deteccção imunológica

Tampão TBS: 50 mM de Tris-cloridrato, 150 mM de NaCl, ajustado para pH 7.5

Solução de bloqueio: 1% (em peso/ vol) de Western Blocking Reagent (Roche Molecular Biochemicals, Roche Diagnostics GmbH, Alemanha) em tampão TBS

Tampão TBST: 1x tampão TBS com 0,05% por volume (v/v) de Tween-20

Para deteção imunológica as membranas de *Western blotting*

foram incubadas com agitação em temperatura ambiente duas vezes por 5 minuto e em tampão TBS e uma vez por 90 minutos em solução de bloqueio.

Deteccção das cadeias de polipeptídeo de conjugado de imunoglobulina

Cadeia pesada: Para deteção dos polipeptídeos contendo cadeia pesada ou fragmento de cadeia pesada foi usado um anticorpo de IgG anti-humana de coelho purificado conjugado a uma peroxidase (Código Nº P 0214, DAKO, Dinamarca).

Cadeia leve: Polipeptídeos contendo cadeia leve ou fragmentos de cadeia leve foram detectados com um anticorpo de cadeia leve kappa anti-humano de coelho conjugado a peroxidase purificado (DAKO, Dinamarca, Código Nº P 0129).

Para visualização das cadeias leve e pesada de anticorpo ou fragmentos das mesmas membranas de Western blot lavadas e bloqueadas foram primeiro incubadas em caso de uma cadeia pesada com um anticorpo de IgG anti-humana de coelho purificado conjugado a uma peroxidase ou em caso de uma cadeia leve com um anticorpo de cadeia leve kappa anti-humano de coelho conjugado a peroxidase purificado em uma diluição a 1:10.000 em 10 ml de solução de bloqueio a 4°C com agitação de um dia para o outro. Depois de lavar as membranas três vezes com tampão de TBTS e uma vez com tampão de TBS por 10 min. em temperatura ambiente, as membranas de *Western blot* foram desenvolvidas com uma solução de Luminol / peróxido gerando quimiluminescência (Substrato de Western Blotting Lumi-Light^{PLUS}, Roche Molecular Biochemicals, Roche Diagnostics GmbH, Alemanha). Portanto as membranas foram incubadas em 10 ml de solução de Luminol / peróxido por 10 segundos a 5 minutos e a luz emitida foi detectada depois disso com um analisador Lumi-Imager F1 Analysator (Roche Molecular Biochemicals, Roche Diagnostics GmbH, Alemanha) e/ou foi registrada com um filme de raios-X.

A intensidade das manchas foi quantificada com o Software LumiAnalyst (Versão 3.1).

Múltipla coloração de imunoblots

O conjugado de anticorpo marcado com peroxidase secundária

usado para a detecção pode ser removido da mancha corada incubando a membrana por uma hora a 70°C em tampão de Tris-cloridrato a 1 M (pH 6.7) contendo beta-mercaptoetanol a 100 mM e 20% (em peso / vol) de SDS. Depois deste tratamento a mancha pode ser corada com um anticorpo secundário diferente uma segunda vez. Antes da segunda detecção a mancha é lavada três vezes em temperatura ambiente com agitação em tampão TBS por 10 minutos cada.

A disposição das amostras é listada na Tabela 6.

Tabela 6: Disposição de amostras de géis SDS PAGE / Western blots

amostra	plasmídeos de expressão		nota
	cadeia leve	cadeia pesada	
marcador de peso molecular			
anti-IGF-1R (referência Ab), 50 ng			
anti-IGF-1R (referência Ab), 150 ng			
anti-IGF-1R (referência Ab), 500 ng			
HEK293 meio de cultura			
3	4802 (peso)	4818 (peso)	anti-IGF-1R (referência Ab) controle
4	4802 (peso)	4961 (peso)	anti-IGF-1R (referência Ab) controle
5	4963 (peso)	4818 (peso)	anti-IGF-1R (referência Ab) controle
6	4802 (peso)	4965	N-term; pesada; sem V _H
7	4802 (peso)	4966	N-term; pesada; sem V _H
8	4802 (peso)	4967	N-term; pesada; sem V _H
9	4969	4818 (peso)	N-term; leve; sem V _L
10	4976	4818 (peso)	N-term; leve

amostra	plasmídeos de expressão		nota
	cadeia leve	cadeia pesada	
11	4977	4918 (peso)	N-term; leve
12	4969	4966	N-term; leve; sem V _L N-term; pesada; sem V _H
13	4976	4966	N-term; leve; N-term; pesada; sem V _H
14	4977	4967	N-term; leve N-term; pesada; sem V _H

Exemplo 5

Detecção de polipeptídeos de imunoglobulina reunidos

Purificação e concentração de polipeptídeos de imunoglobulina por ligação por afinidade a Proteína A Sepharose™ CL-4B

Células HEK 293 EBNA contendo um ou mais plasmídeos foram cultivadas sob condições adequadas para a expressão transitória do um ou mais genes de polipeptídeos localizados sobre o um ou mais plasmídeos por 6 a 10 dias. A 1 ml de sobrenadante de cultura clarificada em um copo Eppendorf de 1,8 ml foi adicionado 0,1 ml de uma suspensão de Proteína A Sepharose™ CL-4B (GE Healthcare former Amersham Biosciences, Suécia) (suspensão a 1:1 (v/v) de Proteína A Sepharose em tampão PBS (10 mM de Na₂HPO₄, 1 mM de KH₂PO₄, 137 mM de NaCl e 2,7 mM de KCl, pH 7.4)). A suspensão foi incubada por um tempo de entre uma e dezesseis horas em temperatura ambiente com agitação. Depois disso as contas Sepharose foram sedimentadas por centrifugação (30 s, 5000 rpm) e o sobrenadante foi descartado. O pólete Sepharose foi lavado subsequentemente cada com 1,6 ml de tampão PBS, 1,6 ml de tampão de citrato a 0,1 M pH 5.0, e 1,6 ml de água destilada. A imunoglobulina ligada a proteína A foi extraída das contas Sepharose com 0,1 ml de tampão de amostra 1xLDS-PAGE a 70°C por 5 a 10 min. A análise foi feita por separação SDS-PAGE e coloração com azul brilhante Coomassie conforme descrito no exemplo 4.

Resultados:

Expressão / Secreção Análise de fragmento de cadeia pesada

e/ou leve contendo polipeptídeos depois de expressão transitória:

Figura 7a-c: Géis SDS-PAGE corados com Coomassie Blue de polipeptídeos purificados por afinidade; disposição de amostras de acordo com a Tabela 6.

Imunodeteção de polipeptídeos contendo imunoglobulina:

Figura 8a-c: Imunodeteção de polipeptídeos contendo fragmento de cadeia leve em sobrenadantes de cultura celular depois de expressão transitória em células HEK293 EBNA.

Figura 9a-c: Imunodeteção do polipeptídeos contendo fragmento de cadeia pesada em sobrenadantes de cultura celular depois de expressão transitória em células HEK293 EBNA.

A partir da Figura 7 a-c, 8 a-c e 9 a-c pode ser deduzido que os polipeptídeos são expressados transitoriamente e secretados no meio de cultura. No caso em que o polipeptídeo contendo imunoglobulina possui um ou vários sítios de glicosilação os polipeptídeos finais não têm peso molecular definido exatamente mas uma distribuição de peso molecular dependendo da extensão da glicosilação. Isto faz com que no SDS-PAGE as espécies todas representando um polipeptídeo não migrem homoganeamente e portanto as bandas são alargadas.

Exemplo 6

Quantificação dos polipeptídeos contendo cadeia pesada expressados com ELISA de IgG humana

A concentração de polipeptídeo contendo fragmento de cadeia pesada de imunoglobulina nos sobrenadantes da cultura celular foi determinada por um ELISA sanduíche o qual usou um fragmento $F(ab')_2$ de IgG anti-humana biotinilado como o reagente de captura e para detecção um fragmento de anticorpo $F(ab')_2$ de IgG anti-humana conjugado a peroxidase.

Lâminas de 96 cavidades revestidas com estreptavidina (Pierce Reacti-Bind® Streptavidin Coated Polystyrene Strip Plates, Código Nº 15121, Pierce Chemical Company, EUA) foram revestidas com 0,5 µg/ml de fragmento de anticorpo $F(ab')_2$ de IgG anti-humana policlonal de cabra biotinilado ($(F(ab')_2<h-Fc\gamma>Bi$; Dianova, Alemanha, Código Nº 109-066-098) anticor-

po de captura (0,1 ml/cavidade) em tampão de diluente (tampão de diluente: tampão de PBS contendo 0,5% em peso por volume (peso/ vol) de albumina sérica bovina) por incubação por uma hora em temperatura ambiente (RT) sob agitação. Depois disso, as lâminas foram lavadas três vezes com mais de 0,3 ml de tampão de lavagem (tampão de lavagem: PBS contendo 1% em peso por volume (peso/ vol) de Tween 20). Conjugado de imunoglobulina IgG contendo sobrenadantes da cultura celular (amostras) foram diluídas serialmente (duas vezes) até uma concentração de 0,5 a 20 ng/ml em tampão de diluente, adicionado a lâminas e incubado por uma hora em temperatura ambiente com agitação. Anticorpo padrão anti-IGF-1R purificado (0,5 a 20 ng/ml) em tampão de diluente foi usado Para A Geração de uma curva padrão de proteína de IgG. Depois de lavar as lâminas três vezes com 0,3 ml/cavidade de tampão de lavagem, complexos ligados a Fc γ humana foram detectados com um fragmento F(ab')₂ anti-humano policlonal de cabra conjugado a peroxidase F(ab')₂-specific IgG [F(ab')₂-h-Fc γ -POD; Dianova, Code Nº 109-036-098]. Depois de lavar as lâminas três vezes com 0,3 ml/cavidade de tampão de lavagem, as lâminas foram desenvolvidas com solução de substrato de peroxidase ABTS[□] (ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico) (Roche Molecular Biochemicals, Code Nº 1684302, Roche Diagnostics GmbH, Alemanha). Depois de 10 a 30 minutos a absorvência foi medida a 405 nm e 490 nm contra um reagente em branco (tampão de incubação + solução ABTS®) sobre uma leitora de lâminas Tecan Spectrafluorplus (Tecan Deutschland GmbH, Alemanha). Para correção do fundo a absorvência a 490 nm foi subtraída da absorvência a 405 nm de acordo com a fórmula I. Todas as amostras foram avaliadas no mínimo como duplicatas, e foi feita a média dos valores de medições da absorvência dupla ou tripla. O teor de IgG das amostras foi calculado a partir de uma curva padrão.

$$\text{Fórmula I: } \Delta A = (A_{\text{amostra}}^{405} - A_{\text{amostra}}^{490}) - (A_{\text{branco}}^{405} - A_{\text{branco}}^{490})$$

LISTAGEM DE SEQUÊNCIA

<110> F. Hoffmann-La Roche AG
 <120> **MÉTODO PARA A EXPRESSÃO RECOMBINANTE DE UM POLIPEPTÍDEO**
 <130> 23215 FT
 <150> EP 05023003
 <151> 2005-10-21
 <150> EP 06010665
 <151> 2006-05-24
 <160> 558
 <170> Versão de patente 3.2
 <210> 1
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 <223> ligante sintético compreendendo um sítio de restrição BglII na extremidade 5' e um sítio de restrição NheI na extremidade 3' (sítio NheI com terminação-N com CH1)
 <400> 1
 agatcttttg ccaccgctag c 21
 <210> 2
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 2
 Met Asp Phe Gly Leu Ser Leu Val Phe Leu Val Leu Ile Leu Lys
 1 5 10 15
 <210> 3
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Ligante sintético arranjado com o sítio de restrição BglII na terminação 5' e o sítio de restrição NheI na terminação 3' diretamente combinado à região variável VL-IR.
 <400> 3
 agatctatat atatatatgc tagc 24
 <210> 4
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 <223> sítio de restrição BglII na terminação 3' do promotor-CMV e sítio de restrição BbsI no interior da região constante da cadeia leve do anticorpo <IGF-IR.HuMab.

<400> 4
cgaactgtgg ctgcaccatc tgtcttc

27

<210> 5
<211> 15
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 5

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Ile Leu Val Ala Ala Ala Thr
1 5 10 15

<210> 6
<211> 15
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> ligante 1

<400> 6

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
1 5 10 15

<210> 7
<211> 25
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> ligante 2

<400> 7

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
20 25

<210> 8
<211> 15
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> ligante 3

<400> 8

Gly Gln Gln Gln Gln Gly Gln Gln Gln Gln Gly Gln Gln Gln Gln
1 5 10 15

<210> 9
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial

<220>

<223> ligante 4

<400> 9

Gly Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser
1 5 10 15

Gly

<210> 10

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> ligante 5

<400> 10

Gly Ser Thr

1

<210> 11

<211> 345

<212> PRT

<213> Vírus da imunodeficiência humana

<220>

<221> propriedade de mistura

<223> Sequência natural de aminoácidos derivados da glicoproteína HIV-1 gp41 do clone LAI/IIIB isolado HN-1 (locus HIVH3BH8) BH8 (posição bp: 507-851).

<400> 11

Ala Val Gly Ile Gly Ala Leu Phe Leu Gly Phe Leu Gly Ala Ala Gly
1 5 10 15

Ser Thr Met Gly Ala Ala Ser Met Thr Leu Thr Val Gln Ala Arg Gln
20 25 30

Leu Leu Ser Gly Ile Val Gln Gln Gln Asn Asn Leu Leu Arg Ala Ile
35 40 45

Glu Gly Gln Gln His Leu Leu Gln Leu Thr Val Trp Gly Ile Lys Gln
50 55 60

Leu Gln Ala Arg Ile Leu Ala Val Glu Arg Tyr Leu Lys Asp Gln Gln
65 70 75 80

Leu Leu Gly Ile Trp Gly Cys Ser Gly Lys Leu Ile Cys Thr Thr Ala
85 90 95

Val Pro Trp Asn Ala Ser Trp Ser Asn Lys Ser Leu Glu Gln Ile Trp
100 105 110

Asn Asn Met Thr Trp Met Glu Trp Asp Arg Glu Ile Asn Asn Tyr Thr
 115 120 125

Ser Leu Ile His Ser Leu Ile Glu Glu Ser Gln Asn Gln Gln Glu Lys
 130 135 140

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

Trp Phe Asn Ile Thr Asn Trp Leu Trp Tyr Ile Lys Leu Phe Ile Met
 165 170 175

Ile Val Gly Gly Leu Val Gly Leu Arg Ile Val Phe Ala Val Leu Ser
 180 185 190

Ile Val Asn Arg Val Arg Gln Gly Tyr Ser Pro Leu Ser Phe Gln Thr
 195 200 205

His Leu Pro Asn Pro Arg Gly Pro Asp Arg Pro Glu Gly Ile Glu Glu
 210 215 220

Glu Gly Gly Glu Arg Asp Arg Asp Arg Ser Ile Arg Leu Val Asn Gly
 225 230 235 240

Ser Leu Ala Leu Ile Trp Asp Asp Leu Arg Ser Leu Cys Leu Phe Ser
 245 250 255

Tyr His Arg Leu Arg Asp Leu Leu Leu Ile Val Thr Arg Ile Val Glu
 260 265 270

Leu Leu Gly Arg Arg Gly Trp Glu Ala Leu Lys Tyr Trp Trp Asn Leu
 275 280 285

Leu Gln Tyr Trp Ser Gln Glu Leu Lys Asn Ser Ala Val Asn Leu Leu
 290 295 300

Asn Ala Thr Ala Ile Ala Val Ala Glu Gly Thr Asp Arg Val Ile Glu
 305 310 315 320

Leu Val Gln Ala Ala Tyr Arg Ala Ile Arg His Ile Pro Arg Arg Ile
 325 330 335

Arg Gln Gly Leu Glu Arg Ile Leu Leu
 340 345

<210> 12

<211> 36

<212> PRT

<213> Virus da imunodeficiência humana

<220>
 <221> propriedade de mistura
 <223> Sequência de aminoácidos natural derivada do ectodomínio de HIV-1 gp41
 (posição bp: 621-656)

<400> 12

Met Thr Trp Met Glu Trp Asp Arg Glu Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Leu
 1 5 10 15

Ile His Ser Leu Ile Glu Glu Ser Gln Asn Gln Gln Glu Lys Asn Glu
 20 25 30

Gln Glu Leu Leu
 35

<210> 13
 <211> 123
 <212> PRT
 <213> Vírus da imunodeficiência humana

<220>
 <221> propriedade de mistura
 <223> Ectodomínio HIV-1 gp41 variante I568P (mutante simples), posição pb:
 534-656

<400> 13

Val Gln Ala Arg Gln Leu Leu Ser Gly Ile Val Gln Gln Gln Asn Asn
 1 5 10 15

Leu Leu Arg Ala Ile Glu Gly Gln Gln His Leu Leu Gln Leu Thr Val
 20 25 30

Trp Gly Pro Lys Gln Leu Gln Ala Arg Ile Leu Ala Val Glu Arg Tyr
 35 40 45

Leu Lys Asp Gln Gln Leu Leu Gly Ile Trp Gly Cys Ser Gly Lys Leu
 50 55 60

Ile Cys Thr Thr Ala Val Pro Trp Asn Ala Ser Trp Ser Asn Lys Ser
 65 70 75 80

Leu Glu Gln Ile Trp Asn Asn Met Thr Trp Met Glu Trp Asp Arg Glu
 85 90 95

Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Leu Ile His Ser Leu Ile Glu Glu Ser Gln
 100 105 110

Asn Gln Gln Glu Lys Asn Glu Gln Glu Leu Leu
 115 120

<210> 14
 <211> 135
 <212> PRT

<213> Vírus da imunodeficiência humana

<220>

<221> propriedade de mistura

<223> Ectodomínio HIV-1 gp41 variante I568p, L550E, L566E, I580E (mutante quádruplo), posição bp: 522-656

<400> 14

Gly Ser Thr Met Gly Ala Ala Ser Met Thr Leu Thr Val Gln Ala Arg
1 5 10 15

Gln Leu Leu Ser Gly Ile Val Gln Gln Gln Asn Asn Glu Leu Arg Ala
20 25 30

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

Gln Leu Gln Ala Arg Glu Leu Ala Val Glu Arg Tyr Leu Lys Asp Gln
50 55 60

Gln Leu Leu Gly Ile Trp Gly Cys Ser Gly Lys Leu Ile Cys Thr Thr
65 70 75 80

Ala Val Pro Trp Asn Ala Ser Trp Ser Asn Lys Ser Leu Glu Gln Ile
85 90 95

Trp Asn Asn Met Thr Trp Met Glu Trp Asp Arg Glu Ile Asn Asn Tyr
100 105 110

Thr Ser Leu Ile His Ser Leu Ile Glu Glu Ser Gln Asn Gln Gln Glu
115 120 125

Lys Asn Glu Gln Glu Leu Leu
130 135

<210> 15

<211> 133

<212> DNA

<213> Vírus da imunodeficiência humana

<220>

<221> propriedade de mistura

<223> Inserir 4964

<400> 15

agatctatat atatatatgc tagcgaaatt gtgttgacac agtctccagc caccctgtct 60

ttgtctccag gggaaagagc caccctctcc tgcagggcca gtcagagtgt tagtagctac 120

ttagcctggt acc 133

<210> 16

<211> 249

<212> DNA
 <213> Vírus da imunodeficiência humana

<220>
 <221> propriedade de mistura
 <223> Inserir 4965

<400> 16
 agatcttttg ccaccatgga caccctgtgc agcaccctgc tctgtgtgac catccccagc 60
 tgggtgctct cccaaatctg gaacaacatg acctggatgg agtgggaccg cgagatcaat 120
 aactacacaa gcttgatcca ctctctgac gaggaagcc agaaccagca ggagaagaac 180
 gagcaggagc tcttgggcgg ggggtggatcc ggcggcgggg gcagcggcgg gggaggctcc 240
 ggcgctagc 249

<210> 17
 <211> 279
 <212> DNA
 <213> Vírus da imunodeficiência humana

<220>
 <221> propriedade de mistura
 <223> Inserir 4966

<400> 17
 agatcttttg ccaccatgga caccctgtgc agcaccctgc tctgtgtgac catccccagc 60
 tgggtgctct cccaaatctg gaacaacatg acctggatgg agtgggaccg cgagatcaat 120
 aactacacaa gcttgatcca ctctctgac gaggaagcc agaaccagca ggagaagaac 180
 gagcaggagc tcttgggcgg ggggtggctcc ggcggcgggg gcagcggcgg gggaggctcc 240
 ggcgggggcg gatccggggg cggtggcagc ggcgctagc 279

<210> 18
 <211> 252
 <212> DNA
 <213> Vírus da imunodeficiência humana

<220>
 <221> propriedade de mistura
 <223> Inserir 4967

<400> 18
 agatcttttg ccaccatgga caccctgtgc agcaccctgc tctgtgtgac catccccagc 60
 tgggtgctct cccaaatctg gaacaacatg acctggatgg agtgggaccg cgagatcaat 120
 aactacacaa gcttgatcca ctccctgac gaggaagcc agaaccagca ggagaagaac 180
 gagcaggagc tcttgggac cagctccagc tccagctcca gctccagcag tagctccagc 240
 tctggcgcta gc 252

<210> 19
 <211> 589

<212> DNA
 <213> Vírus da imunodeficiência humana

<220>
 <221> propriedade de mistura
 <223> Inserir 4969

<400> 19
 agatctagct ctgggagagg agcccagcac tagaagtcgg cggtgtttcc attcggatgat 60
 cagcactgaa cacagaggac tcacccatgga gtttgggctg agctgggtgt tcctcgtggc 120
 actgctcagg ggtgtacagt gtcagggtgca ggcccgccag ctgctctccg gcatcgtcca 180
 gcagcaaaac aatctgctgc gggcgatcga ggggcagcag cacctcctgc agctgacggg 240
 gtgggggtccc aagcagctgc aggcccgcat tctggccgtg gaacgggtacc tgaaggacca 300
 gcagctgctc ggcactctggg gatgctctgg caagcttata tgcaccacag ccgtcccctg 360
 gaacgctagc tggagtaaca aaagcctgga gcaaatttgg aacaacatga cctggatgga 420
 gtgggatcgc gagatcaata attacacaag cctgatccac tccctgatcg aggaaagcca 480
 gaaccagcag gagaagaacg agcaggagct cctgggcggg ggccgatccg gcggcggggg 540
 cagcgggtggg ggcgggtccg gccgaactgt ggctgcacca tctgtcttc 589

<210> 20
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 20

Met Asn Phe Gly Leu Arg Leu Ile Phe Leu Val Leu Thr Leu Lys
 1 5 10 15

<210> 21
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 21

Met Asn Phe Gly Leu Ser Leu Ile Phe Leu Val Leu Ile Leu Lys
 1 5 10 15

<210> 22
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 22

Met Gly Val Pro Thr Gln Leu Leu Leu Leu Trp Leu Thr
 1 5 10

<210> 23
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 23

Met Arg Val Leu Ala Glu Leu Leu Gly Leu Leu Leu Phe Cys Phe Leu
1 5 10 15

<210> 24

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 24

Met Arg Val Leu Pro Glu Phe Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp Ile Ser
1 5 10 15

<210> 25

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 25

Met Arg Cys Ser Leu Gln Phe Leu Gly Val Leu Met Phe Trp Ile Ser
1 5 10 15

<210> 26

<211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 26

Arg Glu Trp Ser Trp Asn Phe Leu Phe Leu Leu Ser Gly Thr Thr
1 5 10 15

<210> 27

<211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 27

Met Glu Trp Ser Gly Val Phe Ile Phe Leu Leu Ser Val Thr Ala
1 5 10 15

<210> 28

<211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 28

Met Asp Trp Thr Trp Arg Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Gly
1 5 10 15

Ala His Ser

<210> 29

<211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 29

Met Asp Trp Thr Trp Arg Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Gly
 1 5 10 15

Ala His Ser

<210> 30
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 30

Met Asp Trp Thr Trp Arg Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Ser
 1 5 10 15

Ala His Ser

<210> 31
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 31

Met Asp Trp Thr Trp Ser Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Pro Thr Gly
 1 5 10 15

Ala His Ser

<210> 32
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 32

Met Asp Cys Thr Trp Arg Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Gly
 1 5 10 15

Thr His Ala

<210> 33
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 33

Met Asp Trp Thr Trp Arg Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Asp

1 5 10 15

Ala Tyr Ser

```
<210> 34
<211> 19
<212> PRT
<213> Homo sapiens
```

<400> 34

Met Asp Trp Thr Trp Arg Val Phe Cys Leu Leu Ala Val Ala Pro Gly
1 5 10 15

Ala His Ser

```
<210> 35
<211> 19
<212> PRT
<213> Homo sapiens
```

<400> 35

Met Asp Trp Ile Trp Arg Ile Leu Phe Leu Val Gly Ala Ala Thr Gly
1 5 10 15

Ala His Ser

```
<210> 36
<211> 19
<212> PRT
<213> Homo sapiens
```

<400> 36

Met Asp Thr Leu Cys Ser Thr Leu Leu Leu Leu Thr Ile Pro Ser Trp
1 5 10 15

Val Leu Ser

```
<210> 37
<211> 19
<212> PRT
<213> Homo sapiens
```

<400> 37

Met Asp Thr Leu Cys Tyr Thr Leu Leu Leu Leu Thr Thr Pro Ser Trp
1 5 10 15

Val Leu Ser

<210> 38
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 38

Met Glu Leu Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Leu Glu Gly
 1 5 10 15

Val Gln Cys

<210> 39
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 39

Met Glu Leu Gly Leu Ser Trp Ile Phe Leu Leu Ala Ile Leu Lys Gly
 1 5 10 15

Val Gln Cys

<210> 40
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 40

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Ile Lys Gly
 1 5 10 15

Val Gln Cys

<210> 41
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 41

Met Glu Leu Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Leu Glu Gly
 1 5 10 15

Val Gln Cys

<210> 42
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 42

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Ile Phe Leu Ala Ala Ile Leu Lys Gly
 1 5 10 15

Val Gln Cys

<210> 43
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 43

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Leu Lys Gly
 1 5 10 15

Val Gln Cys

<210> 44
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 44

Met Glu Leu Gly Leu Arg Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Leu Glu Gly
 1 5 10 15

Val Gln Cys

<210> 45
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 45

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Leu Phe Leu Val Ala Ile Leu Lys Gly
 1 5 10 15

Val Gln Cys

<210> 46
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 46

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Leu Leu Arg Gly
 1 5 10 15

Val Gln Cys

<210> 47
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 47

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Leu Leu Arg Gly
 1 5 10 15

Val Gln Cys

<210> 48
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 48

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Leu Lys Gly
 1 5 10 15

Val Gln Cys

<210> 49
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 49

Met Glu Leu Gly Leu Cys Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Leu Glu Gly
 1 5 10 15

Val Gln Cys

<210> 50
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 50

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Leu Lys Gly
 1 5 10 15

Val Gln Cys

<210> 51
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 51

Met Glu Phe Trp Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Leu Lys Gly
 1 5 10 15

Val Gln Cys

<210> 52
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> sequência germinativa humana

<400> 52

Met Thr Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Phe Lys
 1 5 10 15

Gly Val Gln Cys
 20

<210> 53
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 53

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Leu Lys Gly
 1 5 10 15

Val Gln Cys

<210> 54
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 54

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Val Ile Leu Gln Gly
 1 5 10 15

Val Gln Cys

<210> 55
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 55

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Leu Lys Gly
 1 5 10 15

Val Gln Cys

<210> 56
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 56

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

Val Leu Ser

<210> 57
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 57

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

Val Leu Ser

<210> 58
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 58

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

Val Leu Pro

<210> 59
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 59

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

Val Leu Ser

<210> 60
 <211> 19

<212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 60

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

Val Leu Ser

<210> 61
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 61

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

Val Leu Ser

<210> 62
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 62

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

Val Leu Ser

<210> 63
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 63

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

Val Leu Ser

<210> 64
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 64

Met Gly Ser Thr Ala Ile Leu Ala Leu Leu Leu Ala Val Leu Gln Gly
 1 5 10 15

Val Cys Ser

<210> 65
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> sequência germinativa humana

<400> 65

Met Gly Ser Thr Ala Ile Leu Gly Leu Leu Leu Ala Val Leu Gln Gly
 1 5 10 15

Val Cys Ala

<210> 66
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 66

Met Ser Val Ser Phe Leu Ile Phe Leu Pro Val Leu Gly Leu Pro Trp
 1 5 10 15

Gly Val Leu Ser
 20

<210> 67
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 67

Met Asp Trp Thr Trp Arg Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Gly
 1 5 10 15

Ala His Ser

<210> 68
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 68

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15

Leu Arg Gly Ala Arg Cys
 20

<210> 69

<211> 22
 <212> PRT
 <213> sequência germinativa humana

<400> 69

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15

Leu Arg Gly Ala Arg Cys
 20

<210> 70
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 70

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Gln Leu Trp
 1 5 10 15

Leu Ser Gly Ala Arg Cys
 20

<210> 71
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 71

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15

Leu Ser Gly Ala Arg Cys
 20

<210> 72
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 72

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15

Leu Pro Asp Thr Arg Cys
 20

<210> 73
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 73

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

1 5 10 15

Phe Pro Gly Ala Arg Cys
20

<210> 74
<211> 22
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 74

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

Phe Pro Gly Ala Arg Cys
20

<210> 75
<211> 22
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 75

Met Asp Met Arg Val Leu Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Cys
1 5 10 15

Phe Pro Gly Ala Arg Cys
20

<210> 76
<211> 22
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 76

Met Asp Met Arg Val Leu Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Cys
1 5 10 15

Phe Pro Gly Ala Arg Cys
20

<210> 77
<211> 22
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 77

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

Leu Pro Gly Ala Arg Cys
20

<210> 78
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 78

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15

Leu Pro Gly Ala Arg Cys
 20

<210> 79
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 79

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15

Phe Pro Gly Ser Arg Cys
 20

<210> 80
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 80

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15

Phe Pro Gly Ser Arg Cys
 20

<210> 81
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 81

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15

Leu Pro Gly Ala Arg Cys
 20

<210> 82
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 82

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Arg Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15

Phe Pro Gly Ala Arg Cys
 20

<210> 83
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 83

Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
 1 5 10 15

Gly Ala Arg Cys
 20

<210> 84
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 84

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15

Leu Pro Gly Ala Arg Cys
 20

<210> 85
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> sequência germinativa humana

<400> 85

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15

Leu Pro Gly Ala Arg Cys
 20

<210> 86
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 86

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15

Leu Pro Gly Ala Lys Cys
 20

<210> 87
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 87

Met Arg Leu Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Met Leu Trp Val Pro
 1 5 10 15

Gly Ser Ser Glu
 20

<210> 88
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 88

Met Arg Leu Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Met Leu Trp Val Pro
 1 5 10 15

Gly Ser Ser Glu
 20

<210> 89
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 89

Met Arg Leu Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Met Leu Trp Val Pro
 1 5 10 15

Gly Ser Ser Gly
 20

<210> 90
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 90

Met Arg Leu Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Met Leu Trp Val Pro
 1 5 10 15

Gly Ser Ser Gly
 20

<210> 91
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 91

Met Arg Leu Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Met Leu Trp Ile Pro
1 5 10 15

Gly Ser Ser Ala
20

<210> 92

<211> 20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 92

Met Arg Leu Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Met Leu Trp Ile Pro
1 5 10 15

Gly Ser Ser Ala
20

<210> 93

<211> 20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 93

Met Arg Leu Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Met Leu Trp Val Ser
1 5 10 15

Gly Ser Ser Gly
20

<210> 94

<211> 20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 94

Met Arg Leu Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Met Leu Trp Val Ser
1 5 10 15

Gly Ser Ser Gly
20

<210> 95

<211> 20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 95

Met Arg Leu Leu Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Met Leu Trp Val Pro
1 5 10 15

Gly Ser Ser Gly

20

<210> 96
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 96

Met Glu Thr Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
 1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly
 20

<210> 97
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 97

Met Glu Thr Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
 1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly
 20

<210> 98
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 98

Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
 1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly
 20

<210> 99
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 99

Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
 1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly
 20

<210> 100
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 100

Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly
20

<210> 101

<211> 20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 101

Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Thr
1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly
20

<210> 102

<211> 23

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 102

Met Glu Pro Trp Lys Pro Gln His Ser Phe Phe Phe Leu Leu Leu Leu
1 5 10 15

Trp Leu Pro Asp Thr Thr Gly
20

<210> 103

<211> 20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 103

Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser
1 5 10 15

Gly Ala Tyr Gly
20

<210> 104

<211> 20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 104

Met Gly Ser Gln Val His Leu Leu Ser Phe Leu Leu Leu Trp Ile Ser
1 5 10 15

Asp Thr Arg Ala
20

<210> 105
<211> 19
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 105

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

Ser Arg Gly

<210> 106
<211> 19
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 106

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

Ser Arg Gly

<210> 107
<211> 20
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 107

Met Val Ser Pro Leu Gln Phe Leu Arg Leu Leu Leu Leu Trp Val Pro
1 5 10 15

Ala Ser Arg Gly
20

<210> 108
<211> 19
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 108

Met Ala Trp Ser Pro Leu Phe Leu Thr Leu Ile Thr His Cys Ala Gly
1 5 10 15

Ser Trp Ala

<210> 109
<211> 19
<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 109

Met	Ala	Trp	Ser	Pro	Leu	Leu	Leu	Thr	Leu	Leu	Ala	His	Cys	Thr	Gly
1				5					10					15	

Ser Trp Ala

<210> 110

<211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 110

Met	Ala	Ser	Phe	Pro	Leu	Leu	Leu	Thr	Leu	Leu	Thr	His	Cys	Ala	Gly
1				5					10					15	

Ser Trp Ala

<210> 111

<211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 111

Met	Ala	Gly	Phe	Pro	Leu	Leu	Leu	Thr	Leu	Leu	Thr	His	Cys	Ala	Gly
1				5					10					15	

Ser Trp Ala

<210> 112

<211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 112

Met	Thr	Cys	Ser	Pro	Leu	Leu	Leu	Thr	Leu	Leu	Ile	His	Cys	Thr	Gly
1				5					10					15	

Ser Trp Ala

<210> 113

<211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 113

Met	Ala	Trp	Ala	Leu	Leu	Leu	Leu	Thr	Leu	Leu	Thr	Gln	Gly	Thr	Gly
1				5					10					15	

Ser Trp Ala

<210> 114
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 114

Met Ala Trp Ala Leu Leu Leu Leu Ser Leu Leu Thr Gln Gly Thr Gly
 1 5 10 15

Ser Trp Ala

<210> 115
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 115

Met Ala Trp Ala Leu Leu Leu Leu Thr Leu Leu Thr Gln Gly Thr Gly
 1 5 10 15

Ser Trp Ala

<210> 116
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 116

Met Ala Trp Ala Leu Leu Leu Leu Thr Leu Leu Thr Gln Gly Thr Gly
 1 5 10 15

Ser Trp Ala

<210> 117
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 117

Met Ala Trp Ala Leu Leu Leu Leu Thr Leu Leu Thr Gln Asp Thr Gly
 1 5 10 15

Ser Trp Ala

<210> 118

<211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 118

Met Ala Trp Ile Pro Leu Phe Leu Gly Val Leu Ala Tyr Cys Thr Gly
 1 5 10 15

Ser Val Ala

<210> 119
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 119

Met Ala Trp Thr Ala Leu Leu Leu Ser Leu Leu Ala His Phe Thr Gly
 1 5 10 15

Ser Val Ala

<210> 120
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 120

Met Ala Trp Thr Pro Leu Leu Leu Pro Leu Leu Thr Phe Cys Thr Val
 1 5 10 15

Ser Glu Ala

<210> 121
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 121

Met Ala Trp Ile Pro Leu Leu Leu Pro Leu Leu Thr Leu Cys Thr Gly
 1 5 10 15

Ser Glu Ala

<210> 122
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 122

Met Ala Trp Thr Pro Leu Trp Leu Thr Leu Leu Thr Leu Cys Ile Gly

1 5 10 15

Ser Val Val

<210> 123
<211> 19
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 123

Met Ala Trp Thr Val Leu Leu Leu Gly Leu Leu Ser His Cys Thr Gly
1 5 10 15

Ser Val Thr

<210> 124
<211> 19
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 124

Met Ala Trp Ala Thr Leu Leu Leu Pro Leu Leu Asn Leu Tyr Thr Gly
1 5 10 15

Ser Ile Ala

<210> 125
<211> 19
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 125

Met Ala Trp Ile Pro Leu Leu Leu Pro Leu Leu Thr Leu Cys Thr Gly
1 5 10 15

Ser Glu Ala

<210> 126
<211> 19
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 126

Met Ala Trp Ile Pro Leu Leu Leu Pro Leu Leu Ile Leu Cys Thr Val
1 5 10 15

Ser Val Ala

<210> 127
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 127

Met Ala Trp Val Ser Phe Tyr Leu Leu Pro Phe Ile Phe Ser Thr Gly
 1 5 10 15

Leu Cys Ala

<210> 128
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 128

Met Ala Trp Thr Gln Leu Leu Leu Leu Phe Pro Leu Leu Leu His Trp
 1 5 10 15

Thr Gly Ser Leu Ser
 20

<210> 129
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 129

Met Ala Trp Thr Pro Leu Leu Phe Leu Thr Leu Leu Leu His Cys Thr
 1 5 10 15

Gly Ser Leu Ser
 20

<210> 130
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 130

Met Ala Trp Thr Pro Leu Leu Leu Leu Leu Leu Ser His Cys Thr Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Ser

<210> 131
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 131

Met Ala Trp Thr Pro Leu Leu Leu Leu Phe Leu Ser His Cys Thr Gly
1 5 10 15

Ser Leu Ser

<210> 132

<211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 132

Met Ala Trp Thr Leu Leu Leu Leu Val Leu Leu Ser His Cys Thr Gly
1 5 10 15

Ser Leu Ser

<210> 133

<211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 133

Met Ala Trp Ala Pro Leu Leu Leu Thr Leu Leu Ala His Cys Thr Gly
1 5 10 15

Ser Trp Ala

<210> 134

<211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 134

Met Ala Trp Thr Pro Leu Phe Leu Phe Leu Leu Thr Cys Cys Pro Gly
1 5 10 15

Ser Asn Ser

<210> 135

<211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 135

Met Ala Trp Thr Pro Leu Phe Leu Phe Leu Leu Thr Cys Cys Pro Gly
1 5 10 15

Ser Asn Ser

<210> 136
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 136

Met Ala Trp Met Met Leu Leu Leu Gly Leu Leu Ala Tyr Gly Ser Gly
 1 5 10 15

Val Asp Ser

<210> 137
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 137

Met Ala Trp Ala Pro Leu Leu Leu Thr Leu Leu Ser Leu Leu Thr Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Ser

<210> 138
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 138

Met Pro Trp Ala Leu Leu Leu Thr Leu Leu Thr His Ser Ala Val
 1 5 10 15

Ser Val Val

<210> 139
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> ligante 6

<400> 139

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 1 5 10 15

Ala Ser

<210> 140

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

<220>
 <223> ligante 7

<400> 140

Gly Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser
 1 5 10 15

Gly Ala Ser

<210> 141
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 141

Met Asp Phe Gly Leu Ile Phe Phe Ile Val Ala Leu Leu Lys
 1 5 10

<210> 142
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 142

Glu Leu Trp Val Leu Met Val Trp Val Pro
 1 5 10

<210> 143
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 143

Glu Leu Trp Val Leu Met Val Trp Val Pro Ser Thr Ser
 1 5 10

<210> 144
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 144

His Asp His Ala Leu Thr Ser Ser Ser Pro Gln Pro Ser Ser Pro Leu
 1 5 10 15

Cys Leu

<210> 145
 <211> 16

<212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 145

Leu Ala Val Ile Thr Ser Asn Ile Trp Phe Pro Met Val Cys Met Ser
 1 5 10 15

<210> 146
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 146

Met Asp Met Trp Thr Ser Ala Gln Phe Leu Gly Ile Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15

Phe Leu Ala Arg Cys
 20

<210> 147
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 147

Met Asp Arg Leu Thr Ser Ser Phe Leu Leu Leu Ile Val Pro Ala Val
 1 5 10 15

Leu Ser

<210> 148
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 148

Met Leu Arg Ala Ile Lys Ala Ala Pro Phe Ser Arg Phe Gly Cys Ser
 1 5 10 15

<210> 149
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 149

Met Arg Ala Pro Ala Pro Phe Leu Gly Leu Leu Leu Phe Cys Phe Leu
 1 5 10 15

Ala Arg Cys

<210> 150
 <211> 16

<212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 150

Met Arg Cys Ser Pro His Phe Leu Glu Leu Leu Val Phe Trp Ile Leu
 1 5 10 15

<210> 151
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 151

Met Arg Pro Thr Leu Ser Phe Leu Gly Ser Cys Cys Ser Ser Leu Ile
 1 5 10 15

Leu Arg Cys

<210> 152
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 152

Met Arg Thr Pro Ala His Phe Leu Gly Leu Leu Leu Leu Cys Phe Leu
 1 5 10 15

Gly Arg Cys

<210> 153
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 153

Met Arg Thr Pro Ala Pro Phe Leu Gly Leu Leu Leu Phe Cys Phe Ser
 1 5 10 15

Ala Arg Cys

<210> 154
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 154

Met Ser Leu Leu Thr Gln Leu Gln Gly Leu Leu Leu Leu Trp Leu Thr
 1 5 10 15

Asp Arg Cys

<210> 155
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 155

Met Ser Leu Pro Thr Gln Leu Gln Gly Leu Leu Leu Leu Trp Leu Thr
 1 5 10 15

Ala Arg Cys

<210> 156
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 156

Met Thr Met Leu Ser Leu Ala Pro Leu Leu Ser Leu Leu Leu Leu Cys
 1 5 10 15

Val Ser

<210> 157
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 157

Met Thr Ser Leu Ser Gln Leu Leu Gly Met Leu Met Leu Gln Ser Leu
 1 5 10 15

<210> 158
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 158

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

<210> 159
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 159

Met Val Phe Thr Pro His Ile Leu Gly Leu Leu Leu Phe Trp Ile Ser
 1 5 10 15

<210> 160
 <211> 19

<212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 160

Gln His Gly His Glu Gly Leu Cys Ser Val Ser Trp Val Pro Val Ala
 1 5 10 15

Thr Asn Ser

<210> 161
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 161

Arg Glu Trp Ser Trp Asn Phe Leu Phe Leu Leu Ser Gly Thr Thr Val
 1 5 10 15

Ser Ser

<210> 162
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 162

Thr Asp Phe His Met Gln Ile Phe Ser Phe Met Leu Ile Ser Phe Thr
 1 5 10 15

Ala Arg Cys

<210> 163
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 163

Met Glu Phe Gln Thr Gln Val Leu Met Ser Leu Leu Leu Cys Met Ser
 1 5 10 15

<210> 164
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 164

Met Glu Ser Gln Thr Gln Val Leu Met Phe Leu Leu Leu Trp Val Ser
 1 5 10 15

<210> 165
 <211> 16

<212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 165

Met Val Ser Thr Pro Gln Phe Leu Val Phe Leu Leu Phe Trp Ile Pro
 1 5 10 15

<210> 166
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 166

Met Val Ser Thr Pro Gln Phe Leu Val Phe Leu Leu Phe Trp Ile Pro
 1 5 10 15

<210> 167
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 167

Met Ser Val Pro Thr Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Trp Leu Thr
 1 5 10 15

<210> 168
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 168

Met Lys Ser Gln Thr Gln Val Phe Ile Phe Leu Leu Leu Cys Val Ser
 1 5 10 15

<210> 169
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 169

Met Lys Ser Gln Thr Gln Val Phe Val Phe Leu Leu Leu Cys Val Ser
 1 5 10 15

<210> 170
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 170

Met Ala Trp Ile Ser Leu Ile Leu Ser Leu Leu Ala Leu Ser Ser
 1 5 10 15

<210> 171
 <211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 171

Met	Ala	Trp	Thr	Ser	Leu	Ile	Leu	Ser	Leu	Leu	Ala	Leu	Cys	Ser
1				5				10					15	

<210> 172

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 172

Met	Arg	Cys	Leu	Ala	Glu	Phe	Leu	Gly	Leu	Leu	Val	Leu	Trp	Ile	Pro
1				5				10						15	

<210> 173

<211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 173

Met	Gly	Trp	Asn	Trp	Ile	Phe	Ile	Leu	Ile	Leu	Ser	Val	Thr	Thr
1				5				10					15	

<210> 174

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 174

Met	Arg	Phe	Gln	Val	Gln	Val	Leu	Gly	Leu	Leu	Leu	Leu	Trp	Ile	Ser
1				5				10						15	

<210> 175

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 175

Met	Arg	Pro	Ser	Ile	Gln	Phe	Leu	Gly	Leu	Leu	Leu	Phe	Trp	Leu	His
1				5				10						15	

<210> 176

<211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 176

Met	Asp	Ile	Arg	Ala	Pro	Ala	Gln	Phe	Leu	Gly	Ile	Leu	Leu	Leu	Trp
1				5				10						15	

Phe Pro

<210> 177
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 177

Met Asp Met Met Val Leu Ala Gln Phe Leu Ala Phe Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15

Phe Pro

<210> 178
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 178

Met Asp Met Arg Ala Pro Ala Gln Phe Leu Gly Ile Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15

Phe Pro

<210> 179
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 179

Met Asp Met Arg Ala Pro Ala Gln Phe Leu Gly Ile Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15

Phe Pro

<210> 180
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 180

Met Asp Met Arg Ala Pro Ala Gln Val Phe Gly Phe Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15

Phe Pro

<210> 181
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 181

Met Asp Met Arg Ala Ser Ala Gln Phe His Gly Ile Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

Phe Pro

<210> 182

<211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 182

Met Asp Met Arg Ala Ser Ala Gln Phe His Gly Ile Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

Phe Pro

<210> 183

<211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 183

Met Asp Met Trp Thr Ser Ala Gln Phe Leu Gly Ile Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

Phe Leu

<210> 184

<211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 184

Met Asn Thr Arg Ala Pro Ala Glu Phe Leu Gly Phe Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

Phe Leu

<210> 185

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 185

Met Arg Ala Pro Ala Pro Phe Leu Gly Leu Leu Leu Phe Cys Phe Leu
1 5 10 15

<210> 186
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 186

Met	Arg	Thr	Pro	Ala	Pro	Phe	Leu	Gly	Leu	Leu	Leu	Phe	Cys	Phe	Ser
1				5					10					15	

<210> 187
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 187

Met	Ser	Ile	Ser	Thr	Gln	Leu	Leu	Gly	Leu	Leu	Leu	Leu	Trp	Leu	Thr
1				5					10					15	

<210> 188
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 188

Met	Ser	Leu	Pro	Thr	Gln	Leu	Gln	Gly	Leu	Leu	Leu	Leu	Trp	Leu	Thr
1				5					10					15	

<210> 189
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 189

Met	Ser	Val	Leu	Thr	Gln	Val	Leu	Ala	Leu	Leu	Leu	Leu	Trp	Leu	Thr
1				5					10					15	

<210> 190
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 190

Met	Ser	Val	Pro	Thr	Gln	Leu	Leu	Ala	Leu	Leu	Leu	Leu	Trp	Leu	Thr
1				5					10					15	

<210> 191
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 191

Met	Ser	Val	Pro	Thr	Gln	Val	Leu	Gly	Leu	Leu	Leu	Leu	Trp	Leu	Thr
1				5					10					15	

<210> 192

<211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 192

Thr Asp Phe His Met Gln Ile Phe Ser Phe Met Leu Ile Ser Phe Thr
 1 5 10 15

<210> 193
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 193

Met Ala Trp Thr Ser Leu Ile Leu Ser Leu Leu Ala Leu Cys Ser
 1 5 10 15

<210> 194
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 194

Met Arg Cys Leu Ala Glu Phe Leu Arg Leu Leu Val Leu Trp Ile Pro
 1 5 10 15

<210> 195
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 195

Met Lys Leu Pro Val Arg Leu Leu Val Leu Met Phe Trp Ile Pro Ser
 1 5 10 15

Ser Ser

<210> 196
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 196

Met Asp Ile Arg Ala Pro Ala Gln Phe Leu Gly Ile Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15

Phe Pro Ala Arg Cys
 20

<210> 197
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 197

Met Asp Met Met Val Leu Ala Gln Phe Leu Ala Phe Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

Phe Pro Ala Arg Cys
20

<210> 198
<211> 21
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 198

Met Asp Met Arg Ala Pro Ala Gln Phe Phe Gly Ile Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

Phe Pro Ile Arg Cys
20

<210> 199
<211> 21
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 199

Met Asp Met Arg Ala Pro Ala Gln Phe Leu Gly Ile Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

Phe Pro Ala Arg Cys
20

<210> 200
<211> 21
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 200

Met Asp Met Arg Ala Pro Ala Gln Ile Phe Gly Phe Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

Phe Gln Thr Arg Cys
20

<210> 201
<211> 21
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 201

Met Asp Met Arg Ala Pro Ala Gln Val Phe Gly Phe Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

Phe Pro Ala Arg Cys

20

<210> 202
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 202

Met Asp Met Arg Ala Ser Ala Gln Phe Leu Gly Phe Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15

Phe Pro

<210> 203
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 203

Met Asp Met Arg Asp Pro Pro Gln Phe Leu Ala Phe Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15

Ile Pro

<210> 204
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 204

Met Asp Met Arg Thr Pro Ala Gln Phe Leu Gly Ile Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15

Phe Pro Ile Lys Cys
 20

<210> 205
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 205

Met Asp Met Arg Val Pro Ala His Val Phe Gly Phe Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15

Phe Pro Thr Arg Cys
 20

<210> 206
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 206

Met Asp Ser Gln Ala Gln Val Leu Ile Leu Leu Leu Leu Trp Val Ser
1 5 10 15

Thr Cys Gly

<210> 207

<211> 19

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 207

Met Asp Ser Gln Ala Gln Val Leu Met Leu Leu Leu Leu Ser Val Ser
1 5 10 15

Thr Cys Gly

<210> 208

<211> 19

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 208

Met Asp Ser Gln Ala Gln Val Leu Met Leu Leu Leu Leu Trp Val Ser
1 5 10 15

Thr Cys Gly

<210> 209

<211> 19

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 209

Met Asp Ser Gln Ala Arg Val Leu Met Leu Leu Leu Leu Trp Val Ser
1 5 10 15

Thr Cys Gly

<210> 210

<211> 19

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 210

Met Glu Phe Gln Thr Gln Val Phe Val Phe Val Leu Leu Trp Leu Ser
1 5 10 15

Val Asp Gly

<210> 211
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 211

Met	Glu	Phe	Gln	Thr	Gln	Val	Leu	Met	Ser	Leu	Leu	Leu	Cys	Met	Ser
1				5				10					15		

Ala Cys Ala

<210> 212
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 212

Met	Glu	Lys	Asp	Thr	Leu	Leu	Leu	Trp	Val	Leu	Leu	Leu	Trp	Val	Pro
1				5				10					15		

Ser Thr Gly

<210> 213
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 213

Met	Glu	Ser	Asp	Thr	Leu	Leu	Leu	Trp	Val	Leu	Leu	Leu	Trp	Val	Pro
1				5				10					15		

Ser Thr Gly

<210> 214
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 214

Met	Glu	Ser	Gln	Ile	Gln	Ala	Phe	Val	Phe	Val	Phe	Leu	Trp	Leu	Ser
1				5				10					15		

Val Asp Gly

<210> 215
 <211> 19
 <212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 215

Met	Glu	Ser	Gln	Ile	Gln	Val	Phe	Val	Phe	Val	Phe	Leu	Trp	Leu	Ser
1				5					10					15	

Val Asp Gly

<210> 216

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 216

Met	Ser	Leu	Leu	Thr	Gln	Leu	Gln	Gly	Leu	Leu	Leu	Leu	Trp	Leu	Thr
1				5					10					15	

<210> 217

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 217

Leu	Ile	Leu	Lys	Val	Gln	Cys
1				5		

<210> 218

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 218

Leu	Val	Leu	Lys	Val	Leu	Cys
1				5		

<210> 219

<211> 21

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 219

Met	Asp	Met	Arg	Ala	Ser	Ala	Gln	Phe	His	Gly	Ile	Leu	Leu	Leu	Trp
1				5					10					15	

Phe	Pro	Ala	Arg	Cys
				20

<210> 220

<211> 19

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 220

Met Lys Leu Pro Val Leu Leu Val Val Leu Leu Leu Phe Thr Ser Pro
 1 5 10 15

Ser Ser Ser

<210> 221
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 221

Met Lys Leu Pro Val Arg Leu Leu Val Leu Met Phe Trp Ile Pro Ser
 1 5 10 15

Ser Ser

<210> 222
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 222

Met Met Ser Pro Ala Gln Phe Leu Phe Leu Leu Val Leu Trp Ile Gln
 1 5 10 15

Thr Asn Gly

<210> 223
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 223

Met Met Ser Pro Ala Gln Phe Leu Phe Leu Leu Val Leu Trp Ile Arg
 1 5 10 15

Thr Asn Gly

<210> 224
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 224

Met Met Ser Pro Val His Ser Ile Phe Ile Leu Leu Leu Trp Ile Val
 1 5 10 15

Ile Ser Gly

<210> 225
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 225

Met Met Ser Pro Val Gln Phe Leu Phe Leu Leu Met Leu Trp Ile Gln
 1 5 10 15

Thr Asn Gly

<210> 226
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 226

Met Asn Phe Gly Leu Arg Leu Ile Phe Leu Val Leu Thr Leu Lys Val
 1 5 10 15

Gln Cys

<210> 227
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 227

Met Asn Leu Pro Val His Leu Leu Val Leu Leu Leu Phe Trp Ile Pro
 1 5 10 15

Ser Arg Gly

<210> 228
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 228

Met Asn Thr Arg Ala Pro Ala Glu Phe Leu Gly Phe Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15

Phe Leu Ala Arg Cys
 20

<210> 229
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 229

Met Arg Phe Gln Val Gln Val Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp Ile Ser
 1 5 10 15

Ala Gln Cys

<210> 230
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 230

Met Arg Val Leu Ser Leu Leu Tyr Leu Leu Thr Ala Ile Pro Gly Ile
 1 5 10 15

Leu Ser

<210> 231
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 231

Met Asp Phe His Val Gln Ile Phe Ser Phe Met Leu Ile Ser Val Thr
 1 5 10 15

Ile Leu Ser Ser Gly
 20

<210> 232
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 232

Met Asp Phe Gln Met Gln Ile Ile Ser Leu Leu Leu Ile Ser Val Thr
 1 5 10 15

Ile Val Ser Asn Gly
 20

<210> 233
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 233

Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Val Thr
 1 5 10 15

Ile Leu Thr Asn Gly
 20

<210> 234
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 234

Met Asp Met Arg Ala Pro Ala Gln Phe Leu Gly Ile Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15

Phe Pro Ala Arg Cys
 20

<210> 235
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 235

Met Asn Phe His Val Gln Ile Phe Ser Phe Met Leu Ile Ser Val Thr
 1 5 10 15

Ile Gly Ser Ser Gly
 20

<210> 236
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 236

Met Thr Met Leu Ser Leu Val Leu Leu Leu Ser Phe Leu Leu Leu Cys
 1 5 10 15

Ser Arg Ala

<210> 237
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 237

Met Val Ser Thr Pro Gln Phe Leu Val Phe Leu Leu Phe Trp Ile Pro
 1 5 10 15

Ala Cys Gly

<210> 238
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 238

Thr Glu Leu Ile Cys Val Phe Leu Phe Leu Leu Ser Val Thr Ala Ile
 1 5 10 15

Leu Ser Ser Gly
 20

<210> 239

<211> 17

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 239

Met Asp Cys Gly Ile Ser Leu Val Phe Leu Val Leu Ile Leu Lys Val
 1 5 10 15

Cys

<210> 240

<211> 19

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 240

Met Asp Met Trp Val Gln Ile Phe Ser Leu Leu Leu Ile Cys Val Thr
 1 5 10 15

Ser Lys Gly

<210> 241

<211> 11

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 241

Leu Leu Ile Ser Val Thr Ile Met Ser Arg Gly
 1 5 10

<210> 242

<211> 21

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 242

Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Ala Ser
 1 5 10 15

Ile Met Ser Arg Gly
 20

<210> 243

<211> 21
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 243

Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Ile Ser
 1 5 10 15

Val Met Ser Arg Gly
 20

<210> 244
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 244

Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Val Ser
 1 5 10 15

Ile Met Ser Arg Gly
 20

<210> 245
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 245

Met Asp Leu Gln Val Gln Ile Ile Ser Phe Leu Leu Ile Ile Val Thr
 1 5 10 15

Ile Met Ser Arg Gly
 20

<210> 246
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 246

Met Gly Glu Gln Arg Ile Arg Ser Cys His Ala Thr Ser Gly Ala Glu
 1 5 10 15

Ser Ala Arg

<210> 247
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 247

Met Gly Ser Gln Val His Leu Leu Ser Phe Leu Leu Leu Trp Ile Ser

1 5 10 15

Asp Thr Arg Ala
20

<210> 248
<211> 21
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 248

Met Thr Met Phe Ser Leu Ala Leu Leu Leu Ser Leu Leu Leu Leu Cys
1 5 10 15

Val Ser Ser Arg Ala
20

<210> 249
<211> 18
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 249

Met Thr Met Leu Ser Leu Ala Pro Leu Leu Ser Leu Leu Leu Leu Ser
1 5 10 15

Arg Ala

<210> 250
<211> 22
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> propriedade de mistura
<222> (2)..(2)
<223> Xaa pode ser qualquer aminoácido que ocorra naturalmente

<400> 250

Met Xaa Thr Met Asp Glu His Glu Ser Gly Ala Val Thr Pro His Gln
1 5 10 15

Val Leu Lys Ser Arg Ala
20

<210> 251
<211> 18
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 251

Ile Lys Trp Ser Trp Ile Phe Leu Phe Leu Leu Ser Gly Thr Ala Val
1 5 10 15

His Ser

<210> 252
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 252

Ile Lys Trp Ser Trp Ile Ser Leu Phe Leu Leu Ser Gly Thr Ala Val
 1 5 10 15

His Ser

<210> 253
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 253

Leu Ile Leu Lys Val Gln Cys
 1 5

<210> 254
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 254

Leu Val Leu Lys Val Gln Cys
 1 5

<210> 255
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 255

Met Ala Val Val Thr Gly Lys Gly Leu Pro Ser Pro Lys Leu Glu Val
 1 5 10 15

Asn Ser

<210> 256
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 256

Met Asp Phe Gly Leu Ile Phe Phe Ile Val Ala Leu Leu Lys Val Gln

1 5 10 15

Cys

<210> 257
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 257

Met Asp Phe Gly Leu Ser Leu Val Phe Leu Val Leu Ile Leu Lys Val
 1 5 10 15

Gln Cys

<210> 258
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 258

Met Asp Met Arg Ala Ser Ala Gln Phe His Gly Ile Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15

Phe Pro Ala Arg Cys
 20

<210> 259
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 259

Met Glu Trp Glu Leu Ser Leu Ile Phe Ile Phe Ala Leu Leu Lys Asp
 1 5 10 15

Val Gln Cys

<210> 260
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 260

Met Glu Trp Ser Cys Ile Phe Leu Phe Leu Leu Ser Val Thr Ala Val
 1 5 10 15

His Ser

<210> 261
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 261

Met Glu Trp Ser Cys Ile Phe Leu Phe Leu Leu Ser Val Thr Ala Ile
 1 5 10 15

His Ser

<210> 262
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 262

Met Glu Trp Ser Trp Ile Phe Leu Phe Leu Leu Ser Gly Thr Ala Val
 1 5 10 15

Leu Ser

<210> 263
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 263

Met Gly Trp Asn Trp Ile Phe Ile Leu Ile Leu Ser Val Thr Thr Ala
 1 5 10 15

Leu Ser

<210> 264
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 264

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Val
 1 5 10 15

His Ser

<210> 265
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 265

Met Gly Trp Asn Trp Ile Phe Ile Leu Ile Leu Ser Val Thr Thr Val
 1 5 10 15

His Ser

<210> 266
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 266

Met Gly Trp Ser Cys Ile Met Leu Phe Leu Ala Ala Thr Ala Thr Val
 1 5 10 15

His Ser

<210> 267
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 267

Met Gly Trp Ser Trp Ile Phe Phe Phe Leu Leu Ser Gly Thr Ala Val
 1 5 10 15

Leu Ser

<210> 268
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 268

Met Gly Trp Ser Trp Ile Phe Leu Phe Phe Leu Ser Gly Thr Ala Val
 1 5 10 15

Leu Ser

<210> 269
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 269

Met Gly Trp Ser Trp Ile Phe Leu Phe Leu Leu Ser Gly Ser Ala Val
 1 5 10 15

Leu Ser

<210> 270
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 270

Met Gly Trp Ser Trp Ile Phe Leu Phe Leu Leu Ser Gly Ser Ala Val
 1 5 10 15

His Ser

<210> 271
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 271

Met Gly Trp Ser Trp Ile Phe Leu Phe Leu Leu Ser Gly Thr Ala Val
 1 5 10 15

His Ser

<210> 272
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 272

Met Gly Trp Ser Tyr Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr
 1 5 10 15

<210> 273
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 273

Ile Asp Ile Asn Val Gln Ile Phe Arg Phe Leu Leu Ile Ser Val Thr
 1 5 10 15

Ser Ser Gly

<210> 274
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 274

Met Asn Met Leu Thr Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp Phe Ala
 1 5 10 15

<210> 275
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 275

Met Arg Thr Pro Ala His Phe Leu Gly Leu Leu Leu Leu Cys Phe Leu
 1 5 10 15

<210> 276
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 276

Met Arg Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Val
 1 5 10 15

His Ser

<210> 277
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 277

Met Asn Phe His Val Gln Ile Phe Ser Phe Met Leu Ile Ser Val Thr
 1 5 10 15

<210> 278
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 278

Met Glu Trp Ser Cys Ile Phe Leu Phe Leu Leu Ser Val Thr Ala
 1 5 10 15

<210> 279
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 279

Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Gln Ile Pro Val Lys Gln Cys Leu
 1 5 10 15

<210> 280
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 280

Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Ala Ser
 1 5 10 15

<210> 281
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 281

Met Lys Phe Pro Ser Gln Leu Leu Leu Phe Leu Leu Phe Arg Ile Thr
 1 5 10 15

<210> 282
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 282

Met Asp Met Arg Thr Pro Ala Gln Phe Leu Gly Ile Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15

Phe Pro

<210> 283
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 283

Met Ala Val Leu Ala Leu Leu Phe Cys Leu Val Thr Phe Pro Ser
 1 5 10 15

<210> 284
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 284

Met Asp Phe His Val Gln Ile Phe Ser Phe Met Leu Ile Ser Val Thr
 1 5 10 15

<210> 285
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 285

Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Ala Ser
 1 5 10 15

<210> 286
 <211> 15
 <212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 286

Met	Asp	Phe	Gln	Val	Gln	Ile	Phe	Ser	Phe	Leu	Leu	Ile	Ser	Arg
1			5						10				15	

<210> 287

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 287

Met	Asp	Phe	Gln	Val	Gln	Ile	Phe	Ser	Phe	Leu	Leu	Ile	Ser	Val	Thr
1			5						10				15		

<210> 288

<211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 288

Thr	Glu	Leu	Ile	Cys	Val	Phe	Leu	Phe	Leu	Leu	Ser	Val	Thr	Ala
1			5						10				15	

<210> 289

<211> 6

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 289

Leu	Leu	Ile	Ser	Val	Thr
1			5		

<210> 290

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 290

Met	Asp	Phe	Gln	Val	Gln	Ile	Phe	Ser	Phe	Leu	Leu	Ile	Ser	Ala	Ser
1			5						10				15		

<210> 291

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 291

Met	Asp	Phe	Gln	Val	Gln	Ile	Phe	Ser	Phe	Leu	Leu	Ile	Ser	Val	Ser
1			5						10				15		

<210> 292

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 292

Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Val Ser
1 5 10 15

<210> 293

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 293

Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Met Ser Ala Ser
1 5 10 15

<210> 294

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 294

Met Asp Leu Gln Val Gln Ile Ile Ser Phe Leu Leu Ile Ile Val Thr
1 5 10 15

<210> 295

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 295

Met His Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Ala Ser
1 5 10 15

<210> 296

<211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 296

Met Lys Cys Ser Trp Val Ile Phe Phe Leu Met Ala Val Val Ile
1 5 10 15

<210> 297

<211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 297

Met Lys Leu Trp Leu Asn Trp Ile Leu Leu Val Ala Leu Leu Asn
1 5 10 15

<210> 298

<211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 298

Met Asp Met Arg Ala Pro Ala Gln Phe Phe Gly Ile Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

Phe Pro

<210> 299

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 299

Met Ile Tyr Ser Leu Gln Leu Leu Arg Met Leu Val Leu Trp Ile Pro
1 5 10 15

<210> 300

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 300

Met Met Ser Pro Val His Ser Ile Phe Ile Leu Leu Leu Trp Ile Val
1 5 10 15

<210> 301

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 301

Met Ser Tyr Ser Leu Gln Leu Leu Arg Met Leu Val Leu Trp Ile Pro
1 5 10 15

<210> 302

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 302

Met Ser Tyr Ser Leu Gln Leu Leu Arg Met Leu Val Leu Trp Ile Pro
1 5 10 15

<210> 303

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 303

Met Asp Phe Gln Met Gln Ile Ile Ser Leu Leu Leu Ile Ser Val Thr
1 5 10 15

<210> 304

<211> 21

<212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 304

Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Gln Ile Pro Val Lys Gln Cys Leu
 1 5 10 15

Ile Ile Ser Arg Gly
 20

<210> 305
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 305

Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Ala Ser
 1 5 10 15

<210> 306
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 306

Met Arg Pro Thr Leu Ser Phe Leu Gly Ser Cys Cys Ser Ser Leu Ile
 1 5 10 15

<210> 307
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 307

Met Lys Phe Pro Ser Gln Leu Leu Leu Leu Leu Leu Phe Gly Ile Pro
 1 5 10 15

<210> 308
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 308

Met Glu Ser Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
 1 5 10 15

Ser Thr Ser

<210> 309
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 309

Met Glu Ser Gln Thr Leu Val Phe Ile Ser Ile Leu Leu Trp Leu Tyr
 1 5 10 15

Ala Asp Gly

<210> 310
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 310

Met Glu Ser Gln Thr Gln Val Phe Leu Ser Leu Leu Leu Trp Val Ser
 1 5 10 15

Thr Cys Gly

<210> 311
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 311

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
 1 5 10 15

Ser Thr Gly

<210> 312
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 312

Met Gly Trp Ser Cys Ile Met Leu Phe Leu Ala Ala Thr Ala Thr Val
 1 5 10 15

His Ser

<210> 313
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 313

Met Gly Trp Ser Cys Ile Met Leu Phe Leu Ala Ala Thr Ala Thr Gly
 1 5 10 15

Val His Ser

<210> 314
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 314

Met Ala Trp Ile Ser Leu Ile Leu Ser Leu Leu Ala Leu Ser Ser Ala
 1 5 10 15

Ile Ser

<210> 315
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 315

Ile Gly Trp Ser Tyr Ile Ile Leu Leu Leu Val Ala Thr Ala Thr Val
 1 5 10 15

His Ser

<210> 316
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 316

Met Ala Trp Thr Ser Leu Ile Leu Ser Leu Leu Ala Leu Cys Ser Ala
 1 5 10 15

Ser Ser

<210> 317
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 317

Met Ala Trp Thr Ser Leu Ile Leu Ser Leu Leu Ala Leu Cys Ser Ala
 1 5 10 15

Ile Ser

<210> 318
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 318

Met Gly Trp Ser Cys Val Leu Leu Phe Leu Val Ser Gly Thr Ala Val
1 5 10 15

Leu Cys

<210> 319

<211> 21

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 319

Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Ala Ser
1 5 10 15

Ile Ile Ser Arg Gly
20

<210> 320

<211> 21

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 320

Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Ala Ser
1 5 10 15

Ile Leu Phe Arg Gly
20

<210> 321

<211> 21

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 321

Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Ala Ser
1 5 10 15

Ile Leu Ser Arg Gly
20

<210> 322

<211> 21

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 322

Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Ala Ser
1 5 10 15

Ile Met Ser Arg Gly

20

<210> 323
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 323

Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Ala Ser
 1 5 10 15

Leu Met Ser Arg Gly
 20

<210> 324
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 324

Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Arg Ile
 1 5 10 15

Leu Ser Arg Gly
 20

<210> 325
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 325

Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Val Ser
 1 5 10 15

Ile Met Ser Arg Gly
 20

<210> 326
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 326

Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Met Ser Ala Ser
 1 5 10 15

Ile Met Ser Arg Gly
 20

<210> 327
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 327

Met Asp Thr Leu Cys Ser Thr Leu Leu Leu Leu Thr Ile Pro Ser Trp
1 5 10 15

Val Leu Ser

<210> 328

<211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 328

Met Gly Trp Ser Trp Ile Phe Leu Phe Leu Leu Ser Gly Thr Ala Val
1 5 10 15

His Cys

<210> 329

<211> 21

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 329

Met His Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Ala Ser
1 5 10 15

Ile Met Ser Arg Gly
20

<210> 330

<211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 330

Met Ala Trp Thr Pro Leu Phe Phe Phe Phe Val Leu His Cys Ser Ser
1 5 10 15

Phe Ser

<210> 331

<211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 331

Met Arg Val Leu Gly Phe Leu Cys Leu Val Thr Val Leu Pro Gly Ser
1 5 10 15

Leu Ser

<210> 332
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 332

Met Ala Trp Thr Pro Leu Phe Phe Phe Phe Leu Leu His Cys Ser Ser
 1 5 10 15

Phe Ser

<210> 333
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 333

Ile Phe Leu Phe Leu Leu Ser Ile Thr Ala Val His Cys
 1 5 10

<210> 334
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 334

Lys Gly Gly Ser Cys Val Ser Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Asn Val
 1 5 10 15

His Phe

<210> 335
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 335

Met Ala Val Leu Ala Leu Leu Phe Cys Leu Val Thr Phe Pro Ser Ile
 1 5 10 15

Leu Ser

<210> 336
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 336

Met Ala Val Leu Gly Leu Leu Phe Cys Leu Val Thr Phe Pro Ser Val
 1 5 10 15

Leu Ser

<210> 337
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 337

Met Ala Val Leu Gly Leu Leu Leu Cys Leu Val Thr Phe Pro Ser Val
 1 5 10 15

Leu Ser

<210> 338
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 338

Met Ala Trp Ser Trp Val Phe Leu Phe Phe Leu Ser Val Thr Thr Val
 1 5 10 15

His Ser

<210> 339
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 339

Met Asp Trp Ile Trp Ile Met Leu His Leu Leu Ala Ala Thr Gly Ile
 1 5 10 15

Gln Ser

<210> 340
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 340

Met Glu Cys Ser Trp Val Phe Leu Phe Leu Leu Ser Leu Thr Ala Val
 1 5 10 15

His Cys

<210> 341
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 341

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Leu Leu Arg Gly
 1 5 10 15

Val Gln Cys

<210> 342
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<220>
 <221> propriedade de mistura
 <222> (5)..(6)
 <223> Xaa pode ser qualquer aminoácido que ocorra naturalmente

<400> 342

Met Glu Trp Leu Xaa Xaa Phe Leu Leu Phe Leu Ser Leu Thr Ala Val
 1 5 10 15

His Cys

<210> 343
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 343

Met Glu Trp Ser Gly Val Phe Ile Phe Leu Leu Ser Val Thr Ala Val
 1 5 10 15

His Ser

<210> 344
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 344

Met Glu Thr Pro Ala Ser Phe Leu Cys Leu Leu Leu Leu Trp Thr Thr
 1 5 10 15

<210> 345
 <211> 15
 <212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 345

Met Ala Trp Thr Pro Leu Phe Phe Phe Phe Leu Leu His Cys Ser
1 5 10 15

<210> 346

<211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 346

Met Ala Trp Thr Pro Leu Phe Phe Phe Phe Val Leu His Cys Ser
1 5 10 15

<210> 347

<211> 19

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 347

Met Lys Ser Gln Thr Gln Val Phe Ile Phe Leu Leu Leu Cys Val Ser
1 5 10 15

Ala His Gly

<210> 348

<211> 19

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 348

Met Lys Ser Gln Thr Gln Val Phe Val Phe Leu Leu Leu Cys Val Ser
1 5 10 15

Ala His Gly

<210> 349

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 349

Met Asp Met Trp Val Gln Ile Phe Ser Leu Leu Leu Ile Cys Val Thr
1 5 10 15

<210> 350

<211> 19

<212> PRT

<213> Mus musculus

<220>
 <221> propriedade de mistura
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa pode ser qualquer aminoácido que ocorra naturalmente

<400> 350

Met Xaa Thr Met Asp Glu His Glu Ser Gly Ala Val Thr Pro His Gln
 1 5 10 15

Val Leu Lys

<210> 351
 <211> 16
 <212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 351

Met Gly Glu Gln Arg Ile Arg Ser Cys His Ala Thr Ser Gly Ala Glu
 1 5 10 15

<210> 352
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 352

Met Asn Leu Pro Val His Leu Leu Val Leu Leu Leu Phe Trp Ile Pro
 1 5 10 15

<210> 353
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 353

Met Thr Met Phe Ser Leu Ala Leu Leu Leu Ser Leu Leu Leu Cys
 1 5 10 15

Val Ser

<210> 354
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 354

Met Thr Met Leu Ser Leu Ala Pro Leu Leu Ser Leu Leu Leu
 1 5 10 15

<210> 355
 <211> 16
 <212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 355

Met Thr Met Leu Ser Leu Val Leu Leu Leu Ser Phe Leu Leu Leu Cys
1 5 10 15

<210> 356

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 356

Met Val Phe Thr Pro Gln Ile Leu Gly Leu Met Leu Phe Trp Ile Ser
1 5 10 15

<210> 357

<211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 357

Met Val Leu Gly Leu Lys Trp Val Phe Phe Val Val Phe Tyr Gln
1 5 10 15

<210> 358

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 358

Met Val Ser Thr Ser Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Phe Trp Thr Ser
1 5 10 15

<210> 359

<211> 13

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 359

Pro Ala Gln Phe Leu Phe Leu Leu Val Leu Trp Ile Gln
1 5 10

<210> 360

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 360

Ile Asp Ile Asn Val Gln Ile Phe Arg Phe Leu Leu Ile Ser Val Thr
1 5 10 15

<210> 361

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 361

Met Lys Leu Pro Val Leu Leu Val Val Leu Leu Leu Phe Thr Ser Pro
1 5 10 15

<210> 362

<211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 362

Met Lys Leu Pro Val Arg Leu Leu Val Leu Met Phe Trp Ile Pro
1 5 10 15

<210> 363

<211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 363

Met Lys Leu Pro Val Arg Leu Leu Val Leu Met Phe Trp Ile Pro
1 5 10 15

<210> 364

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 364

Met Glu Lys Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1 5 10 15

<210> 365

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 365

Met Glu Ser Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1 5 10 15

<210> 366

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 366

Met Glu Ser Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1 5 10 15

<210> 367

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 367

Met Glu Thr Asp Pro Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
 1 5 10 15

<210> 368

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 368

Met Glu Thr Asp Thr Ile Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
 1 5 10 15

<210> 369

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 369

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
 1 5 10 15

<210> 370

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 370

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
 1 5 10 15

<210> 371

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 371

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
 1 5 10 15

<210> 372

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 372

Met Arg Phe Ser Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Val Leu Trp Ile Pro
 1 5 10 15

<210> 373

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 373

Met Val Phe Thr Pro Gln Ile Leu Gly Leu Met Leu Phe Trp Ile Ser
 1 5 10 15

<210> 374
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 374

Met Asp Ser Gln Ala Gln Val Leu Ile Leu Leu Leu Leu Trp Val Ser
 1 5 10 15

<210> 375
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 375

Met Asp Ser Gln Ala Gln Val Leu Met Leu Leu Leu Leu Ser Val Ser
 1 5 10 15

<210> 376
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 376

Met Asp Ser Gln Ala Gln Val Leu Met Leu Leu Leu Leu Trp Val Ser
 1 5 10 15

<210> 377
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 377

Met Asp Ser Gln Ala Arg Val Leu Met Leu Leu Leu Leu Trp Val Ser
 1 5 10 15

<210> 378
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 378

Met Glu Ser Gln Asn His Val Leu Met Phe Leu Leu Leu Trp Val Ser
 1 5 10 15

<210> 379
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 379

Met Glu Ser Gln Thr His Val Leu Met Phe Leu Leu Leu Trp Val Ser
 1 5 10 15

<210> 380
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 380

Met Glu Ser Gln Thr Gln Val Phe Leu Ser Leu Leu Leu Trp Val Ser
 1 5 10 15

<210> 381
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 381

Met Glu Ser Gln Thr Gln Val Leu Ile Ser Leu Leu Phe Trp Val Ser
 1 5 10 15

<210> 382
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 382

Met Glu Ser Gln Thr Gln Val Leu Met Ser Leu Leu Phe Trp Val Ser
 1 5 10 15

<210> 383
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 383

Met Glu Thr Pro Ala Ser Phe Leu Cys Leu Leu Leu Leu Trp Thr Thr
 1 5 10 15

Ser Ala Val

<210> 384
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 384

Gln His Gly His Glu Gly Leu Cys Ser Val Ser Trp Val Pro Val Ala
 1 5 10 15

<210> 385
 <211> 16
 <212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 385

Met Met Ser Pro Ala Gln Phe Leu Phe Leu Leu Val Leu Trp Ile Gln
1 5 10 15

<210> 386

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 386

Met Met Ser Pro Ala Gln Phe Leu Phe Leu Leu Val Leu Trp Ile Arg
1 5 10 15

<210> 387

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 387

Met Met Ser Pro Val Gln Phe Leu Phe Leu Leu Met Leu Trp Ile Gln
1 5 10 15

<210> 388

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 388

Met Ile Ala Ser Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Leu Cys Phe Gln
1 5 10 15

<210> 389

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 389

Met Met Ser Ser Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Leu Cys Phe Gln
1 5 10 15

<210> 390

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 390

Met Met Ser Ser Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Leu Cys Phe Gln
1 5 10 15

<210> 391

<211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 391

Met Asp Met Arg Ala Pro Ala Gln Ile Phe Gly Phe Leu Leu Leu Leu
1 5 10 15

Phe Gln

<210> 392

<211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 392

Met Asp Met Arg Val Pro Ala His Val Phe Gly Phe Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

Phe Pro

<210> 393

<211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 393

Met Asp Cys Gly Ile Ser Leu Val Phe Leu Val Leu Ile Leu Lys
1 5 10 15

<210> 394

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 394

Met Glu Phe Gln Thr Gln Val Phe Val Phe Val Leu Leu Trp Leu Ser
1 5 10 15

<210> 395

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 395

Met Glu Ser Gln Ile Gln Ala Phe Val Phe Val Phe Leu Trp Leu Ser
1 5 10 15

<210> 396

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 396

Met Glu Ser Gln Ile Gln Val Phe Val Phe Val Phe Leu Trp Leu Ser

1 5 10 15

<210> 397
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 397

Met Glu Ser Gln Thr Gln Val Phe Val Tyr Met Leu Leu Trp Leu Ser
 1 5 10 15

<210> 398
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 398

Met Gly Phe Lys Met Glu Ser His Thr Gln Ala Phe Val Phe Ala Phe
 1 5 10 15

Leu Trp Leu Ser
 20

<210> 399
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 399

Met Glu Thr His Ser Gln Val Phe Val Tyr Met Leu Leu Trp Leu Ser
 1 5 10 15

<210> 400
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<220>
 <221> propriedade de mistura
 <222> (5)..(6)
 <223> Xaa pode ser qualquer aminoácido que ocorra naturalmente

<400> 400

Met Glu Trp Leu Xaa Xaa Phe Leu Leu Phe Leu Ser Leu Thr Ala
 1 5 10 15

<210> 401
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 401

Met Glu Trp Ser Cys Ile Phe Leu Phe Leu Leu Ser Val Thr Ala
 1 5 10 15

<210> 402

<211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 402

Met	Glu	Trp	Ser	Gly	Val	Phe	Ile	Phe	Leu	Leu	Ser	Val	Thr	Ala
1				5					10					15

<210> 403

<211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 403

Met	Glu	Trp	Ser	Arg	Val	Phe	Ile	Phe	Leu	Leu	Ser	Val	Thr	Ala
1				5					10					15

<210> 404

<211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 404

Met	Glu	Trp	Ser	Trp	Val	Phe	Leu	Phe	Phe	Leu	Ser	Val	Thr	Thr
1				5					10					15

<210> 405

<211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 405

Met	Glu	Trp	Ser	Trp	Val	Phe	Leu	Phe	Leu	Leu	Ser	Leu	Thr	Ser
1				5					10					15

<210> 406

<211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 406

Met	Gly	Trp	Asn	Trp	Ile	Phe	Ile	Leu	Ile	Leu	Ser	Val	Thr	Thr
1				5					10					15

<210> 407

<211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 407

Met	Gly	Trp	Ser	Cys	Ile	Ile	Phe	Phe	Leu	Val	Ala	Thr	Ala	Thr
1				5					10					15

<210> 408
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 408

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Asn
 1 5 10 15

<210> 409
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 409

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr
 1 5 10 15

<210> 410
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 410

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr
 1 5 10 15

<210> 411
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 411

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr
 1 5 10 15

<210> 412
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 412

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr
 1 5 10 15

<210> 413
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 413

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ser Thr Ala Thr
 1 5 10 15

<210> 414
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 414

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Ile Leu Val Ala Ala Ala Thr
 1 5 10 15

<210> 415
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 415

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Ile Leu Val Ala Ala Ala Thr
 1 5 10 15

<210> 416
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 416

Met Gly Trp Ser Cys Ile Met Leu Phe Leu Ala Ala Arg Ala Thr
 1 5 10 15

<210> 417
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 417

Met Gly Trp Ser Cys Ile Met Leu Phe Leu Ala Ala Thr Ala Thr
 1 5 10 15

<210> 418
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 418

Met Gly Trp Ser Cys Ile Met Leu Phe Leu Ala Ala Thr Ala Thr
 1 5 10 15

<210> 419
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 419

Met Gly Trp Ser Cys Ile Met Leu Phe Leu Ala Ala Thr Ala Thr
 1 5 10 15

<210> 420
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 420

Met Gly Trp Ser Cys Ile Met Leu Phe Leu Ala Ala Thr Ala Thr
 1 5 10 15

<210> 421
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 421

Met Gly Trp Ser Cys Ile Met Leu Phe Leu Ala Ala Thr Ala Thr
 1 5 10 15

<210> 422
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 422

Met Gly Trp Ser Cys Ile Met Leu Phe Leu Ala Ala Thr Ala Thr
 1 5 10 15

<210> 423
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 423

Met Gly Trp Ser Cys Ile Met Leu Phe Leu Ala Ala Thr Ala Thr
 1 5 10 15

<210> 424
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 424

Met Gly Trp Ser Arg Ile Phe Leu Phe Leu Leu Ser Ile Thr Ala
 1 5 10 15

<210> 425
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 425

Met Gly Trp Ser Ser Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr
 1 5 10 15

<210> 426

<211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 426

Met Gly Trp Ser Trp Ile Phe Leu Phe Leu Leu Ser Gly Ser Ala
 1 5 10 15

<210> 427
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 427

Met Gly Trp Ser Trp Ile Phe Leu Phe Leu Leu Ser Gly Thr Ala
 1 5 10 15

<210> 428
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 428

Met Gly Trp Ser Trp Ile Phe Leu Phe Leu Leu Ser Gly Thr Ala
 1 5 10 15

<210> 429
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 429

Met Gly Trp Ser Trp Ile Phe Leu Leu Phe Leu Ser Gly Thr Ala
 1 5 10 15

<210> 430
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 430

Met Gly Trp Ser Trp Ile Phe Pro Phe Leu Leu Ser Gly Thr Ala
 1 5 10 15

<210> 431
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 431

Met Gly Trp Ser Trp Ile Phe Pro Phe Leu Leu Ser Gly Thr Ala
 1 5 10 15

<210> 432
 <211> 15

<212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 432

Met Gly Trp Ser Tyr Ile Ile Phe Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr
 1 5 10 15

<210> 433
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 433

Met Gly Trp Ser Tyr Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr
 1 5 10 15

<210> 434
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 434

Met Gly Trp Ser Tyr Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr
 1 5 10 15

<210> 435
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 435

Met Gly Trp Ser Tyr Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr
 1 5 10 15

<210> 436
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 436

Met Leu Leu Gly Leu Lys Trp Val Phe Phe Val Val Phe Tyr Gln
 1 5 10 15

<210> 437
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 437

Met Arg Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr
 1 5 10 15

<210> 438
 <211> 15

<212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 438

Met Arg Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr
 1 5 10 15

<210> 439
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 439

Met Val Ser Glu Thr His Val Leu Ile Phe Leu Leu Leu Trp Val Ser
 1 5 10 15

<210> 440
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 440

Ile Phe Leu Phe Leu Leu Ser Ile Thr Ala
 1 5 10

<210> 441
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 441

Ile Gly Trp Ser Tyr Ile Ile Leu Leu Leu Val Ala Thr Ala Thr
 1 5 10 15

<210> 442
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 442

Ile Lys Trp Ser Trp Ile Phe Leu Phe Leu Leu Ser Gly Thr Ala
 1 5 10 15

<210> 443
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 443

Ile Lys Trp Ser Trp Ile Ser Leu Phe Leu Leu Ser Gly Thr Ala
 1 5 10 15

<210> 444
 <211> 15
 <212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 444

Lys Gly Gly Ser Cys Val Ser Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Asn
1 5 10 15

<210> 445

<211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 445

Met Ala Trp Ser Trp Val Phe Leu Phe Phe Leu Ser Val Thr Thr
1 5 10 15

<210> 446

<211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 446

Met Glu Cys Ser Trp Val Phe Leu Phe Leu Leu Ser Leu Thr Ala
1 5 10 15

<210> 447

<211> 19

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 447

Met Ile Tyr Ser Leu Gln Leu Leu Arg Met Leu Val Leu Trp Ile Pro
1 5 10 15

Ile Ser Lys

<210> 448

<211> 19

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 448

Met Ser Tyr Ser Leu Gln Leu Leu Arg Met Leu Val Leu Trp Ile Pro
1 5 10 15

Ile Ser Lys

<210> 449

<211> 19

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 449

Met Ser Tyr Ser Leu Gln Leu Leu Arg Met Leu Val Leu Trp Ile Pro
 1 5 10 15

Ile Thr Lys

<210> 450
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 450

Leu Val Leu Lys
 1

<210> 451
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 451

Met Ala Val Leu Gly Leu Leu Phe Cys Leu Val Thr Phe Pro Ser
 1 5 10 15

<210> 452
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 452

Met Ala Val Leu Gly Leu Leu Leu Cys Leu Val Thr Phe Pro Ser
 1 5 10 15

<210> 453
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 453

Met Asp Arg Leu Thr Ser Ser Phe Leu Leu Ile Val Pro Ala
 1 5 10 15

<210> 454
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 454

Met Glu Trp Ser Trp Ile Phe Leu Phe Leu Leu Ser Gly Thr Ala
 1 5 10 15

<210> 455
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 455

Met	Gly	Arg	Leu	Thr	Phe	Ser	Phe	Leu	Leu	Leu	Pro	Val	Pro	Ala
1				5					10				15	

<210> 456

<211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 456

Met	Gly	Trp	Ser	Cys	Val	Leu	Leu	Phe	Leu	Val	Ser	Gly	Thr	Ala
1				5					10				15	

<210> 457

<211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 457

Met	Gly	Trp	Ser	Trp	Ile	Phe	Phe	Phe	Leu	Leu	Ser	Gly	Thr	Ala
1				5						10			15	

<210> 458

<211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 458

Met	Gly	Trp	Ser	Trp	Ile	Phe	Leu	Phe	Phe	Leu	Ser	Gly	Thr	Ala
1				5						10			15	

<210> 459

<211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 459

Met	Gly	Trp	Ser	Trp	Ile	Phe	Leu	Phe	Leu	Leu	Ser	Gly	Ser	Ala
1				5					10				15	

<210> 460

<211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 460

Met	Gly	Trp	Ser	Trp	Ile	Phe	Leu	Phe	Leu	Leu	Ser	Gly	Thr	Ala
1				5					10				15	

<210> 461

<211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 461

Met Gly Trp Ser Trp Ile Phe Leu Phe Leu Leu Ser Gly Thr Ala
1 5 10 15

<210> 462

<211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 462

Met Gly Trp Ser Trp Ile Phe Leu Leu Phe Leu Ser Gly Thr Ala
1 5 10 15

<210> 463

<211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 463

Met Gly Trp Ser Trp Ile Phe Leu Leu Phe Leu Ser Gly Thr Ala
1 5 10 15

<210> 464

<211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 464

Met Gly Trp Ser Trp Val Phe Leu Ser Phe Leu Ser Gly Thr Ala
1 5 10 15

<210> 465

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 465

Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Ile Ser
1 5 10 15

<210> 466

<211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 466

Met Ala Val Val Thr Gly Lys Gly Leu Pro Ser Pro Lys Leu Glu
1 5 10 15

<210> 467

<211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 467

Met Gly Trp Ser Tyr Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr
 1 5 10 15

<210> 468
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 468

Met Gln Leu Gly His Leu Leu Pro Asp Gly Ser
 1 5 10

<210> 469
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 469

Arg Ser Val Pro Thr Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp Leu Thr
 1 5 10 15

<210> 470
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 470

Leu Ile Leu Lys
 1

<210> 471
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 471

Leu Val Leu Lys
 1

<210> 472
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> peptídeo de junção

<400> 472

Gln Ile Trp Asn Asn
 1 5

<210> 473
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 473

Met Glu Ser Gln Asn His Val Leu Met Phe Leu Leu Leu Trp Val Ser
1 5 10 15

Thr Cys Gly

<210> 474

<211> 19

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 474

Met Glu Ser Gln Thr His Val Leu Met Phe Leu Leu Leu Trp Val Ser
1 5 10 15

Thr Cys Gly

<210> 475

<211> 19

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 475

Met Glu Ser Gln Thr Gln Val Phe Val Tyr Met Leu Leu Trp Leu Ser
1 5 10 15

Val Asp Gly

<210> 476

<211> 19

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 476

Met Glu Ser Gln Thr Gln Val Leu Ile Ser Leu Leu Phe Trp Val Ser
1 5 10 15

Thr Cys Gly

<210> 477

<211> 19

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 477

Met Glu Ser Gln Thr Gln Val Leu Met Phe Leu Leu Leu Trp Val Ser
1 5 10 15

Ala Cys Ala

<210> 478
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 478

Met	Glu	Ser	Gln	Thr	Gln	Val	Leu	Met	Ser	Leu	Leu	Phe	Trp	Val	Ser
1				5				10						15	

Thr Cys Gly

<210> 479
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 479

Met	Glu	Thr	Asp	Pro	Leu	Leu	Leu	Trp	Val	Leu	Leu	Leu	Trp	Val	Pro
1				5				10						15	

Ser Thr Gly

<210> 480
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 480

Met	Glu	Thr	Asp	Thr	Ile	Leu	Leu	Trp	Val	Leu	Leu	Leu	Trp	Val	Pro
1				5				10						15	

Ser Thr Gly

<210> 481
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 481

Met	Glu	Thr	Asp	Thr	Leu	Leu	Leu	Trp	Val	Leu	Leu	Leu	Trp	Val	Pro
1				5				10						15	

Ser Thr Gly

<210> 482

<211> 19
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 482

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
 1 5 10 15

Ser Thr Gly

<210> 483
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 483

Met Glu Thr His Ser Gln Val Phe Val Tyr Met Leu Leu Trp Leu Ser
 1 5 10 15

Val Glu Gly

<210> 484
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 484

Met Gly Phe Lys Met Glu Ser His Thr Gln Ala Phe Val Phe Ala Phe
 1 5 10 15

Leu Trp Leu Ser Val Asp Gly
 20

<210> 485
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 485

Met Gly Val Pro Thr Gln Leu Leu Leu Leu Trp Leu Thr Val Arg Cys
 1 5 10 15

<210> 486
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 486

Met Ile Ala Ser Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Leu Cys Phe Gln
 1 5 10 15

Thr Arg Cys

<210> 487
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 487

Met Lys Phe Pro Ser Gln Leu Leu Leu Phe Leu Leu Phe Arg Ile Thr
 1 5 10 15

Ile Ile Cys

<210> 488
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 488

Met Lys Phe Pro Ser Gln Leu Leu Leu Leu Leu Phe Gly Ile Pro
 1 5 10 15

Met Ile Cys

<210> 489
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 489

Met Met Ser Ser Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Leu Cys Phe Gln
 1 5 10 15

Thr Arg Cys

<210> 490
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 490

Met Met Ser Ser Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Leu Cys Phe Gln
 1 5 10 15

Thr Arg Tyr

<210> 491
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 491

Met Asn Met Leu Thr Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp Phe Ala
 1 5 10 15

Gly Lys Cys

<210> 492

<211> 19

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 492

Met Arg Cys Leu Ala Glu Phe Leu Gly Leu Leu Val Leu Trp Ile Pro
 1 5 10 15

Ala Ile Gly

<210> 493

<211> 19

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 493

Met Arg Cys Leu Ala Glu Phe Leu Arg Leu Leu Val Leu Trp Ile Pro
 1 5 10 15

Ala Thr Gly

<210> 494

<211> 19

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 494

Met Arg Cys Ser Leu Gln Phe Leu Gly Val Leu Met Phe Trp Ile Ser
 1 5 10 15

Val Ser Gly

<210> 495

<211> 19

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 495

Met Arg Phe Ser Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Val Leu Trp Ile Pro
 1 5 10 15

Ser Thr Ala

<210> 496
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 496

Met Arg Pro Ser Ile Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Phe Trp Leu His
 1 5 10 15

Ala Gln Cys

<210> 497
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 497

Met Arg Val Leu Ala Glu Leu Leu Gly Leu Leu Leu Phe Cys Phe Leu
 1 5 10 15

Val Arg Cys

<210> 498
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 498

Met Arg Val Leu Pro Glu Phe Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp Ile Ser
 1 5 10 15

Val Arg Cys

<210> 499
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 499

Met Ser Ile Ser Thr Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp Leu Thr
 1 5 10 15

Ala Arg Cys

<210> 500

<211> 19
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 500

Met Ser Val Leu Thr Gln Val Leu Ala Leu Leu Leu Leu Trp Leu Thr
 1 5 10 15

Ala Arg Cys

<210> 501
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 501

Met Ser Val Pro Thr Gln Leu Leu Ala Leu Leu Leu Leu Trp Leu Thr
 1 5 10 15

Ala Arg Cys

<210> 502
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 502

Met Ser Val Pro Thr Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp Leu Thr
 1 5 10 15

Ala Gly Cys

<210> 503
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 503

Met Ser Val Pro Thr Gln Val Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp Leu Thr
 1 5 10 15

Ala Arg Cys

<210> 504
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 504

Met Val Phe Thr Pro Gln Ile Leu Gly Leu Met Leu Phe Trp Ile Ser

1 5 10 15

Ser Thr Gly

<210> 505
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 505

Met Val Phe Thr Pro Gln Ile Leu Gly Leu Met Leu Phe Trp Ile Ser
 1 5 10 15

Ser Arg Gly

<210> 506
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 506

Met Val Leu Gly Leu Lys Trp Val Phe Phe Val Val Phe Tyr Gln Ser
 1 5 10 15

Arg Gly

<210> 507
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 507

Met Val Ser Thr Ser Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Phe Trp Thr Ser
 1 5 10 15

Ser Arg Gly

<210> 508
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 508

Pro Ala Gln Phe Leu Phe Leu Leu Val Leu Trp Ile Gln Ser Arg Cys
 1 5 10 15

<210> 509
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 509

Met Gly Trp Ser Trp Ile Phe Leu Phe Leu Leu Ser Gly Thr Ala Val
1 5 10 15

Leu Ser

<210> 510

<211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 510

Met Gly Trp Ser Trp Ile Phe Leu Phe Leu Leu Ser Gly Thr Ala Val
1 5 10 15

Leu Ser

<210> 511

<211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 511

Met Gly Trp Ser Trp Ile Phe Leu Leu Phe Leu Ser Gly Thr Ala Val
1 5 10 15

Leu Ser

<210> 512

<211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 512

Met Gly Trp Ser Trp Ile Phe Leu Leu Phe Leu Ser Gly Thr Ala Val
1 5 10 15

His Ser

<210> 513

<211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 513

Met Gly Trp Ser Trp Ile Phe Leu Leu Phe Leu Ser Gly Thr Ala Val
1 5 10 15

Leu Ser

<210> 514
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 514

Met Gly Trp Ser Trp Val Phe Leu Ser Phe Leu Ser Gly Thr Ala Val
 1 5 10 15

Leu Ser

<210> 515
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 515

Met Lys Cys Ser Trp Val Ile Phe Phe Leu Met Ala Val Val Ile Ile
 1 5 10 15

Asn Ser

<210> 516
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 516

Met Lys Leu Trp Leu Asn Trp Ile Leu Leu Val Ala Leu Leu Asn Ile
 1 5 10 15

Gln Cys

<210> 517
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 517

Met Leu Leu Gly Leu Lys Trp Val Phe Phe Val Val Phe Tyr Gln Val
 1 5 10 15

His Cys

<210> 518

<211> 19
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 518

Met Leu Leu Gly Leu Lys Trp Val Phe Phe Val Val Phe Tyr Gln Gly
 1 5 10 15

Val His Cys

<210> 519
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 519

Met Met Val Leu Ser Leu Leu Tyr Leu Leu Thr Ala Leu Pro Gly Ile
 1 5 10 15

Leu Ser

<210> 520
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 520

Met Asn Phe Gly Leu Ser Leu Ile Phe Leu Val Leu Ile Leu Lys Val
 1 5 10 15

Gln Cys

<210> 521
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 521

Met Gln Leu Gly His Leu Leu Pro Asp Gly Ser Val Asn Ser
 1 5 10

<210> 522
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 522

Met Val Ser Glu Thr His Val Leu Ile Phe Leu Leu Leu Trp Val Ser
 1 5 10 15

Val His Cys

<210> 523
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 523

Arg Ser Val Pro Thr Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp Leu Thr
 1 5 10 15

Val Asn Ser

<210> 524
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 524

Met Glu Trp Ser Gly Val Phe Ile Phe Leu Leu Ser Val Thr Ala Val
 1 5 10 15

Tyr Ser

<210> 525
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 525

Met Glu Trp Ser Arg Val Phe Ile Phe Leu Leu Ser Val Thr Ala Val
 1 5 10 15

His Ser

<210> 526
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 526

Met Glu Trp Ser Trp Val Phe Leu Phe Phe Leu Ser Val Thr Thr Val
 1 5 10 15

His Ser

<210> 527
 <211> 18

<212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 527

Met Glu Trp Ser Trp Val Phe Leu Phe Leu Leu Ser Leu Thr Ser Val
 1 5 10 15

His Ser

<210> 528
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 528

Met Gly Arg Leu Thr Phe Ser Phe Leu Leu Leu Leu Pro Val Pro Ala
 1 5 10 15

Val Leu Ser

<210> 529
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 529

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Phe Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Val
 1 5 10 15

His Phe

<210> 530
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 530

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Asn Val
 1 5 10 15

His Ser

<210> 531
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 531

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Val
 1 5 10 15

His Ser

<210> 532
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 532

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Val
 1 5 10 15

His Ser

<210> 533
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 533

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Val
 1 5 10 15

His Ser

<210> 534
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 534

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ser Thr Ala Thr Val
 1 5 10 15

His Ser

<210> 535
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 535

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Ile Leu Val Ala Ala Ala Thr Val
 1 5 10 15

His Ser

<210> 536
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 536

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Ile Leu Val Ala Ala Ala Thr Val
 1 5 10 15

His Ser

<210> 537
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 537

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Ile Leu Val Ala Ala Ala Thr Val
 1 5 10 15

Gln Phe

<210> 538
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 538

Met Gly Trp Ser Cys Ile Met Leu Phe Leu Ala Ala Arg Ala Thr Val
 1 5 10 15

His Ser

<210> 539
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 539

Met Gly Trp Ser Cys Ile Met Leu Phe Leu Ala Ala Thr Ala Thr Val
 1 5 10 15

His Phe

<210> 540
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 540

Met Gly Trp Ser Cys Ile Met Leu Phe Leu Ala Ala Thr Ala Thr Val
1 5 10 15

His Phe

<210> 541

<211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 541

Met Gly Trp Ser Cys Ile Met Leu Phe Leu Ala Ala Thr Ala Thr Val
1 5 10 15

His Ser

<210> 542

<211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 542

Met Gly Trp Ser Cys Ile Met Leu Phe Leu Ala Ala Thr Ala Thr Val
1 5 10 15

His Ser

<210> 543

<211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 543

Met Gly Trp Ser Cys Ile Met Leu Phe Leu Ala Ala Thr Ala Thr Val
1 5 10 15

His Ser

<210> 544

<211> 19

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 544

Met Gly Trp Ser Phe Leu Pro Leu Phe Leu Ala Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser

<210> 545
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 545

Met Gly Trp Ser Arg Ile Phe Leu Phe Leu Leu Ser Ile Thr Ala Val
 1 5 10 15

His Cys

<210> 546
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 546

Met Gly Trp Ser Ser Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Val
 1 5 10 15

His Ser

<210> 547
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 547

Met Gly Trp Ser Trp Ile Phe Pro Phe Leu Leu Ser Gly Thr Ala Val
 1 5 10 15

His Cys

<210> 548
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 548

Met Gly Trp Ser Tyr Ile Ile Phe Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Val
 1 5 10 15

His Phe

<210> 549
 <211> 18

<212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 549

Met Gly Trp Ser Tyr Ile Ile Phe Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Val
 1 5 10 15

His Ser

<210> 550
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 550

Met Gly Trp Ser Tyr Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
 1 5 10 15

His Ser

<210> 551
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 551

Met Gly Trp Ser Tyr Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Val
 1 5 10 15

His Ser

<210> 552
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 552

Met Gly Trp Ser Tyr Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Val
 1 5 10 15

Asn Ser

<210> 553
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 553

Met Arg Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Val
 1 5 10 15

His Ser

<210> 554
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> ligante 8

<400> 554

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 1 5 10 15

<210> 555
 <211> 26
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> ligante 9

<400> 555

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 20 25

<210> 556
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> ligante 10

<400> 556

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 1 5 10 15

Gly

<210> 557
 <211> 27
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> ligante 11

<400> 557

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
20 25

<210> 558

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> Inserção de um único sítio de restrição HindIII e KasI.

<400> 558

aagcttcaac aggggagagt gttgaaggga gaggcgcc

38

REIVINDICAÇÕES

1. Método para a produção recombinante de um polipeptídeo heterólogo em uma célula hospedeira eucariótica compreendendo um plasmídeo de expressão, caracterizado pelo fato de que

5 a) o plasmídeo de expressão compreende em uma direção 5' para 3'

aa) um promotor,

ab) um ácido nucléico codificando um primeiro polipeptídeo, cuja seqüência de aminoácidos é selecionada da Tabela 1 dependendo dos dois
10 primeiros aminoácidos do segundo polipeptídeo,

ac) um ácido nucléico codificando um segundo polipeptídeo compreendendo

i) um ácido nucléico codificando o referido polipeptídeo heterólogo,

15 ii) um ácido nucléico codificando um ligante,

iii) um ácido nucléico codificando um fragmento de imunoglobulina,

ad) uma região 3' não traduzida compreendendo um sinal de poliadenilação,

20 b) o plasmídeo de expressão é introduzido em uma célula hospedeira eucariótica,

c) a célula hospedeira é cultivada sob condições adequadas para a expressão do segundo polipeptídeo,

d) o segundo polipeptídeo é recuperado do meio de cultura.

25 2. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o referido segundo polipeptídeo compreende depois do polipeptídeo heterólogo um ligante e depois do ligante segue um fragmento de imunoglobulina como a parte carbóxi-terminal do segundo polipeptídeo.

30 3. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 ou 2, caracterizado pelo fato de que o segundo polipeptídeo contém na posição 5' para o ácido nucléico codificando o referido polipeptídeo heterólogo um ácido nucléico adicional codificando ou um único aminoácido ou um dipeptídeo

ou o peptídeo QIWNN (SEQ ID NO: 472) ou um fragmento do mesmo.

4. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, caracterizado pelo fato de que o fragmento de imunoglobulina é obtido ou de uma IgG ou de uma IgE.

5 5. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, caracterizado pelo fato de que a célula eucariótica é uma célula mamífera.

6. Método de acordo com a reivindicação 5, caracterizado pelo fato de que a célula mamífera é uma célula CHO, célula NS0, célula Sp2/0, célula COS, célula K562, célula BHK, célula PER.C6 ou célula HEK.

10 7. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 6, caracterizado pelo fato de que o ligante é um peptídeo ou polipeptídeo selecionado entre o grupo consistindo em SEQ ID NO: 06, 07, 08, 09, 10, 139, 140, 554, 555, 556, e 557.

8. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 7, caracterizado pelo fato de que o fragmento de imunoglobulina compreende

a) ou o domínio C_{H1}, C_{H2}, C_{H3} e a região de articulação de uma cadeia pesada de imunoglobulina ou o domínio C_L de uma cadeia leve de imunoglobulina, e

20 b) um fragmento de um domínio variável de imunoglobulina de cadeia pesada ou leve.

9. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 7, caracterizado pelo fato de que o fragmento de imunoglobulina compreende somente domínios constantes.

25 10. Plasmídeo compreendendo em uma direção 5' para 3' a) um promotor,

b) um ácido nucléico codificando um primeiro polipeptídeo, cuja sequência de aminoácidos é selecionada da Tabela 1 dependendo dos dois primeiros aminoácidos do segundo polipeptídeo;

30 c) um ácido nucléico codificando um segundo polipeptídeo compreendendo

i) um ácido nucléico codificando um polipeptídeo heterólogo,

ii) um ácido nucléico codificando um ligante,

iii) um ácido nucléico codificando um fragmento de imunoglobulina;

d) uma região 3' não traduzida compreendendo um sinal de poliadenilação.

5 11. Kit para a preparação de um plasmídeo para a expressão de um polipeptídeo heterólogo em uma célula eucariótica compreendendo um plasmídeo o qual compreende em uma direção 5' para 3'

a) um promotor,

10 b) um ácido nucléico codificando um primeiro polipeptídeo, cuja sequência de aminoácidos é selecionada entre o grupo consistindo em SEQ ID NO: 36, 37, 319, 320, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 327, 328, e 329

c) um ácido nucléico codificando um segundo polipeptídeo compreendendo

15 i) um ácido nucléico codificando um peptídeo QIWNN (SEQ ID NO: 472) ou uma fração N-terminal do mesmo,

ii) um sítio de clonagem compreendendo no mínimo um sítio de clivagem de restrição,

20 iii) um ácido nucléico codificando um ligante selecionado entre o grupo consistindo em SEQ ID NO: 06, 07, 08, 09, 10, 139, 140, 554, 555, 556, e 557,

iv) um ácido nucléico codificando um fragmento de imunoglobulina;

d) uma região 3' não traduzida compreendendo um sinal de poliadenilação.

Fig. 1:

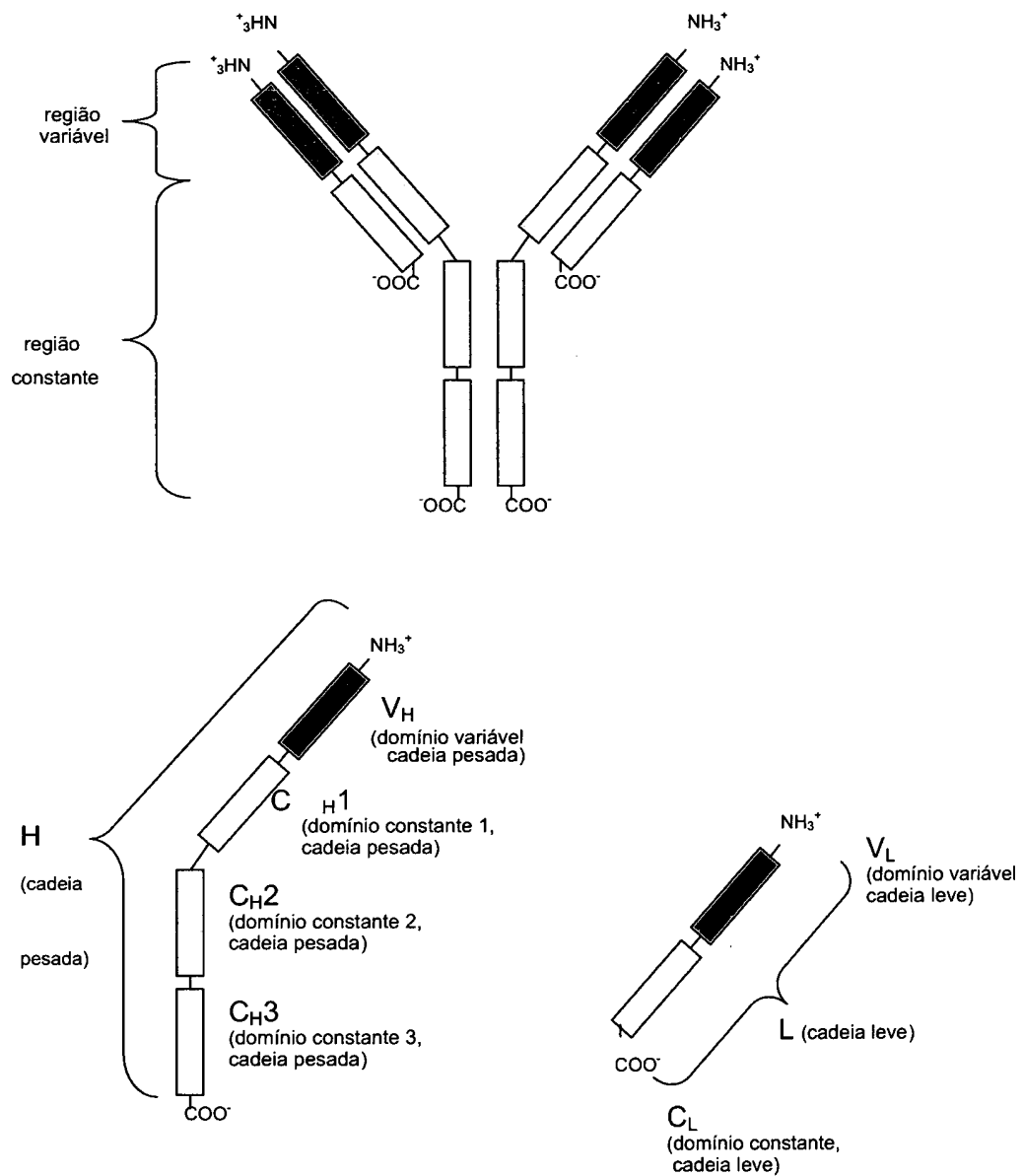


Fig. 2

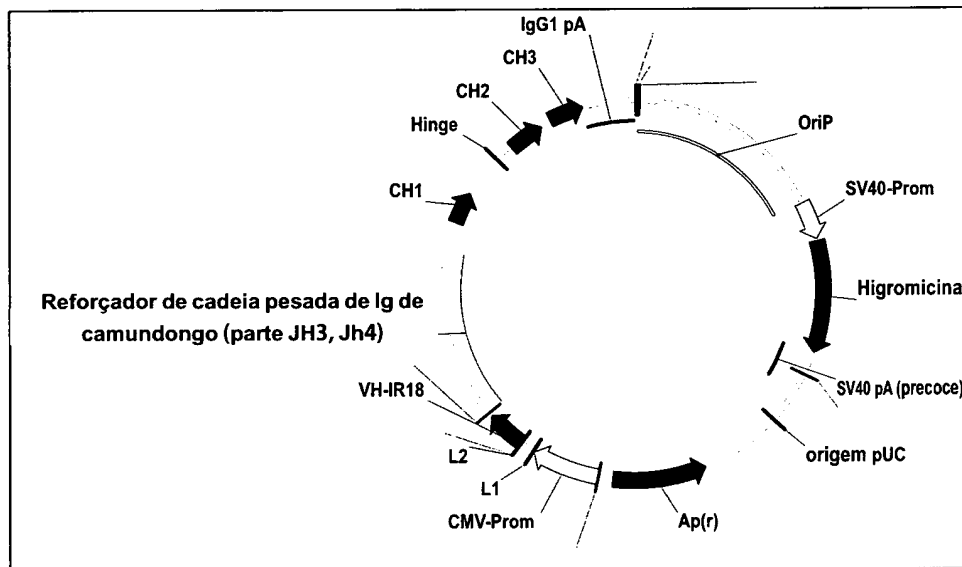


Fig. 3

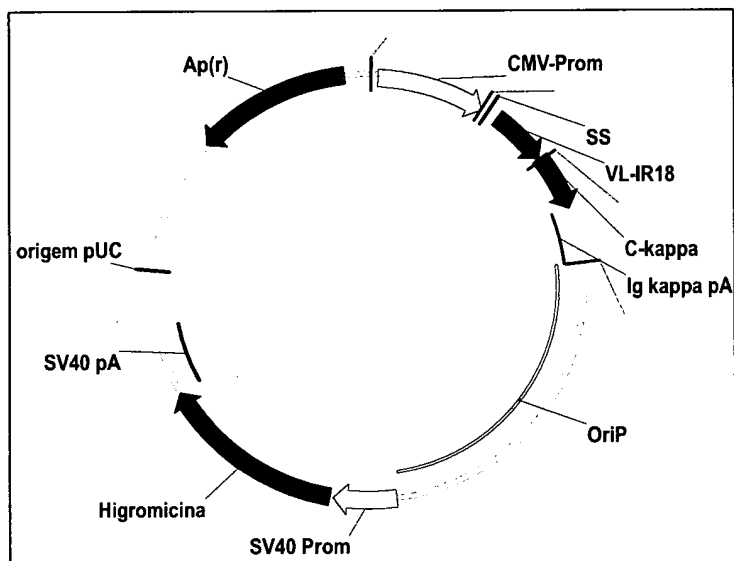


Fig. 4

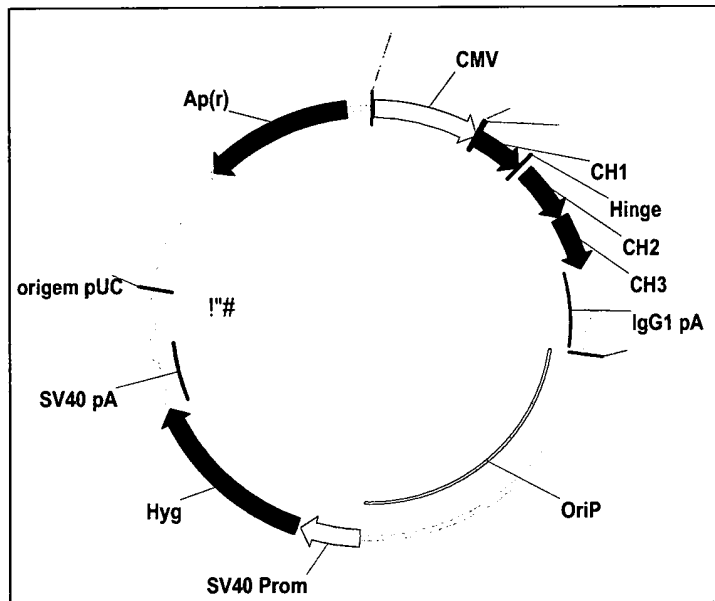


Fig. 5

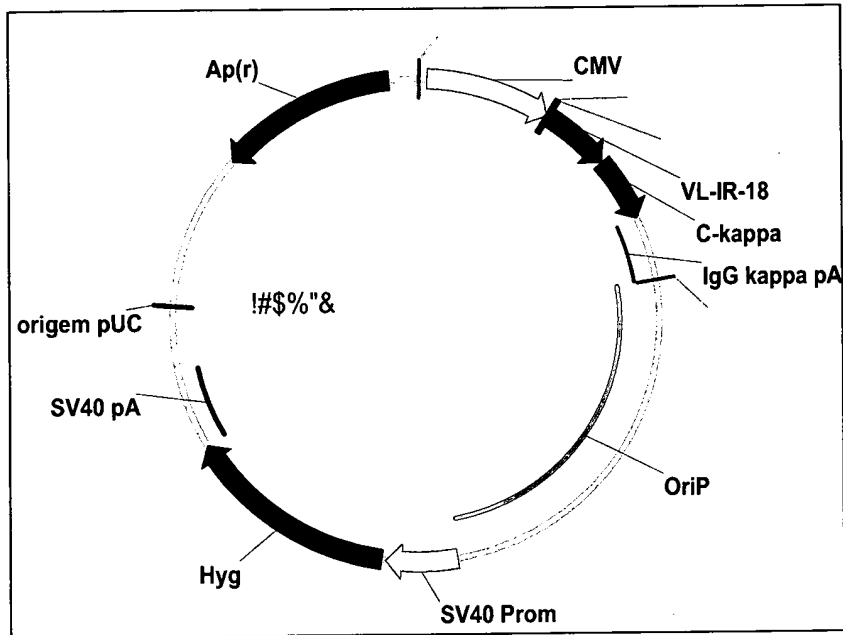


Fig. 6

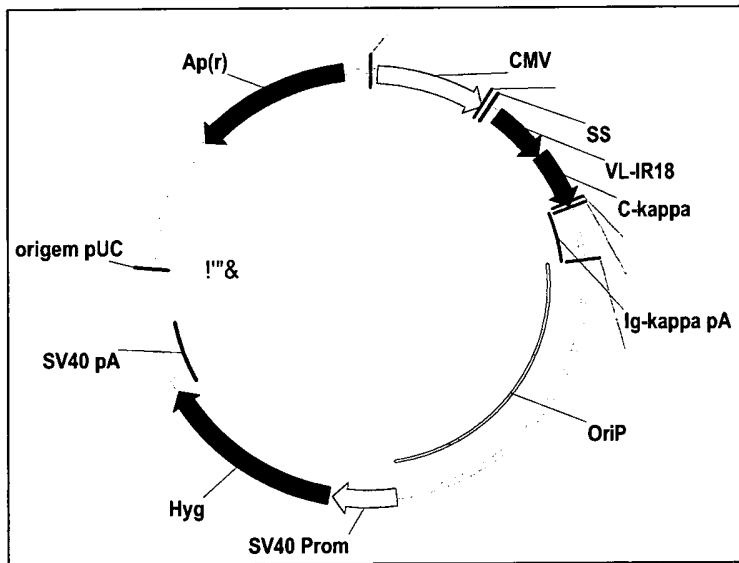


Fig. 7a

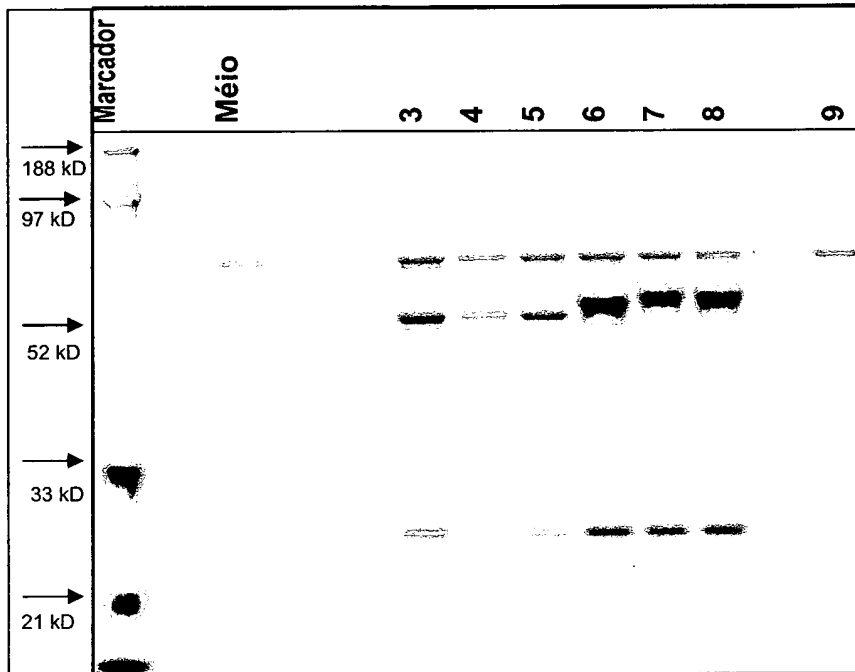


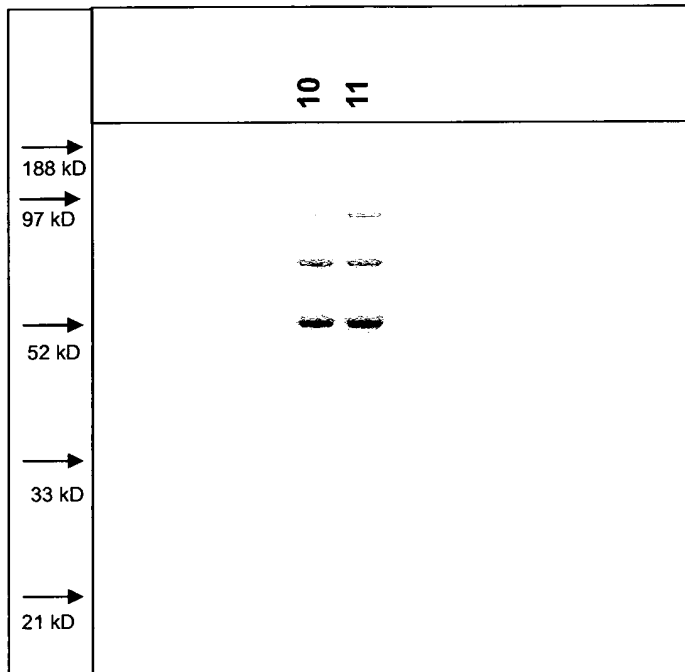
Fig. 7b

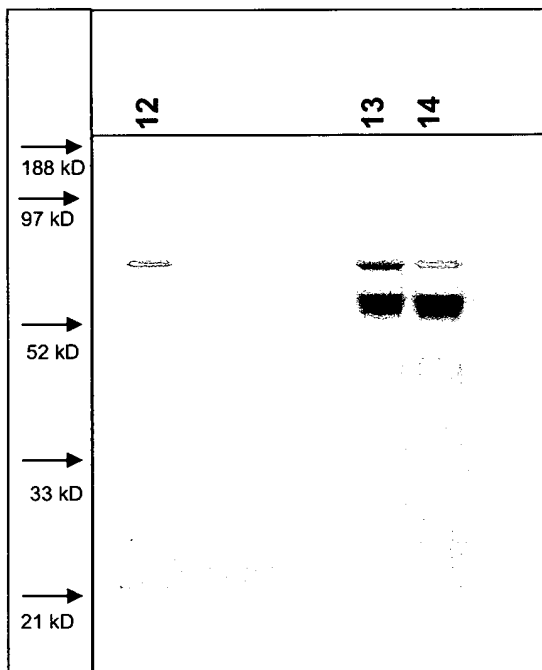
Fig. 7c

Fig. 8a

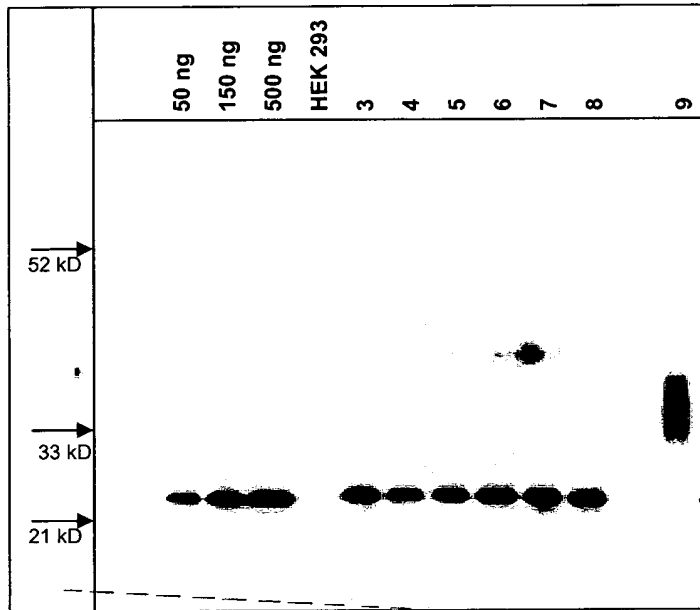


Fig. 8b

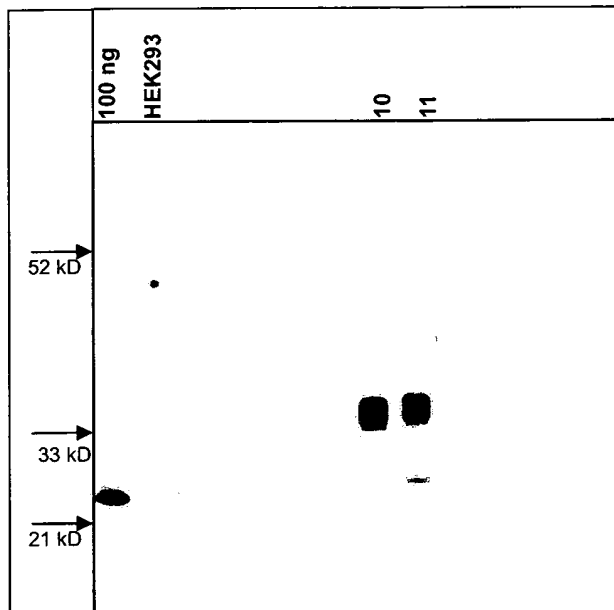


Fig. 8c

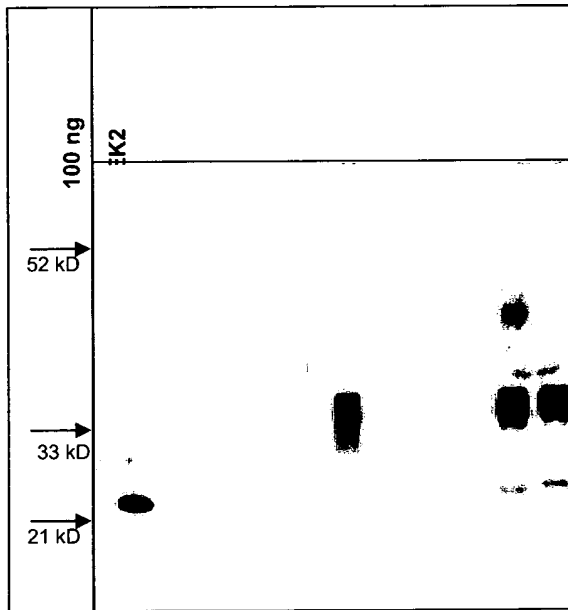


Fig. 9a

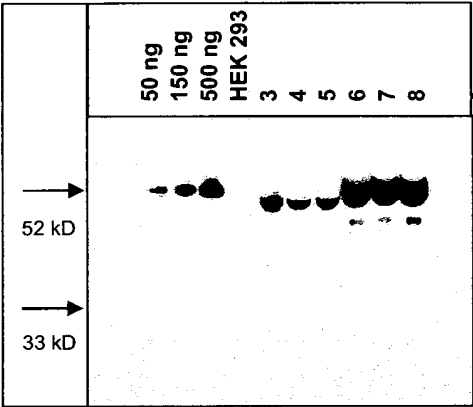


Fig. 9b

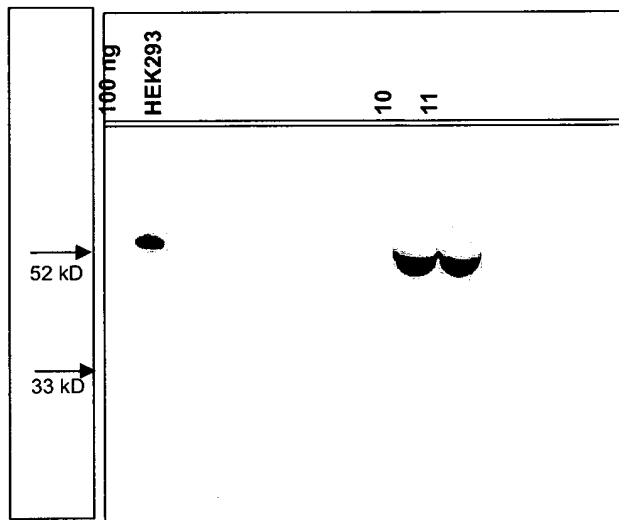
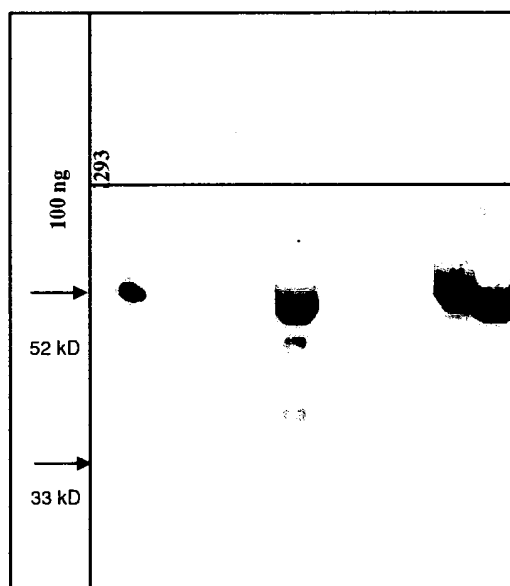


Fig. 9c:



RESUMO

Patente de Invenção: "MÉTODO PARA A EXPRESSÃO RECOMBINANTE DE UM POLIPEPTÍDEO".

A presente invenção refere-se a um descrito um método para a
 5 produção recombinante de um polipeptídeo heterólogo em uma célula hospedeira eucariótica. A célula hospedeira compreende um plasmídeo de expressão, em que o plasmídeo de expressão compreende em uma direção 5' para 3' a) um promotor, b) um ácido nucléico codificando um primeiro polipeptídeo, cuja sequência de aminoácidos é selecionada da Tabela 1 dependendo dos dois primeiros aminoácidos do segundo polipeptídeo, c) um ácido
 10 nucléico codificando um segundo polipeptídeo compreendendo um ácido nucléico codificando um polipeptídeo heterólogo, um ácido nucléico codificando um ligante, e um ácido nucléico codificando um fragmento de imunoglobulina, e d) uma região 3' não traduzida compreendendo um sinal de poliadenilação. São descritos adicionalmente um plasmídeo e um kit.
 15