

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

(21) **PI0611167-0 A2**

(22) Data de Depósito: 19/05/2006
(43) Data da Publicação: 17/08/2010
(RPI 2067)



(51) *Int.Cl.:*
C07K 14/705
A61K 38/17
A61P 37/00

(54) Título: **POLIPEPTÍDEOS**

(30) Prioridade Unionista: 25/05/2005 GB 05 10627.3

(73) Titular(es): MEDIGENE LTD.

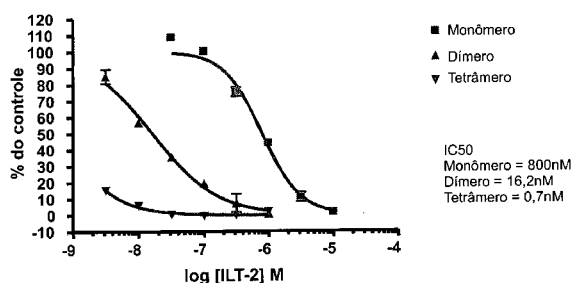
(72) Inventor(es): BEN KARSTEN JAKOBSEN, RUTH KAREN MOYSEY, YI LI

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

(86) Pedido Internacional: PCT GB2006001860 de 19/05/2006

(87) Publicação Internacional: WO 2006/125963 de 30/11/2006

(57) **Resumo:** A presente invenção refere-se a polipeptídeos que tem a propriedade de ligação a uma dada pMHC Classe 1 caracterizado em que o dito polipeptídeo tem o dito polipeptídeo tem um K_D para a dita pMCH Classe 1 de menos do que ou igual a $1 \mu M$ e/ou tem "off rate" (k_{off}) para a dita dada molécula de pMHC Classe 1 de $2S^{-1}$ ou mais lento E o dito polipeptídeo tem pelo menos 45% de identidade e/ou 55% de similaridade com SEQ ID NO: 7 E o dito polipeptídeo inibe a ligação de CD8 a dada pMHC em um grau maior do que o polipeptídeo SEO ID NO: 3. Tais polipeptídeos são úteis, tanto sozinhos como associados com um agente terapêutico, para a inibição de respostas de células T citotóxicas (CTL).



Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "POLIPEPTÍDEOS".

A presente invenção refere-se a polipeptídeos que têm a propriedade de ligação a uma dada pMHC Classe I CARACTERIZADO EM QUE o dito polipeptídeo tem um K_D para a dita pMHC Classe I de menos do que ou igual a 1 μM e/ou tem "off-rate" (k_{off}) para a dita molécula de pMHC Classe I de 2 S^{-1} ou mais lento E o dito polipeptídeo tem pelo menos 45% de identidade e/ou 55% de similaridade com SEQ ID NO: 7 E o dito polipeptídeo inibe a ligação de CD8 a dada pMHC em um grau maior do que o polipeptídeo da SEQ ID NO:3. Também são fornecidos complexos multivalentes dos ditos polipeptídeos, células que apresentam os ditos polipeptídeos, os ditos polipeptídeos associados a agentes terapêuticos e métodos para uso desses polipeptídeos.

Antecedentes da Invenção

Transcritos semelhantes à imunoglobulina (ILTs) também são conhecidos como receptores semelhantes à imunoglobulina de leucócito (LIRs), receptores semelhantes à imunoglobulina de monócito/macrófago (MIRs) e CD85. Essa família de imunorreceptores forma parte da superfamília de imunoglobulina. A identificação de moléculas de ILT foi publicada primeiramente em março de 1997 em um estudo (Samaridis *et al.*, (1997) *Eur J Immunol* 27: 660-665) que detalhou a sequência de LIR-1 (ILT-2), observou sua similaridade com FCy2R bovino, receptores inibitórios de célula killer humana (KIRs), Fc α R humano e gp49 de camundongo. Esse estudo também observou que LIR-1, diferente de KIRs, é predominantemente expressa em monócitos e células linfóides B.

Polipeptídeos solúveis com as características de ligação a p-MHC de moléculas ILT e complexos multivalentes desses fornecem um meio de bloquear o sítio de ligação de CD8 sobre as moléculas de pMHC, por exemplo com o propósito de inibir a doença auto-imune mediada pela célula T CD8⁺. Entretanto, para esse propósito seria desejável que esses polipeptídeos tivessem uma afinidade maior e/ou um "off-rate" mais lento para as moléculas de pMHC alvo do que as moléculas de ILT nativas.

Breve Descrição da Invenção

A presente invenção refere-se a polipeptídeos que tem a propriedade de ligação a uma dada pMHC Classe I CARACTERIZADO EM QUE o dito polipeptídeo tem um K_D para a dita pMHC Classe I de menos do que ou igual a 1 μM e/ou tem "off-rate" (k_{off}) para a dita molécula de pMHC Classe I de 2 S^{-1} ou mais lento E o dito polipeptídeo tem pelo menos 45% de identidade e/ou 55% de similaridade com SEQ ID NO: 7 e o dito polipeptídeo inibe a ligação de CD8 a uma dada pMHC em um grau maior do que o polipeptídeo da SEQ ID NO: 3. Também são fornecidos complexos multivalentes dos ditos polipeptídeos, células que apresentam os ditos polipeptídeos, os ditos polipeptídeos associados a agentes terapêuticos e métodos para uso desses polipeptídeos.

Descrição Detalhada da Invenção

Como observado acima, moléculas de ILT também são conhecidas como LIRs, MIRs e CD85. O termo ILT como usado aqui é entendido como abrangendo qualquer polipeptídeo dentro dessa família de imunorreceptores.

ILTs

A família ILT de imunorreceptores é expressa sobre a superfície de células linfóides e mielóides. As moléculas de ILT partilham 63-84% de homologia em suas regiões extracelulares e todas exceto a LIR-4 solúvel são proteínas transmembrana tipo I. Todas as moléculas de ILT atualmente identificadas têm dois ou quatro domínios da superfamília de imunoglobulinas em suas regiões extracelulares. (Willcox *et al.*, (2003) 4: (9) 913-919). Moléculas de ILT individuais também podem ser expressas como inúmeras variantes/isoformas distintas. (Colonna *et al.*, (1997) *J Exp Med* 186: (11) 1809-1818) e (Cosman *et al.*, (1997) *Immunity* 7: 273 -282).

Existem vários artigos científicos que detalham a estrutura e função de moléculas de ILT incluindo os seguintes: (Samaridis *et al.*, (1997) *Eur J Immunol* 27 660-665), (Cella, *et al.*, (1997) *J Exp Med* 185 (10) 1743-1751), (Cosman *et al.*, (1997) *Immunity* 7 273-282), (Borges *et al.*, (1997) *J Immunol* 159 5192-5196), (Colonna *et al.*, (1997) *J Exp Med* 186 (11) 1809-1818),

(Colonna *et al.*, (1998) *J. Immunol* 160 3096-3100), (Cosman *et al.*, (1 999) *Immunological Revs* 168 177-1 85), (Chapman *et al.*, (1 999) *Immunity* 11 603-61 3), (Chapman *et al.*, (2000) *Immunity* 12 727-736), (Willcox *et al.*, (2002) *BMC Structural Biology* 2 6), (Shiroshi *et al.*, (2003) *PNAS* 100 (5) 8856-8861) e (Willcox *et al.*, (2003) 4 (9) 913-919).

W09848017 descreve as seqüências genéticas que codificam os membros da família ILT e suas seqüências de aminoácidos deduzidas. Esse pedido classificou as moléculas de LIR em três grupos. O primeiro grupo que contem polipeptídeos com uma região transmembrana que inclui um resíduo carregado positivamente e uma cauda citoplasmática curta. O segundo grupo que compreende polipeptídeos que tem uma região transmembrana não polar e uma cauda citoplasmática longa. E finalmente um terceiro grupo que contem um polipeptídeo expresso como um polipeptídeo solúvel que não tem região transmembrana ou cauda citoplasmática. Também foram descritos processos para a produção de polipeptídeos da família de LIR e anticorpos antagonistas para membros da família LIR. Esse pedido discutiu o possível uso de membros da família LIR para tratar doenças autoimunes e estados de doença associados à função imune suprimida. Com relação a isso, foi observado que o uso de formas solúveis de um membro da família LIR é vantajoso para certas aplicações. Essas vantagens incluíram a facilidade de purificar formas solúveis de ILTs/LIRs a partir de células hospedeiras recombinantes, que elas são adequadas para administração intravenosa e seu uso potencial para bloquear a interação de membros da família LIR de superfície celular com seus ligantes a fim de mediar uma função imune desejável. A possível utilidade de fragmentos solúveis de LIR que retém uma atividade biológica desejada, tal como ligação a ligantes incluindo as moléculas de MHC Classe I também foi observada.

Outro estudo (Shiroishi *et al* (2003) *PNAS* 100 (15) 8856-8861) discutiu formas solúveis (truncadas) de moléculas de ILT-2 e ILT-4. Sua habilidade de competir com CD8 solúvel pela ligação com moléculas de MHC em estudos Biacore foi observada e foi postulado que esse pode ser um dos mecanismos pelos quais ILT-2 modula a ativação de células T CD8+. Em

relação a ligação a pMHC esse estudo estabelece que "A maior afinidade de
 5 de ILT2 que contem domínios 1 e 2 foi relatada.

Colonna *et al.*, (1998) *J. Immunol.* 160 3096-3100) que se con-
 centrou sobre ILT-4, contém um resumo da distribuição tecidual e especifici-
 dade de ILTs 2-5. Dessas moléculas de ILT, ILT-2 e ILT-4 são observadas
 se ligando a moléculas de MHC Classe I. Esse estudo analisou a ligação de
 10 ILT-4 solúvel a células transfectadas com várias MHCs Classe I. Esse estu-
 do concluiu que ILT-4 liga-se a HLAs-A, B e G, mas não a HLA-Cw3 ou HLA-
 Cw5.

WO03041650 descreve um método para tratar Artrite Reumatóide
 (RA) usando moduladores da atividade de LIR-2 e/ou LIR-3/ LIR-7. Os
 15 moduladores descritos incluem tanto os agonistas como os antagonistas da
 atividade de LIR. WO2006033811 descreve o uso de polipeptídeos de ILT-3
 e fusões desses como agentes terapêuticos para a inibição da rejeição de
 enxerto.

A afinidade por vários análogos solúveis de moléculas de ILT
 20 selvagem por diferentes alvos de pMHC foi determinada. Por exemplo,
 (Chapman *et al.*, (1999) *Immunity* 11 603-613) usou métodos baseados em
 Biacore para determinar que LIR-1 (ILT-2) se ligou a uma gama de moléculas
 de HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-E e HLA-G. Os valores de K_D determinados
 para essas interações variaram de 1×10^{-4} M (para HLA-GI) a 2×10^{-5} M (pa-
 25 ra HLA-Cw*0702). Esse estudo também observou que o K_D da interação en-
 tre ILT-2 tinha uma afinidade por UL18, um análogo viral de MHC Classe I,
 na faixa de nM.

Um estudo posterior (Chapman *et al.*, (2000) *Immunity* 12 727-
 736) relatou a estrutura cristalina de um polipeptídeo de LIR-1 truncado (ILT-
 30 2) que compreende os domínios D1 e D2. LIR-1 era conhecido por se ligar
 ao análogo viral de MHC Classe I UL18 com uma afinidade maior do que o
 LIR-2 similar. Os autores usaram a estrutura cristalina do polipeptídeo LIR-1

truncado para identificar diferenças entre LIR-1 e LIR-2 que ocorreram em resíduos expostos a um solvente. Mutagênese direcionada ao sítio desses dois peptídeos foi usada para confirmar quais resíduos estavam envolvidos na ligação de UL18. Isso foi realizado pela substituição de resíduos WT de LIR-1 nas posições de aminoácidos correspondentes de LIR-2. O estudo concluiu que o resíduo 38Y e pelo menos um de 76Y, 80D ou 83R de LIR-1 estavam envolvidos na ligação de UL18. Os autores estabeleceram que "Como a afinidade de LIR-1 por proteínas MHC Classe I é muito menor do que por UL18 nós fomos incapazes de derivar afinidades precisas para a ligação de mutantes de LIR-1 e LIR-2 para MHC Classe I".

As seqüências completas de aminoácidos e DNA de uma ILT-2 humana selvagem são mostradas nas Figuras 1a (SEQ ID NO: 1) e 1b (SEQ ID NO: 2) respectivamente. A seqüência de DNA fornecida corresponde a este dado número de acesso NM_006669 da base de dados de nucleotídeo de NCBI.

Polipeptídeos semelhantes a ILT de alta afinidade

A presente invenção fornece polipeptídeos que tem a propriedade de ligação a uma dada pMHC Classe I CARACTERIZADO EM QUE o dito polipeptídeo tem um K_D para a dita pMHC Classe I de menos do que ou igual a $1 \mu\text{M}$ e/ou "off-rate" (k_{off}) para a dita molécula de pMHC Classe I de 2 S^{-1} ou mais lenta E o dito polipeptídeo tem pelo menos 45% de identidade e/ou 55% de similaridade com SEQ ID NO: 7 e o dito polipeptídeo inibe a ligação de CD8 a dada pMHC em um grau maior do que o polipeptídeo de SEQ ID NO: 3.

Polipeptídeos que satisfazem a homologia acima e os critérios de ligação de pMHC Classe I podem ser considerados como moléculas semelhantes a ILT de alta afinidade e podem ser referidos aqui como tais.

Como declarado acima, polipeptídeos de ILT de ocorrência natural podem ter dois ou quatro domínios da superfamília de imunoglobulinas em suas regiões extracelulares. Os polipeptídeos semelhantes a ILT de alta afinidade da invenção podem ser expressos em formas que tem quatro, três ou dois dos ditos domínios. As modalidades atualmente preferidas da inven-

ção tem dois domínios da superfamília de imunoglobulina que correspondem aos dois domínios N-terminais de ILT-2 humano que contem uma ou mais mutação(ões) que conferem alta afinidade para pMHC Classe I. Esses dois domínios N-terminais são os domínios um e dois que usam a notação de

5 Cosman *et al.*, (1999) *Immunol Revs* 168: 177-185. Polipeptídeos semelhantes a ILT que tem esses dois domínios N-terminais geralmente têm uma sequência que corresponde aos aminoácidos 1-195 de SEQ ID NO: 3.

Preferivelmente, o polipeptídeo é CARACTERIZADO EM QUE o dito polipeptídeo tem pelo menos 60% de identidade e/ou 75% de similaridade com SEQ ID NO: 7.

10

Preferivelmente, o polipeptídeo é CARACTERIZADO EM QUE o dito polipeptídeo tem pelo menos 75% de identidade e/ou 85% de similaridade com SEQ ID NO: 7.

Preferivelmente, o polipeptídeo é CARACTERIZADO EM QUE o dito polipeptídeo tem pelo menos 90% de identidade e/ou 95% de similaridade com SEQ ID NO: 7.

15

Identidade de sequência como usado aqui significa aminoácidos idênticos em posições correspondentes nas duas seqüências que estão sendo comparadas. Similaridade nesse contexto inclui aminoácidos que são

20 idênticos e aqueles que são similares (funcionalmente equivalentes). Por exemplo, uma única substituição de um aminoácido hidrofóbico presente em uma dada posição em um polipeptídeo por um aminoácido hidrofóbico diferente poderia resultar na formação de um polipeptídeo que seria considerado similar ao polipeptídeo original, mas não idêntico. Os parâmetros "similaridade" e "identidade" como usados aqui para caracterizar os polipeptídeos da

25 invenção são determinados pelo uso do algoritmo FASTA como implementado pelo conjunto de programas FASTA disponibilizado por William R. Pearson, Department of Biological Chemistry, Box 440, Jordan Hall, Charlottesville, Virginia. Os parâmetros usados para determinação daqueles parâmetros através do pacote de programas FASTA são como os especificados aqui no Exemplo 6.

30

Como será claro para aqueles versados na técnica, existe uma

série de fontes de comparações de proteína:proteína do FASTA que poderiam ser usadas para essa análise. (Pearson *et al.*, (1988) *PNAS* 85 2444-2448) fornece detalhes adicionais do algoritmo FASTA. As atividades inibitórias relativas do polipeptídeo de SEQ ID NO: 3 e de qualquer dado suposto polipeptídeo da invenção podem ser determinadas por qualquer ensaio convencional a partir do qual a leitura é relacionada com a afinidade de ligação de CD8 para a dada pMHC. Em geral a leitura será um valor de IC_{50} . O polipeptídeo de teste e aquele da SEQ ID NO: 3 serão avaliados em concentrações comparáveis e suas respectivas IC_{50} determinadas por referência às curvas de inibição plotadas a partir dos resultados individuais. Um ensaio adequado é aquele que está descrito no Exemplo 5.

Preferivelmente, o polipeptídeo é CARACTERIZADO EM QUE o dito polipeptídeo tem um K_D para a dada pMHC Classe I de menos do que ou igual a 100 nM e/ou tem "off rate" (k_{off}) para a dada pMHC Classe I de 0,1 S^{-1} .

Como será conhecido por aqueles versados na técnica, existem vários meios pelos quais a dita afinidade e/ou "off rate" podem ser determinadas. Por exemplo, a dita afinidade (K_D) e/ou "off rate" (k_{off}) podem ser determinadas por Ressonância de Plasmon de Superfície. O Exemplo 4 aqui contido fornece um ensaio a base de Biacore adequado para a realização de tais determinações.

Como comparação a interação de uma variante truncada solúvel da molécula ILT-2 selvagem (veja Figura 2a (SEQ ID NO: 3) para a sequência de aminoácidos desse polipeptídeo solúvel) e HLA-A*0201 carregada com o peptídeo YLSGANLNL (SEQ ID NO: 13) derivado de antígeno carcino-embriogênico (CEA), tem um K_D de 6 μM e "off rate" (k_{off}) de 2,4 S^{-1} conforme medidos pelo método baseado em Biacore do Exemplo 4. Essa molécula de ILT-2 solúvel é uma forma truncada de uma variante de isoforma 1 de ILT-2 selvagem humano que contém apenas domínios extracelulares D1 e D2. Os resíduos de aminoácidos que diferem entre essa molécula variante de ILT-2 e aquelas da isoforma 1 de ILT-2 estão destacados na Figura 1a.

Figura 2b (SEQ ID NO: 4) detalha a sequência de DNA nativa

que codifica esse polipeptídeo. A fim de melhorar a eficiência da expressão recombinante e facilitar a clonagem desse polipeptídeo várias mutações foram introduzidas no DNA que codifica esse polipeptídeo. Essas mutações não alteram a seqüência de aminoácidos do polipeptídeo expresso. A seqüência de DNA usada para a expressão recombinante é mostrada na Figura 3 (SEQ ID NO: 5).

É fornecida uma modalidade da invenção em que o polipeptídeo é uma molécula de ILT humano mutada. Por exemplo, o DNA que codifica ILT-2 humano ou fragmentos solúveis desse, pode ser usado como um molde no qual as várias mutações que causam grande afinidade e/ou "off rate" lenta para a interação entre os polipeptídeos semelhantes a ILT de alta afinidade da invenção e o complexo de pMHC alvo, podem ser introduzidas. Assim, a invenção inclui variantes de ILT-2 que são mutadas em relação a seqüência nativa.

Como será claro para aqueles versados na técnica, a(s) mutação(ões) em tal seqüência de aminoácidos de ILT-2 humano podem ser uma ou mais de substituição(ões), deleção(ões) ou inserção(ões). Essas mutações podem ser efetuadas usando qualquer método apropriado incluindo, mas não limitado àqueles baseados em reação em cadeia da polimerase (PCR), clonagem a base de enzima de restrição ou procedimentos de clonagem independentes de ligação (LIC). Esses métodos estão detalhados em muitos dos textos usuais de biologia molecular. Para mais detalhes com relação a mutagênese por reação em cadeia da polimerase (PCR) e clonagem a base de enzima de restrição veja (Sambrook & Russell, (2001) Molecular Cloning - A Laboratory Manual (3ª Ed.) CSHL Press). Informação adicional sobre procedimentos de LIC pode ser encontrada em (Rashtchian, (1995) *Curr Opin Biotechnol* 6 (1): 30-6).

Modalidades adicionais da invenção incluem polipeptídeos em que um ou mais dos aminoácidos que correspondem a 10W, 19Q, 20G, 21S, 42K, 47W, 50R, 66I, 77Y, 78Y, 79G, 80S, 81D, 82T, 83A, 84G, 85R, 87E, 99A, 101I, 102K, 141E, 146L, 147N, 159I, 168S, 172W, 174R e 188L de SEQ ID NO: 3 é/são mutado(s). Por exemplo, polipeptídeos da invenção po-

dem compreender uma ou mais das seguintes mutações: I0W→L, 19Q→M, 19Q→L, 19Q→V, 20G→D, 20G→M, 20G→Q, 20G→F, 20G→S, 20G→E, 20G→R, 21S→Q, 21S→R, 21S→A, 21S→S, 42K→R, 47W→Q, 50R→L, 66L→V, 77Y→V, 77Y→M, 77Y→I, 77Y→Q, 78Y→Q, 78Y→I, 78Y→G, 79G→Q, 79G→Y, 79G→W, 79G→R, 79G→V, 80S→R, 80S→T, 80S→G, 81D→G, 81D→Q, 81D→L, 81D→V, 82T→G, 82T→E, 83A→S, 83A→G, 83A→R, 84G→L, 84G→Q, 84G→A, 85R→W, 87E→A, 99A→I, 99A→Y, 101I→L, 101I→K, 101I→Q, 101→V, 102K→Q, 102K→A, 102K→R, 141E→G, 141E→D, 146L→D, 147N→S, 159I→E, 168S→G, 172W→R, 174R→W ou 188L→D.

Por exemplo, polipeptídeos que compreendem pelo menos dois, três, quatro, cinco, seis, sete, oito, nove ou dez das mutações acima serão geralmente adequados.

A numeração usada é a mesma daquela mostrada na Figura 2a (SEQ ID No: 3).

Uma modalidade fornece um polipeptídeo da invenção que compreende mutações que correspondem aos aminoácidos 19Q→M e 21 S→Q usando a numeração da SEQ ID NO: 3.

Outra modalidade fornece um polipeptídeo da invenção que compreende as mutações que correspondem a 19Q→M, 20G→D, 21S→Q, 99A→V e 168S→G usando a numeração da SEQ ID NO: 3.

Outra modalidade fornece um polipeptídeo da invenção que compreende as mutações que correspondem a 19Q→L, 20G→M e 21S→Q usando a numeração da SEQ ID NO: 3.

Outra modalidade fornece um polipeptídeo da invenção que compreende as mutações que correspondem a 19Q→M, 20G→Q, 21S→R, 42K→R, e 146L→S usando a numeração da SEQ ID NO: 3.

Outra modalidade fornece um polipeptídeo da invenção que compreende as mutações que correspondem a 19Q→M, 20G→D, 21S→Q, 83A→S, 84G→Q, 85R→W, 87E→A e 99A→V usando a numeração da SEQ ID NO: 3.

Uma modalidade adicional é fornecida por um polipeptídeo em

que os aminoácidos que correspondem a um ou ambos de 135C ou 145C usando a numeração da SEQ ID NO: 3 é/são mutado(s) para S.

Outra modalidade é fornecida por um polipeptídeo da invenção que compreende aminoácidos que correspondem a pelo menos os aminoácidos de 1-195 da SEQ ID No: 3. Tais polipeptídeos são modalidades de
5 dois domínios que compreendem domínios que correspondem aos dois domínios N-terminais da superfamília de imunoglobulina de ILT-2 humano.

Modalidades específicas adicionais da invenção são fornecidas por polipeptídeos que consistem em ou incluem qualquer uma das SEQ ID
10 Nos: 6 a 9, ou 21 a 61. É claro que, embora essas modalidades preferidas sejam expressas como consistindo em incluindo as SEQ ID Nos: 6 a 9, 16 ou 21 a 61, aqueles versados na técnica observarão que inevitavelmente haverá substituições, deleções e inserções de aminoácidos menos importantes que não afetam a identidade global e as propriedades da modalidade.
15 Tais variações menos importantes podem ser consideradas como variações fenotipicamente silenciosas de tais polipeptídeos. Olhadas de outra maneira, tais variações resultam em um polipeptídeo que tem a mesma função que o de origem e que executa aquela função da mesma maneira.

Uma modalidade preferida da invenção é fornecida por um polipeptídeo que consiste em ou inclui a SEQ ID No: 16.

Polipeptídeos de alta afinidade semelhantes a ILT com solubilidade aumentada

Os polipeptídeos da invenção podem ser usados como terapêuticos solúveis. Em tais casos, é desejável aumentar a solubilidade desses
25 polipeptídeos. A invenção abrange polipeptídeos que compreendem uma ou mais mutações que aumentam a solubilidade de polipeptídeos em relação a um polipeptídeo correspondente que não tem as ditas mutações. Como será entendido por aqueles versados na técnica, quando solubilidade aumentada de um polipeptídeo é procurada, é geralmente preferível mutar aminoácidos
30 que são expostos a um solvente. Esses aminoácidos expostos a um solvente podem ser identificados por referência a estrutura cristalina de ILT-2. (Veja Chapman *et al.*, (2000) *Immunity* 12 727-736). A invenção abrange poli-

peptídeos em que um ou mais aminoácido(s) exposto(s) a um solvente é(são) mutados. Por exemplo, polipeptídeos da invenção que compreendem pelo menos uma mutação em que um aminoácido hidrofóbico exposto a um solvente é substituído por um aminoácido carregado.

5 Preferivelmente, tais mutações que aumentam a solubilidade estão dentro dos 6 aminoácidos C-terminais dos polipeptídeos da invenção.

Outra modalidade é fornecida por um polipeptídeo da invenção em que os aminoácidos que correspondem a 196L e/ou 198L da SEQ ID NO: 3 estão mutados para 196D e 198D, respectivamente.

10 Uma modalidade adicional é fornecida por um polipeptídeo da invenção que compreende mutações que correspondem a 19Q→M, 20G→D, 21S→Q, 83A→S, 84G→Q, 85R→W, 87E→A, 99A→V, 196L→D e 198L→D usando a numeração da SEQ ID NO: 3.

15 Outra modalidade é fornecida por um polipeptídeo da invenção que consiste em ou inclui qualquer uma das SEQ ID Nos: 63 a 80.

Outra modalidade é fornecida por um polipeptídeo da invenção que consiste em ou inclui SEQ ID Nos: 17 ou 62.

Polipeptídeos de alta afinidade semelhantes a ILT "sinalizados"

20 Os polipeptídeos da invenção podem ser usados em formas multiméricas ou em associação com outras porções. Com relação a isso, é desejável produzir polipeptídeos da invenção que compreendem um meio de acoplar outras porções a eles.

25 Portanto, uma modalidade é fornecida por um polipeptídeo da invenção que compreendem um "sinalizador" para facilitar o acoplamento de outras porções. Esse sinalizador pode estar na terminação C dos polipeptídeos.

30 Como será conhecido por aqueles versados na técnica, existem vários sinalizadores que são adequados para esse propósito. Esses incluem, mas não são limitados a, resíduos de cisteína, peptídeos de hexaistidina, biotina e grupos quimicamente reativos. A presença de tais sinalizadores também pode facilitar a purificação dos polipeptídeos.

Polipeptídeos de alta afinidade semelhantes a ILT PEGuillados

Em uma modalidade particular, um polipeptídeo da invenção está associado a pelo menos uma cadeia(s) de polialquilenoglicol. Essa associação pode ser feita de várias maneiras conhecidas por aqueles versados na técnica. Em uma modalidade preferida a(s) cadeia(s) de polialquilenoglicol é/são ligada(s) covalentemente aos polipeptídeos. Em uma modalidade adicional, as cadeias de polietileno glicol do presente aspecto da invenção compreendem pelo menos duas unidades de repetição de polietileno.

Complexos Multivalentes de Alta Afinidade semelhantes a ILT

Um aspecto da invenção fornece um complexo multivalente que compreende pelo menos dois polipeptídeos da invenção, o dito complexo multivalente tendo um K_D para uma dada pMHC Classe I de menos do que ou igual a $1\mu\text{M}$ e/ou tem "off rate" (k_{off}) para a dita pMHC Classe I de 2 S^{-1} ou mais lento.

Em uma modalidade desse aspecto, pelo menos dois polipeptídeos da invenção são ligados através de porções ligantes para formar complexos multivalentes.

Um aspecto é fornecido aqui, em que os polipeptídeos da invenção são ligados por uma cadeia de polímero não peptídico ou uma sequência peptídica ligante. Preferivelmente, os complexos multivalentes são solúveis em água, então a porção ligante pode ser selecionada de acordo. Além disso, é preferível que a porção ligante seja capaz de se ligar a posições definidas sobre os polipeptídeos, tal que a diversidade estrutural dos complexos formados seja minimizada. Uma modalidade do presente aspecto é fornecida por um complexo multivalente da invenção em que a cadeia de polímero ou a sequência peptídica ligante se estende entre resíduos de aminoácidos de cada polipeptídeo que não estão localizados no domínio de ligação de pMHC Classe I dos polipeptídeos.

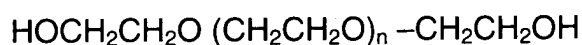
Já que os complexos da invenção podem ser para uso em medicamentos, as porções ligantes devem ser escolhidas com a devida consideração quanto a sua adequabilidade farmacêutica, por exemplo sua imunogenicidade.

Exemplos de porções ligantes que preenchem os critérios dese-

jáveis acima são conhecidas na técnica, por exemplo na técnica de ligação de fragmentos de anticorpo.

Existem duas classes de ligantes que são preferidos para uso na produção de complexos multivalentes da presente invenção. Um complexo multivalente da invenção no qual os polipeptídeos são ligados por uma cadeia de polialquilenoglicol ou um ligante peptídico derivado de um domínio de multimerização humano fornece certas modalidades da invenção.

Polímeros hidrofílicos adequados incluem, mas não são limitados a, polialquilenoglicóis. Os polímeros dessa classe mais comumente usados são a base de polietileno glicol ou PEG, cuja estrutura é mostrada abaixo.



Em que n é maior do que dois.

Entretanto, outros são a base de outros polialquilenoglicóis adequados, opcionalmente substituídos, incluindo polipropileno glicol e copolímeros de etileno glicol e propileno glicol.

Tais polímeros podem ser usados para tratar ou conjugar agentes terapêuticos, particularmente terapêuticos de polipeptídeos ou proteínas, para se obter alterações benéficas do perfil farmacocinético (PK) do terapêutico, por exemplo depuração renal reduzida, meia vida plasmática melhorada, imunogenicidade reduzida e solubilidade melhorada. Tais melhorias no perfil PK do conjugado PEG-terapêutico são tidas como resultando da molécula ou moléculas de PEG formando uma "concha" em torno do terapêutico o que impede estericamente a reação com o sistema imune e reduz a degradação proteolítica (Casey et al, (2000) *Tumor Targeting* 4 235-244). O tamanho do polímero hidrofílico usado pode, em particular, ser selecionado com base no uso terapêutico pretendido dos polipeptídeos semelhantes a ILT de alta afinidade. Há vários artigos de revisão e livros que detalham o uso de PEG e moléculas similares em formulações farmacêuticas. Por exemplo, veja (Harris (1992) *Polyethylene Glycol Chemistry - Biotechnical and Biomedical Applications*, Plenum, Nova Iorque, NY.) ou (Harris & Zalipsky (1997) *Chemistry and Biological Applications of Polyethylene Glycol* ACS

Books, Washington, D.C).

O polímero usado pode ter uma conformação linear ou ramificada. Moléculas de PEG ramificadas, ou derivados dessas, podem ser induzidas pela adição de porções ramificantes incluindo glicerol e oligômeros de glicerol, pentaeritritol, sorbitol e lisina.

Geralmente, o polímero terá um grupo ou grupos quimicamente reativos em sua estrutura, por exemplo em uma ou ambas as terminações, e/ou nas ramificações do esqueleto, para possibilitar que o polímero se ligue nos sítios alvo no polipeptídeo semelhante a ILT de alta afinidade. Esse grupo ou grupos quimicamente reativos podem estar acoplados diretamente ao polímero hidrofílico, ou pode haver um grupo/porção espaçadora entre o polímero hidrofílico e o químico reativo como mostrado abaixo:

Químico reativo-Polímero hidrofílico-Químico reativo

Químico reativo-Espaçador-Polímero hidrofílico-Espaçador-Químico reativo

O espaçador usado na formação de construtos do tipo descrito acima pode ser qualquer porção orgânica que seja uma cadeia não reativa, quimicamente estável. Tais espaçadores incluem, mas não são limitados aos seguintes:

$-(CH_2)_n-$ em que $n = 2$ a 5
 $-(CH_2)_3NHCO(CH_2)_2$

Um complexo multivalente da invenção no qual um radical espaçador de alquilenos divalente está localizado entre a cadeia de polialquilenoglicol e seu ponto de acoplamento a molécula do polipeptídeo do complexo fornece uma modalidade adicional do presente aspecto.

Um complexo multivalente da invenção no qual a cadeia de polialquilenoglicol compreende pelo menos duas unidades de repetição polietileno glicol fornece uma modalidade adicional do presente aspecto.

Há vários fornecedores comerciais de polímeros hidrofílicos ligados, diretamente ou através de um espaçador, a químicos reativos que podem ter uso na presente invenção. Esses fornecedores incluem Nektar Therapeutics (CA, USA), NOF Corporation (Japão), Sunbio (Coréia do Sul) e Enzon Pharmaceuticals (NJ, USA).

Polímeros hidrofílicos disponíveis comercialmente ligados, diretamente ou através de um espaçador, aos químicos reativos que podem ter uso na presente invenção incluem, mas não são limitados aos seguintes:

Descrição do Ligante de PEG	Fonte de PEG	Número de Catálogo
Ligação de monômero semelhante a ILT		
5K linear (Maleimida)	Nektar	2D2MOHO 1
20K linear (Maleimida)	Nektar	2D2MOPO1
20K linear (Maleimida)	NOF Corporation	SUNBRIGHT ME-200MA
20K ramificado (Maleimida)	NOF Corporation	SUNBRIGHT GL2-200MA
30K linear (Maleimida)	NOF Corporation	SUNBRIGHT ME-300MA
40K PEG ramificado (Maleimida)	Nektar	2D3XOTO1
5K-NP linear (para acoplamento de Lys)	NOF Corporation	SUNBRIGHT MENP-50H
10K-NP linear (para acoplamento de Lys)	NOF Corporation	SUNBRIGHT MENP-10T
20K-NP linear (para acoplamento de Lys)	NOF Corporation	SUNBRIGHT MENP-20T
Ligantes de dímero semelhantes a ILT		
3,4K linear (Maleimida)	Nektar	2D2DOFO2
5K bifurcado (Maleimida)	Nektar	2D2DOHOF
10K linear (com ligantes ortopiridil ds-no lugar de Maleimida)	Sunbio	
20K bifurcado (Maleimida)	Nektar	2D2DOPOF
20K linear (Maleimida)	NOF Corporation	
40K bifurcado (Maleimida)	Nektar	2D3XOTOF
Multímeros semelhantes a ILT de ordem maior		
15K, 3 braços, Mal_3 (para trímero)	Nektar	OJOONO3
20K, 4 braços, Mal_4 (para tetrâmero)	Nektar	OJOPO4
40K, 8 braços, Mal_8 (para octâmero)	Nektar	OJOOTO8

Uma grande variedade de químicos de acoplamento pode ser usada para acoplar moléculas de polímeros aos terapêuticos de proteína e peptídeo. A escolha do químico de acoplamento mais apropriado é amplamente dependente do sítio de acoplamento desejado. Por exemplo, os seguintes químicos de acoplamento tem sido usados ligados a uma ou mais das terminações de moléculas de PEG (Fonte: Nektar Molecular Engineering Catalogue 2003):

- N-maleimida
- Vinil sulfona
- 10 Carbonato de benzotriazol
- Propionato de succinimidila
- Butanoato de succinimidila
- Tio-éster
- Acetaldeídos
- 15 Acrilatos
- Biotina
- Aminas Primárias

Como estabelecido acima, polímeros que não são a base de PEG também fornecem ligantes adequados para multimerizar os polipeptídeos da presente invenção. Por exemplo, porções que contêm terminações de maleimida ligadas por cadeias alifáticas tais como BMH e BMOE (Pierce, produtos N^{os} 22330 e 22323) podem ser usadas.

Ligantes peptídicos são outra classe de ligantes de complexos multivalentes. Esses ligantes são compreendidos de cadeias de aminoácidos e funcionam para produzir ligantes simples ou domínios de multimerização sobre os quais os polipeptídeos da presente invenção podem ser acoplados. O sistema biotina/estreptavidina foi usado previamente para produzir tetrameros de TCRs e moléculas de pMHC (veja WO 99/60119) para estudos de ligação *in vitro*. Entretanto, a estreptavidina é um polipeptídeo derivado de micróbios e como tal não é idealmente adequado para uso em um terapêutico.

Complexos multivalentes da invenção nos quais os polipeptídeos

são ligados por um ligante peptídico derivado de um domínio de multimerização humano fornecem uma modalidade do presente aspecto. Existem várias proteínas humanas que contêm um domínio de multimerização que pode ser usado na produção de complexos multivalentes de polipeptídeos semelhantes a ILT de alta afinidade. Por exemplo, o domínio de tetramerização de p53 foi utilizado para produzir tetrâmeros de fragmentos de anticorpo scFv que exibiram persistência sérica aumentada e "off rate" significativamente reduzida em comparação com o fragmento scFv monomérico (Willuda *et al.* (2001) *J. Biol. Chem.* 276 (17) 14385-14392). A hemoglobina também tem um domínio de tetramerização que poderia ser potencialmente usado para esse tipo de aplicação.

Em uma modalidade específica, os complexos multivalentes da invenção podem ser dímeros ou tetrâmeros. Os exemplos 9 e 10 aqui contidos fornecem metodologias detalhadas para a produção de complexos semelhantes a ILT de alta afinidade ligados a PEG diméricos ou tetraméricos da invenção, respectivamente. O exemplo 11 aqui contido fornece dados sobre a habilidade de tais complexos multivalentes inibirem a ativação de célula T citotóxica.

Um complexo multivalente da invenção que compreende pelo menos dois polipeptídeos da invenção, em que pelo menos um dos ditos polipeptídeos está associado a um agente terapêutico fornece uma modalidade adicional desse aspecto.

Um aspecto adicional é fornecido por um polipeptídeo da invenção ou complexo multivalente desse em que o dito polipeptídeo ou complexo multivalente é solúvel.

Um aspecto adicional é fornecido por uma célula isolada ou uma partícula que apresenta pelo menos um polipeptídeo da invenção. Como será óbvio para aqueles versados na técnica, tais polipeptídeos requerem um meio de acoplamento à superfície das ditas células ou partículas. Há vários meios de facilitar tal acoplamento. Por exemplo, particularmente no caso de células, esse meio de acoplamento pode ser convenientemente fornecido pela produção de versões de "extensão completa" dos polipeptídeos esco-

lhidos que incorporam pelo menos o domínio transmembrana de ILT-2 humano. O domínio transmembrana de ILT-2 humano está sublinhado na Figura 1a (SEQ ID NO: 1). Entretanto, esse não é o único meio de acoplar tais polipeptídeos à superfície das células. Por exemplo, proteínas de fusão que compreendem um polipeptídeo da invenção ou fragmentos desse ligados aos domínios transmembrana de outros polipeptídeos podem ser produzidas. No caso de acoplar os polipeptídeos da invenção a partículas, isso pode ser convenientemente obtido colocando os polipeptídeos da invenção que compreendem um sinalizador C-terminal, tal como biotina, em contato com partículas revestidas com uma porção de ligação específica para o dito sinalizador, tal como estreptavidina.

Uso Diagnóstico e Terapêutico

Em um aspecto, os polipeptídeos da invenção ou complexos multivalentes desses podem ser rotulados com um composto de formação de imagem, por exemplo um rótulo que é adequado para fins diagnósticos. Tais polipeptídeos rotulados são úteis em um método para detectar moléculas de pMHC alvo, cujo método compreende colocar a pMHC em contato com um polipeptídeo da invenção ou complexo multivalente desse que se ligue a pMHC; e detectar a dita ligação. Em complexos tetraméricos formados, por exemplo, usando moléculas de polipeptídeo biotiniladas, estreptavidina fluorescente pode ser usada para fornecer um rótulo detectável. Tal tetrâmero fluorescentemente rotulado é adequado para uso em análise de FACS, por exemplo, para detectar células que apresentam antígeno. Outra maneira na qual os peptídeos solúveis da presente invenção podem ser detectados é pelo uso de anticorpos, em particular anticorpos monoclonais.

Anticorpos ILT-específicos têm sido descritos na literatura. Por exemplo, IGH/75 é uma IgG ILT-2-específica que foi produzida no *Basel Institute for Immunology*, Basel, Suíça (Riteau *et al.*, (2001) *Int. Immunol.* 13 (2) 193).

Em um aspecto adicional, um polipeptídeo da presente invenção ou um complexo multivalente desse pode alternativamente ou adicionalmente estar associado a (por exemplo, ligado covalentemente ou de outra ma-

neira) um agente terapêutico.

Em uma modalidade específica da invenção, o agente terapêutico é ligado covalentemente a terminação C do polipeptídeo.

Há vários agentes terapêuticos que poderiam estar associados aos polipeptídeos da invenção. Por exemplo, o agente terapêutico pode ser
5 uma molécula imune efetora. Uma modalidade desse aspecto é fornecida em que a molécula imune efetora é uma citocina. Como é conhecido por aqueles versados na técnica há várias citocinas que geralmente agem para "suprimir" respostas imunes. Polipeptídeos da invenção associados a tais
10 citocinas imunossupressoras formam modalidades preferidas da invenção. Polipeptídeos da invenção associados a IL-4, IL-10 ou IL-13 ou uma variante ou fragmento fenotipicamente silencioso dessas citocinas fornecem modalidades específicas da presente invenção.

Um complexo multivalente da invenção pode ter capacidade de
15 ligação aumentada para uma dada pMHC em comparação com um ILT não-multimérico selvagem ou o polipeptídeo de alta afinidade semelhante a ILT da invenção. Assim, os complexos multivalentes de acordo com a invenção são particularmente úteis para rastrear ou atingir células que apresentam antígenos particulares *in vitro* ou *in vivo* e também são úteis como intermedi-
20 ários para a produção de mais complexos multivalentes que tem tais usos.

Composições farmacêuticas que compreendem um polipeptídeo da invenção ou um complexo multivalente desse, ou uma pluralidade de células que expressam tais polipeptídeos, junto com um veículo farmaceuticamente aceitável, portanto, fornecem um aspecto adicional da invenção. Uma
25 modalidade relacionada é fornecida pelo uso terapêutico de um polipeptídeo da invenção ou um complexo multivalente desse, ou uma pluralidade de células que expressam tais polipeptídeos.

Composições farmacêuticas que compreendem um polipeptídeo da invenção ou um complexo multivalente desse associado a um agente terapêutico junto com um veículo farmaceuticamente aceitável fornecem por-
30 tanto um aspecto adicional da invenção. Uma modalidade relacionada é fornecida pelo uso terapêutico de um polipeptídeo da invenção ou um comple-

xo multivalente desse associado a um agente terapêutico.

Outro aspecto da invenção é fornecido pelo uso de um polipeptídeo da invenção ou um complexo multivalente desse, ou um pluralidade de células ou partículas que expressam tais polipeptídeos, na produção de um medicamento para tratamento de doença auto-imune, o dito medicamento sendo adaptado para administração parenteral. Vias de administração parenteral adequadas incluem as vias subcutânea, intradérmica ou intramuscular.

Um aspecto adicional da invenção é fornecido pelo uso de um polipeptídeo da invenção ou complexo multivalente desse associado a um agente terapêutico, na produção de um medicamento para tratamento de doença auto-imune, o dito medicamento sendo adaptado para administração parenteral. Vias de administração parenteral adequadas incluem as vias subcutânea, intradérmica ou intramuscular.

A invenção também fornece um método para liberar um agente terapêutico a uma célula-alvo, cujo método compreende colocar as potenciais células alvo em contato com um polipeptídeo ou complexo multivalente de acordo com a invenção sob condições que permitem o acoplamento do polipeptídeo ou complexo multivalente à célula-alvo, o dito polipeptídeo ou complexo multivalente capaz de se ligar a uma dada molécula de pMHC Classe I e que tem o agente terapêutico associado a ele.

Um agente terapêutico poderia ser liberado tal que ele exercesse seu efeito localmente, não apenas sobre a célula em que ele se ligou diretamente. Assim, uma estratégia particular contempla moléculas "imunossupressoras" ligadas a um polipeptídeo ou complexo multivalente de acordo com a invenção específicas para antígenos tumorais.

Polipeptídeos solúveis ou complexos multivalentes da invenção podem ser ligados a uma enzima capaz de converter um pró-fármaco em um fármaco. Isso permite que o pró-fármaco seja convertido no fármaco apenas no sítio onde ele é necessário (isto é, direcionado pelo dito polipeptídeo ou complexo multivalente).

É esperado que os polipeptídeos e complexos multivalentes aqui

descritos possam ser usados em métodos para o diagnóstico e tratamento de doença auto-imune.

A invenção também fornece um método de tratamento de doença auto-imune que compreende administrar a um indivíduo que sofre de tal
5 doença auto-imune uma quantidade eficaz de um polipeptídeo da invenção ou complexo multivalente desse, ou uma pluralidade de células ou partículas que apresentam pelo menos um tal polipeptídeo. Em uma modalidade relacionada, a invenção fornece o uso de um polipeptídeo da invenção ou complexo multivalente desse, ou uma pluralidade de células ou partículas que
10 apresentam pelo menos um tal polipeptídeo, na preparação de uma composição para tratamento de doença auto-imune.

A invenção também fornece um método de tratamento de doença auto-imune que compreende administrar a um indivíduo que sofre de tal
doença auto-imune uma quantidade eficaz de um polipeptídeo da invenção
15 ou complexo multivalente desse associado a um agente terapêutico. Em uma modalidade relacionada, a invenção fornece o uso de um polipeptídeo da invenção ou complexo multivalente desse, associado a um agente terapêutico, na preparação de uma composição para tratamento de doença auto-imune.

20 Polipeptídeos terapêuticos ou de formação de imagem de acordo com a invenção, serão geralmente fornecidos como parte de uma composição farmacêutica estéril que normalmente incluirá um veículo farmacêuticamente aceitável. Essa composição farmacêutica pode estar em qualquer forma adequada (dependendo do método desejado de administrá-la ao paciente). Ela pode ser fornecida em forma de dosagem unitária, geralmente
25 será fornecida em um recipiente selado e pode ser fornecida como parte de um kit. Tal kit incluiria normalmente (embora não necessariamente) instruções de uso. Ele pode incluir uma pluralidade das ditas formas de dosagem unitária.

30 A composição farmacêutica pode ser adaptada para administração por qualquer via apropriada, por exemplo, parenteral, transdérmica ou via inalatória, preferivelmente uma via parenteral (incluindo subcutânea, in-

tramuscular ou o mais preferivelmente intravenosa). Tais composições podem ser preparadas por qualquer método conhecido na técnica de farmácia, por exemplo pela mistura do ingrediente ativo com o(s) veículo(es) ou excipiente(s) sob condições estéreis.

- 5 As dosagens das substâncias da presente invenção podem variar dentro de limites amplos, dependendo da doença ou distúrbio a ser tratado, da idade e da condição do indivíduo a ser tratado, etc. e em última análise o médico determinará as dosagens apropriadas a serem usadas.

Aspectos Adicionais

- 10 Um polipeptídeo ou complexo multivalente da presente invenção pode ser fornecido em forma substancialmente pura, ou como preparação purificada ou isolada. Por exemplo, ela pode ser fornecida em uma forma que é substancialmente livre de outras proteínas.

- 15 Modalidades adicionais são fornecidas por um ácido nucléico isolado que codifica os polipeptídeos da invenção, vetores que incorporam tal ácido nucléico e células que contêm tais vetores. O ácido nucléico que codifica o polipeptídeo da invenção pode ser um que tenha sido adaptado para alto nível de expressão em uma célula hospedeira. Há várias empresas que oferecem tal otimização de ácido nucléico como um serviço, por exemplo, GeneArt, Alemanha.

- 20 A invenção também fornece um método de identificar uma variante de alta afinidade de uma dada molécula de ILT que tem a propriedade de se ligar a uma dada pMHC Classe I, CARACTERIZADO EM QUE o tipo polipeptídeo tem um K_D para a dita dada pMHC Classe I de menos do que ou igual a 1 μM e/ou "off rate" (k_{off}) para a dita dada molécula de pMHC Classe I de 2 S^{-1} ou mais lento E o dito polipeptídeo tem pelo menos 45% de identidade e/ou 55% de similaridade com SEQ ID NO: 7 E o dito polipeptídeo inibe a ligação de CD8 a dada pMHC em um grau maior do que o polipeptídeo SEQ ID NO: 3, o dito método compreendendo:

- 30 (a) A produção de uma biblioteca de moléculas ILT que compreendem uma ou mais mutações na sequência de aminoácidos em comparação às moléculas de ILT selvagens correspondentes; e

(b) Colocar as ditas moléculas de ILT mutadas em contato com a pMHC Classe I alvo sob condições adequadas para permitir a ligação da molécula de ILT mutada a pMHC Classe I alvo; e

(c) Medir o K_D e/ou k_{off} e da interação; e

5 (d) Selecionar o(s) polipeptídeo(s) com as características de ligação desejadas.

A apresentação em fago de polipeptídeos de ILT e/ou polipeptídeos semelhantes a ILT fornece um método de gerar uma biblioteca de polipeptídeos adequada para uso no método acima.

10 Um aspecto final é fornecido pelo método de produzir um polipeptídeo da invenção que compreende:

(i) transformar uma célula hospedeira com um vetor que incorpora o ácido nucléico que codifica o polipeptídeo da invenção; e

15 (ii) cultivar as células transformadas sob condições adequadas para expressão de um polipeptídeo da invenção; e

(iii) recuperar o polipeptídeo expresso.

Modalidades específicas do presente aspecto são fornecidas em que as células hospedeiras são células de *E. coli* ou células de levedura, por exemplo células de *Pichia pastoris*. Os exemplos 1 a 3 e 7 a 8 aqui contidos
20 fornecem metodologias detalhadas para a produção de polipeptídeos da invenção em células de *E. coli* e *Pichia pastoris* respectivamente.

Características preferidas de cada aspecto da invenção são para cada um dos outros aspectos *mutatis mutandis*. Os documentos da técnica anterior mencionados aqui estão incorporados em sua extensão mais completa permitida por lei.
25

Exemplos

A invenção ainda é descrita nos seguintes exemplos, que não limitam o escopo da invenção de nenhuma maneira.

Referência é feita a seguir às figuras anexas nas quais:

30 Figura 1a fornece a sequência de aminoácidos completa de um ILT-2 humano selvagem (SEQ ID No: 1). Os aminoácidos destacados mostram resíduos desse polipeptídeo que diferem dos resíduos correspondentes

da isoforma 1 de ILT-2 humano selvagem. Os aminoácidos do domínio transmembrana estão sublinhados.

Figura 1b fornece a sequência de DNA completa de um ILT-2 humano tipo selvagem (SEQ ID No:2) que codifica a sequência de aminoácidos da Figura 1a. A sequência de DNA corresponde àquele acesso de Nucleotídeo do NCIMB NO: NM-006669.

Figuras 2a e 2b, respectivamente, fornecem a sequência de aminoácido e de DNA de uma forma solúvel de dois domínios das sequências de ILT-2 selvagens fornecidas nas figuras 1a e 1b. Essas sequências truncadas contêm/codificam apenas domínios extracelulares D1 e D2 de ILT-2. (SEQ ID No: 3 e SEQ ID No: 4, respectivamente).

Figura 3 fornece a sequência de DNA completa inserida no vetor a base de pGMT7 a fim de expressar a forma solúvel de dois domínios do polipeptídeo de ILT-2 selvagem da Figura 2a. As sequências de reconhecimento de enzima de restrição HindIII e NdeI estão sublinhadas.

Figuras 4a a 4d (SEQ ID Nos 6-9) fornecem as sequências de aminoácido de polipeptídeos semelhantes a ILT de alta afinidade solúveis de dois domínios. Os resíduos que foram mutados em relação àqueles da Figura 2a estão destacados.

Figuras 5a a 5d (SEQ ID Nos 10-13) fornecem as sequências de DNA inseridas em um vetor derivado de pGMT7 a fim de expressar os polipeptídeos semelhantes a ILT de alta afinidade solúveis de dois domínios mostrados nas Figuras 4a a 4d respectivamente. Os códons que foram mutados em relação àqueles da Figura 3 estão destacados e as sequências de reconhecimento de enzima de restrição HindIII e NdeI estão sublinhadas.

Figura 6 fornece a sequência de DNA de um vetor derivado de pGMT7 no qual as sequências das Figuras 5a a 5d podem ser inseridas.

Figura 7 fornece o mapa do plasmídeo de um vetor derivado de pGMT7 no qual as sequências de DNA das Figuras 5a a 5d podem ser inseridas.

Figura 8a fornece a sequência de aminoácidos de um polipeptídeo semelhante a ILT de alta afinidade de dois domínios (c20) solúvel.

Figura 8b fornece a seqüência de aminoácidos de um polipeptídeo semelhante a ILT de alta afinidade de dois domínios (c50) solúvel.

Figura 8c fornece a seqüência de aminoácidos de um polipeptídeo semelhante a ILT de alta afinidade de dois domínios (c50) solúvel que
5 tem um resíduo de cisteína adicionado na terminação C desse.

Figura 9a fornece a seqüência de DNA que codifica um polipeptídeo semelhante a ILT de alta afinidade de dois domínios (c20) solúvel que tem uma cisteína que codifica um códon adicionado à extremidade 5' desse. Essa seqüência de DNA foi otimizada para expressão em *Pichia pastoris* e
10 incorpora os sítios de reconhecimento de enzimas de restrição *SnaBI* e *NotI* que estão sublinhados.

Figura 9b fornece a seqüência de aminoácidos de um polipeptídeo semelhante a ILT de alta afinidade de dois domínios (c20) solúvel que tem um resíduo de cisteína adicionado à terminação C desse codificado pela
15 seqüência de DNA da Figura 9a.

Figura 10 fornece a curva de resposta Biacore gerada para a interação de um polipeptídeo semelhante a ILT de alta afinidade de dois domínios (c20) solúvel expresso em *Pichia pastoris* e MHC Classe I.

Figura 11 fornece a curva de resposta Biacore gerada para a
20 interação de um dímero de polipeptídeo semelhante a ILT de alta afinidade de dois domínios (c20) solúvel e Tax-HLA-A*0201.

Figura 12 fornece a curva de resposta Biacore gerada para a interação de um tetrâmero de polipeptídeo semelhante a ILT de alta afinidade de dois domínios (c20) solúvel e Tax-HLA-A*0201.

25 Figuras 13a - 13bh fornecem as seqüências de aminoácido de polipeptídeos semelhantes a ILT de alta afinidade de dois domínios adicionais.

Figura 14 fornece dados de ELISPOT mostrando a inibição da ativação de CLT por monômeros e dímeros semelhantes a ILT de alta afinidade (c50).
30

Figura 15 fornece dados de ELISPOT mostrando a inibição da ativação de CLT por monômeros, dímeros e tetrâmeros semelhantes a ILT

de alta afinidade (c50).

Exemplo 1 – Produção de uma molécula de ILT-2 selvagem solúvel que compreende os domínios 1 e 2.

Figura 3 (SEQ ID NO: 5) fornece a seqüência de DNA usada para expressar uma ILT-2 solúvel tipo selvagem que contém apenas os domínios D1 e D2. Essa seqüência de DNA foi sintetizada *de novo* por uma empresa de pesquisa contratada, GeneArt (Alemanha). Os sítios de reconhecimento de enzimas de restrição (*NdeI* e *HindIII*) foram introduzidos nessa seqüência de DNA a fim de facilitar a ligação da seqüência de DNA em um plasmídeo de expressão a base de pGMT7, que contém o promotor T7 para alto nível de expressão na cepa BL21-DE3(pLysS) de *E. coli* (Pan *et al.*, *Biotechniques* (2000) 29 (6): 1234-8).

Essa seqüência de DNA está ligada em um vetor pGMT7 cortado com *NdeI* e *HindIII*. (Veja a Figura 6 para a seqüência de DNA desse vetor e a Figura 7 para o mapa de plasmídeo desse vetor).

Sítios de reconhecimento de enzima de restrição conforme introduzidos no DNA que codifica o polipeptídeo de ILT-2 selvagem

NdeI- CATATG

HindIII – AAGCTT

20 Ligação

O DNA de ILT-2 cortado e o vetor cortado são ligados usando um kit de ligação rápida de DNA (Roche) seguindo as instruções do fabricante.

Os plasmídeos ligados são transformados em células competentes da cepa XL1-blue de *E. coli* e plaqueadas sobre placas de LB/ágar contendo 100 mg/ml de ampicilina. Após a incubação durante a noite a 37°C, colônias isoladas são selecionadas e cultivadas em 10 ml de LB contendo 100 mg/ml de ampicilina durante a noite a 37°C com agitação. Os plasmídeos clonados são purificados usando um kit Miniprep (Qiagen) e o inserto é sequenciado usando um seqüenciador automático de DNA (Lark Technologies).

Figura 2a mostra a seqüência de aminoácidos do polipeptídeo

de ILT-2 selvagem solúvel produzido a partir da seqüência de DNA da Figura 2b.

Exemplo 2 - *Produção de variantes de alta afinidade do polipeptídeo de ILT-2 selvagem solúvel*

5 O polipeptídeo de ILT-2 tipo selvagem solúvel produzido conforme descrito no Exemplo 1 pode ser usado como um molde a partir do qual são produzidos os polipeptídeos da invenção que tem uma afinidade aumentada e/ou "off rate" mais lenta para moléculas de pMHC Classe I.

10 Como é conhecido por aqueles versados na técnica, as alterações de códon necessárias requeridas para produzir essas cadeias mutadas podem ser introduzidas no DNA que codifica o polipeptídeo de ILT-2 selvagem solúvel por mutagênese direcionada ao sítio (*QuickChange™ Site Directed Mutagenesis Kit* de Stratagene).

15 Resumidamente, isso é obtido pelo uso de iniciadores que incorporam a(s) alteração(ões) de códon desejada(s) e os plasmídeos que contêm o DNA que codifica o polipeptídeo solúvel de ILT-2 selvagem como um molde para a mutagênese.

20 A mutagênese foi realizada usando as seguintes condições: 50 ng de molde de plasmídeo, 1 µl de dNTP 10 mM, 5 µl de tampão Pfu DNA polimerase 10 x como suprido pelo fabricante, 25 pmols de iniciador de sentido direto, 25 pmol de iniciador de sentido reverso, 1 µl de pfu DNA polimerase em um volume total de 50 µl. Após uma etapa inicial de desnaturação de 2 min a 95°C, a reação foi submetida a 25 ciclos de desnaturação (95°C, 10 seg.), anelamento (55°C, 10 seg) e alongamento (72°C, 8 min). O produto
25 resultante foi digerido com a enzima de restrição DpnI para remover o plasmídeo de molde e transformado na cepa XL1-blue de *E. coli*. A mutagênese foi verificada por seqüenciamento.

30 As seqüências amino dos polipeptídeos semelhantes a ILT mutados que demonstraram alta afinidade para o complexo YLSGANLNL (SEQ ID NO: 15) -HLA-A*0201 estão listadas nas Figuras 4a a 4d (SEQ ID Nos: 6 a 9) e Figuras 13a a 13bh (SEQ ID NOS: 21 a 80). Como é conhecido por aqueles versados na técnica na técnica, as alterações de códon necessárias

requeridas para produzir esses polipeptídeos mutados podem ser introduzidas no DNA que codifica o polipeptídeo de ILT-2 selvagem solúvel por mutagênese direcionada ao sítio (*QuickChange® Site Directed Mutagenesis Kit* de Stratagene).

5 Exemplo 3 – *Expressão, redobramento e purificação de polipeptídeos solúveis*

O plasmídeo de expressão que contém os polipeptídeos de ILT conforme preparados nos Exemplos 1 ou 2 são transformados separadamente na cepa de *E. coli* Rosetta DE3pLysS e colônias isoladas resistentes a ampicilina/cloranfenicol são cultivadas a 37°C em meio TYP (100 µg/ml de ampicilina, 15µg/ml de cloranfenicol) por 7 horas antes da indução de expressão de proteína com 0,5 mM de IPTG. As células são coletadas 15 horas após a indução por centrifugação por 30 minutos a 4000 rpm em um Beckman J-6B. Os precipitados de célula são ressuspensos em um tampão, as células ressuspensas são sonicadas em pulsos de 1 min por um total de cerca de 10 minutos em um sonicador Milsonix XL2020 usando uma sonda padronizada de 12 mm de diâmetro. Os precipitados de corpo de inclusão são recuperados por centrifugação por 10 minutos a 4000 rpm em uma centrífuga Beckman J2-21. Três lavagens com detergente são então realizadas para remover os restos celulares e componentes de membrana. A cada vez o precipitado de corpo de inclusão é homogeneizado um tampão Triton (Tris-HCl 50 mM, 0,5% de Triton-X100, NaCl 200 mM, NaEDTA 10 mM, 0,1 % (p/v) de NaAzida, DTT 2 mM, pH 8.0) antes de ser precipitado por centrifugação por 15 minutos a 4000 rpm em uma Beckman J2-21. Detergente e sal são então removidos por uma lavagem similar no seguinte tampão: Tris-HCl 50 mM, NaEDTA 1 mM, 0,1% (p/v) de NaAzida, DTT 2 mM, pH 8.0. Finalmente, os corpos de inclusão são divididos em alíquotas de 60 mg e congelados a -70°C. O rendimento de proteína no corpo de inclusão é quantificado por solubilização guanidina-HCl 6M e medido usando um espectrômetro UV.

30 Aproximadamente 60 mg de corpos de inclusão solubilizados com polipeptídeo de ILT em são descongelados dos estoques congelados e diluídos em 15 ml de uma solução de guanidina (cloridrato de guanidina 6M,

Acetato de Sódio 10 mM, EDTA 10 mM), para assegurar a desnaturação completa da cadeia. A solução de guanidina contendo o polipeptídeo de ILT completamente reduzido e desnaturado é então injetada em 1 litro do seguinte tampão de redobramento: Tris 100 mM, pH 8.5, L-Arginina 400 mM, EDTA 2 mM, Cisteamina reduzida 5 mM, 2-mercaptoetilamina 0,5 mM, uréia

5 5M. O par redox (2-mercaptoetilamina e cisteamina) (em concentrações finais de 6,6 M e 3,7 mM, respectivamente) é adicionado aproximadamente 5 minutos antes da adição do polipeptídeo de ILT desnaturado. A solução é deixada por 30 minutos. O polipeptídeo de ILT redobrado foi dialisado em

10 uma membrana Spectrapor 1 (Spectrum; Produto No. 132670) contra 10 L de Tris 10 mM pH 8.1 a $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ por 18-20 horas. Após esse tempo, o tampão de diálise é trocado por Tris 10 mM novo, pH 8.1(10 L) e a diálise é continuada a $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ por outras 20-22 horas.

O polipeptídeo de ILT solúvel é separado dos produtos de degradação e impurezas pela aplicação do redobrado dialisado em uma coluna de troca de ânion POROS 50HQ e eluição da proteína ligada com um gradiente de 0-500 mM de NaCl sobre 50 volumes de coluna usando um purificador Akta (Pharmacia). As frações de pico são armazenadas a 4°C e analisadas por SDS-PAGE corado com Coomassie antes de serem agrupadas e

15 concentradas. Finalmente, o polipeptídeo de ILT solúvel é purificado e caracterizado usando uma coluna de filtração em gel Superdex 200HR pré-equilibrada em tampão HBS-EP (HEPES 10 mM pH 7.4, NaCl 150 mM, EDTA 3,5 mM, 0,05% de nonidet p40). O pico que elui em um peso molecular relativo de aproximadamente 27 kDa é agrupado e concentrado antes da

20 caracterização por análise de ressonância de plasmônio de superfície Biacore.

Exemplo 4 – Caracterização por ressonância de plasmônio de superfície Biacore da ligação de moléculas de ILT solúveis a moléculas de pMHC

Um biossensor de ressonância de plasmônio de superfície (Biacore 3000®) foi usado para analisar a ligação de moléculas de ILT solúveis a pMHC Classe I. Isso foi facilitado pela produção de pMHC biotinilada solúvel (descrito abaixo) que foi imobilizada a uma superfície de ligação revestida

30

com estreptavidina de uma maneira semi-orientada, possibilitando o teste eficiente da ligação de uma molécula solúvel de ILT com até quatro pMHC diferentes (imobilizadas em células de fluxo separadas) simultaneamente. Injeção de pMHC permite o nível preciso de moléculas de Classe I imobiliza-
 5 das serem manipuladas facilmente.

HLA-A*0201 classe I biotinilado solúvel carregado com um peptídeo YLSGANLNL (SEQ ID NO: 15) derivado de CEA foi redobrado *in vitro* a partir de corpos de inclusão expressos em bactéria contendo as proteínas de subunidade constituintes e peptídeo sintético, seguida pela purificação e bio-
 10 tinilação enzimática *in vitro* (O'Callaghan *et al.* (1999) *Anal. Biochem.* 266: 9-15). A cadeia pesada de MHC foi expressa com um sinalizador de biotinilação C-terminal que substitui os domínios transmembrana e citoplasmático da proteína em um construto apropriado. Os níveis de expressão de corpos de inclusão de ~75 mg/litro de cultura bacteriana foram obtidos. A cadeia leve
 15 de MHC ou β 2-microglobulina também foi expressa como corpos de inclusão em *E.coli* a partir de um construto apropriado, em um nível de ~500 mg/litro de cultura bacteriana.

As células de *E. coli* foram lisadas e os corpos de inclusão são purificados para aproximadamente 80% de pureza. A proteína dos corpos de
 20 inclusão foi desnaturada em guanidina-HCl 6 M, Tris 50 mM pH 8.1, NaCl 100 mM, DTT 10 mM, EDTA 10 mM, e foi redobrada em uma concentração de 30 mg/litro de cadeia pesada, 30 mg/litro de β 2m em L-Arginina-HCl 0,4 M, Tris 100 mM pH 8.1, cisteamina 3,7 mM, β -cisteamina 6,6 mM, 4 mg/ml do peptídeo necessário a ser carregado pela MHC, pela adição de um pulso
 25 único de proteína desnaturada em tampão de dobramento a $< 5^{\circ}\text{C}$. O redobrimento foi deixado se completar a 4°C por pelo menos 1 hora.

O tampão foi trocado por diálise em 10 volumes de Tris 10 mM pH 8.1. Duas trocas de tampão foram necessárias para reduzir suficientemente a força iônica da solução. A solução de proteína foi então filtrada a-
 30 través de um filtro de acetato de celulose de $1,5\ \mu\text{m}$ e aplicada em uma coluna de troca de ânion POROS 50HQ (volume do leito de 8 ml). A proteína foi eluída com um gradiente linear de 0-500 mM de NaCl. O complexo HLA-

A2-peptídeo solúvel biotinilado foi eluído em aproximadamente 250 mM de NaCl, e as frações de pico foram coletadas, um coquetel de inibidores de protease foi adicionado (Calbiochem) e as frações foram resfriadas sobre gelo.

5 pMHC de biotinilação sinalizadas foram trocadas de tampão em Tris 10 mM pH 8.1, NaCl 5 mM, usando uma coluna de dessalinização rápida Pharmacia equilibrada no mesmo tampão. Imediatamente após eluição, as frações contendo proteínas foram resfriadas em gelo e um coquetel de inibidor de protease (Calbiochem) foi adicionado. Reagentes de biotinilação
10 foram então adicionados: biotina 1 mM, ATP 5 mM (tamponado para pH 8), $MgCl_2$ 7,5 mM, e 5 $\mu g/ml$ de enzima BirA (purificado de acordo com O'Callaghan et al. (1999) *Anal. Biochem.* 266: 9-10 15). A mistura foi então deixada incubar em temperatura ambiente durante a noite.

pMHC biotiniladas foram purificadas usando cromatografia de
15 filtração em gel. Uma coluna Superdex 75 HR 10/30 de Pharmacia foi pré-equilibrada com PBS filtrado e 1 ml da mistura de reação de biotinilação foi aplicada e a coluna foi desenvolvida PBS a 0,5 ml/min. pMHC biotinilada eluiu como um único pico a aproximadamente 15 ml. As frações contendo proteína foram agrupadas, resfriadas em gelo, e coquetel de inibidor de pro-
20 tease foi adicionado. A concentração de proteína foi determinada usando um ensaio de ligação de Coomassie (PerBio) e alíquotas de pMHC de biotinilação foram armazenadas a $-20^\circ C$. Estreptavidina foi imobilizada por métodos de acoplamento de amina usuais.

Tais pMHC imobilizadas são capazes de ligar-se a receptores de
25 células T solúveis e ao co-receptor CD8 $\alpha\alpha$, assim como a moléculas de ILT, e essas interações podem ser usadas para garantir que as pMHC imobilizadas sejam redobradas corretamente.

As interações entre uma molécula de ILT solúvel e YLSGANLNL (SEQ ID NO: 15) derivado de CEA-HLA-A*0201, cuja produção é descrita
30 acima, foram analisadas em um biossensor de ressonância de plasmônio de superfície (SPR) Biacore 3000TM. SPR mede alterações no índice refrativo expresso em unidades de resposta (RU) próximas a uma superfície do sen-

sor dentro de uma pequena célula de fluxo, um princípio que pode ser usado para detectar interações de ligante e receptor e para analisar sua afinidade e parâmetros cinéticos. As células de fluxo de sonda foram preparadas pela imobilização de complexos de pMHC nas células de fluxo através de ligação de sinalizador de biotina. O ensaio foi então realizado pela passagem de ILT solúvel sobre as superfícies das diferentes células de fluxo em uma taxa de fluxo constante, medindo-se a resposta de SPR ao fazê-lo.

Medição da Constante de Ligação de Equilíbrio

Diluições seriadas de moléculas de ILT solúveis foram preparadas e injetadas em uma taxa de fluxo constante de $5 \mu\text{l min}^{-1}$ por duas células de fluxo diferentes; uma revestida com ~ 500 RU do complexo -HLA-A*0201 específico, e a segunda foi deixada vazia como um controle. A resposta foi normalizada para cada concentração usando a medição da célula de controle. A resposta dos dados normalizados foi plotada versus a concentração da amostra de ILT e ajustada para uma hipérbole a fim de calcular a constante de ligação de equilíbrio, K_D (Price & Dwek, Principles and Problems in Physical Chemistry for Biochemists (2ª Edição) 1979, Clarendon Press, Oxford).

Medição dos Parâmetros Cinéticos

K_D de ILTs solúveis de alta afinidade foi determinado medindo-se experimentalmente a constante da taxa de dissociação, k_d , e a constante da taxa de associação, k_a . A constante de equilíbrio, K_D foi calculada como k_d/k_a .

Moléculas semelhantes a ILT de alta afinidade foram injetadas por duas células de fluxo diferentes, uma revestida com ~ 300 RU de complexo de YLSGANLNL (SEQ ID NO: 15) derivado de CEA-HLA-A*0201, e a segunda foi deixada vazia como um controle. A taxa de fluxo foi ajustada a $50 \mu\text{l/min}$. Tipicamente, $250 \mu\text{l}$ de polipeptídeo de ILT a $\sim 3 \mu\text{M}$ foram injetados. Tampão foi então circulado até que a resposta retornou para o nível basal. Os parâmetros cinéticos foram calculados usando o programa Biaevaluation. A fase de dissociação também foi ajustada para uma equação de decaimento exponencial permitindo o cálculo da meia vida.

Resultados

A interação entre uma variante solúvel de ILT-2 tipo selvagem e o complexo YLSGANLNL derivado de CEA-HLA-A*0201 foi analisada usando os métodos acima e demonstrou um K_D de aproximadamente 6 μM . As moléculas semelhantes a ILT que têm as seqüências de aminoácido fornecidas nas Figuras 4a a 4d (SEQ ID Nos: 6 a 9), e nas Figuras 13a a 13bh (SEQ ID NOS: 21 a 80) tem um K_D de menos do que ou igual a 1 μM e de 2 S^{-1} ou mais lento.

Exemplo 5 - Análise de ressonância de plasmônio de superfície Biacore da inibição mediada por ITL solúvel da interação de pMHC/CD8

Um biossensor de ressonância de plasmônio de superfície (Biacore 3000[®]) é usado para analisar a inibição mediada por ILT solúvel da interação de pMHC/CD8. Isso é facilitado pela produção de complexos de pMHC solúveis (descrito abaixo) e moléculas de CD8 $\alpha\alpha$ solúveis biotiniladas (também descritas abaixo). As moléculas de CD8 $\alpha\alpha$ solúveis biotiniladas são imobilizadas a uma superfície de ligação revestida com estreptavidina de "Biacore chip" de uma forma semi-orientada, permitindo o teste eficaz da ligação de complexos de pMHC solúveis ao CD8 $\alpha\alpha$ solúvel imobilizado. A injeção de moléculas de CD8 $\alpha\alpha$ solúvel biotiniladas permite que o nível exato de moléculas de CD8 $\alpha\alpha$ imobilizadas seja facilmente manipulado.

pMHC HLA-A*0201 solúvel carregado com um peptídeo YLSGANLNL (SEQ ID NO: 15) derivado de CEA são produzidos usando os métodos substancialmente conforme descrito em (Garboczi *et. al.*, (1992) *PNAS USA* 89 3429-3433). As moléculas de pMHC são redobradas *in vitro* a partir de corpos de inclusão expressos em *E. coli* contendo as proteínas de subunidades constituintes e peptídeo sintético e então purificadas. A cadeia leve de MHC ou $\beta 2$ -microglobulina também é expressa como corpos de inclusão em *E. coli* a partir de um construto apropriado, em um nível de ~ 500mg/litro de cultura bacteriana.

As células de *E. coli* são lisadas e os corpos de inclusão são purificados e as proteínas super-expressas são redobradas e purificadas usando os métodos detalhados no Exemplo 4 exceto que as etapas de bioti-

nilação são omitidas.

As moléculas de CD8 solúveis biotiniladas são produzidas conforme descrito nos Exemplos 1 e 6 de EP1024822. Resumidamente, o CD8 α solúvel contendo um sinalizador de biotinilação é expresso como corpos de inclusão em *E. coli* e então purificado e redobrado para produzir homodímeros de CD8 $\alpha\alpha$ contendo uma sequência de sinalização que pode ser biotinilada enzimaticamente (Schatz, (1993) *Biotechnology NY* 11: 1138-43). A biotinilação das moléculas de CD8 α sinalizadas é então obtida usando a enzima BirA (O'Callaghan, *et al. Anal Biochem* 266(1): 9-15 (1999)). Os reagentes de biotinilação são: biotina 1 mM, ATP 5 mM (tamponado para pH 8), MgCl₂ 7,5 mM e 5 μ g/ml de enzima BirA (purificada de acordo com O'Callaghan *et al.* (1999) *Anal. Biochem.* 266: 9-15). A mistura é então deixada incubar em temperatura ambiente durante a noite.

O sCD8 $\alpha\alpha$ biotinilado é imobilizado sobre a superfície de um chip Biacore revestido com estreptavidina produzindo uma alteração no índice refrativo de 1000 unidades de resposta. Tais moléculas de CD8 $\alpha\alpha$ imobilizadas são capazes de ligar-se a complexos de pMHC que podem ser injetados na fase solúvel.

A habilidade das moléculas de ILT inibirem a interação de pMHC/CD8 em um biossensor de ressonância de plasmônio de superfície (SPR) Biacore 3000TM é analisada como segue:

SPR mede alterações no índice refrativo expresso em unidades de resposta (RU) próximo de uma superfície do sensor dentro de uma pequena célula de fluxo, um princípio que pode ser usado para detectar interações entre o ligante e o receptor e para analisar sua afinidade e parâmetros cinéticos. Os chips são preparados pela imobilização das moléculas de CD8 $\alpha\alpha$ biotiniladas solúveis a chips revestidos com estreptavidina como descrito acima. Diluições seriadas de moléculas de ILT selvagem ou semelhantes a ILT de alta afinidade são preparadas e injetadas em uma taxa de fluxo constante de 5 μ l min⁻¹ por uma célula de fluxo revestida com 1000 RU de CD8 $\alpha\alpha$ biotinilado na presença de uma concentração adequada de YLS-GANLNL (SEQ ID NO: 15) -HLA-A*0201 solúvel. A inibição das respostas de

SPR para a interação de CD8 α /pMHC produzem uma curva dose-resposta que é usada para calcular um valor de IC50 para o peptídeo que está sendo testado para essa interação.

Exemplo 6 - Comparação da identidade e similaridade de seqüência de polipeptídeo.

O algoritmo de comparação proteína-proteína usado para gerar dados de identidade e similaridade para esse pedido está disponível através da seguinte página da Internet.

http://fasta.bioch.virginia.edu/fasta_www/cgi/search_frm2.cgi

O programa "FASTA: proteína: proteína DNA: DNA" disponível nessa página da internet foi usado para realizar essas comparações. Os seguintes parâmetros (padrão) foram usados:

Ktup:	Ktup =2
Matriz de pontuação:	Blosum 50
Gap:	-10
Ext:	-2

A fim de fazer as comparações necessárias, a seqüência de aminoácidos do fragmento de ILT-2 em código de uma letra conforme fornecido na Figura 4b (SEQ ID NO: 7) é digitado na primeira seqüência (consulta) e a seqüência de aminoácido para comparação a isto é digitada como a segunda seqüência (biblioteca). O algoritmo pode então ser aplicado e fornecerá o percentual de pontuações de identidade e similaridade para o par de seqüências comparadas.

Como será óbvio para aqueles versados na técnica há várias fontes de comparações proteína: proteína do FASTA que poderiam ser usadas para essa análise.

Exemplo 7 - Produção de vetores de *Pichia pastoris* para a expressão de polipeptídeo semelhante a ILT c20 solúvel de alta afinidade.

A figura 9a (SEQ ID NO: 19) fornece a seqüência de DNA usada para expressar um polipeptídeo semelhante a ILT c20 de alta afinidade contendo apenas os domínios D1 e D2 em *Pichia pastoris*. Essa seqüência de DNA que foi otimizada para expressão em *Pichia* foi sintetizada *de novo* por

uma companhia de pesquisa contratada, GeneArt (Alemanha). Um códon que codifica cisteína foi adicionado à extremidade 3' *iniciador* desse DNA a fim de fornecer um "sinalizador" na terminação-C do polipeptídeo semelhante a ILT expresso para facilitar a multimerização se necessário. Sítios de reconhecimento de enzima de restrição (*SnaBI* e *NotI*) foram introduzidos dentro dessa sequência de DNA a fim de facilitar a ligação da sequência de DNA dentro de um plasmídeo de expressão pPIC9K (Invitrogen).

Sítios de reconhecimento de enzima de restrição conforme introduzidos no DNA que codifica o polipeptídeo semelhante a ILT c20 solúvel de alta afinidade:

SnaBI - tacgta

NotI - gcggccgc

Ligação

A sequência de DNA que codifica o polipeptídeo semelhante a ILT de alta afinidade foi ligado em um vetor pPIC9K (Invitrogen) cortado com as enzimas de restrição *SnaBI* e *NotI* usando um kit de ligação de DNA rápido (Roche).

Amplificação de Plasmídeo

Os plasmídeos ligados são transformados em XL1 blue (Stratagene, Country) competentes e plaqueados sobre placas de ágar/LB contendo 100 mg/ml de canamicina. Após incubação durante a noite a 37°C, colônias isoladas são retiradas e cultivadas em 100 ml de LB contendo 100 mg/ml de canamicina durante a noite a 37°C com agitação. Os plasmídeos clonados são purificados usando um kit Midiprep (Qiagen) e o inserto é sequenciado usando um sequenciador automático de DNA (Lark Technologies).

Figura 9b (SEQ ID NO: 20) mostra a sequência de aminoácidos dos polipeptídeos semelhantes a ILT (c20) de dois domínios de alta afinidade codificados pela sequência de DNA da Figura 9a (SEQ ID NO: 19).

Exemplo 8 - Expressão e purificação de polipeptídeos semelhantes a ILT solúveis de alta afinidade em Pichia Pastoris

O plasmídeo de expressão de *Pichia pastoris* contendo o DNA

que codifica o polipeptídeo semelhante a ILT de afinidade conforme preparado no Exemplo 7 foi transformados na cepa de *Pichia pastoris* GS 115 (Invitrogen, USA) como segue:

5 Células GS115 de *Pichia pastoris* foram tornadas competentes usando um Kit Pichia EasyComp (Invitrogen). Esse kit usa PEG1000 para tornar as células competentes quimicamente.

O vetor contendo o DNA do polipeptídeo semelhante a ILT foi linearizado usando Sal I e transformado na cepa GS115 conforme descrito no manual da Invitrogen,

10 Os transformantes contendo o DNA que codifica o polipeptídeo semelhante a ILT de alta afinidade foram selecionados pelo crescimento de células em placas de ágar RDB (Invitrogen). O ágar RDB não tem histidina, o que garante que apenas células de levedura que tenham sido transformadas com sucesso com o plasmídeo pPIC9K irão crescer. O plasmídeo
15 pPIC9K confere a habilidade de crescer sobre o ágar-histidina pelo fornecimento de uma cópia do gene HIS4 que permite o crescimento sobre meio-His.

Colônias isoladas foram retiradas da placa de ágar e cultivadas a 30°C em meio BMGY (Invitrogen) durante a noite antes de induzir a expressão de proteína. A expressão de proteína foi induzida pela rotação das
20 células (2000 x g, 10 min) e ressuspensão em 200 ml de meio de indução BMMY (Invitrogen). As células foram colhidas 6 dias após a indução por centrifugação por 30 minutos a 2000 x g. o sobrenadante foi concentrado através de filtração de fluxo tangencial (ponto de corte de 10 kDa de Sartorius)
25 para 10 ml e purificado usando SEC (S200HR GE Healthcare).

As frações de pico são armazenadas a 4°C e analisadas por SDS-PAGE corado com Coomassie antes de serem agrupadas e concentradas. Finalmente, o polipeptídeo semelhante a ILT de alta afinidade solúvel é purificado e caracterizado usando uma coluna de filtração em gel Superdex
30 200HR pré-equilibrada em tampão HBS-EP (HEPES 10 mM pH 7.4, NaCl 150 mM, EDTA 3,5 mM, 0,05% de nonidet p40). O pico que elui em um peso molecular relativo de aproximadamente 28 kDa é agrupado e concentrado

antes da caracterização por análise de ressonância de plasmônio de superfície Biacore usando os métodos detalhados no Exemplo 4.

Resultados

O polipeptídeo semelhante a ILT c20 de alta afinidade expresso em *Pichia pastoris* tinha um K_D de aproximadamente 100 -150 nM para MHC Classe I conforme determinado pelo método baseado em Biacore do exemplo 4 (veja figura 10 para a curva de Biacore gerada usando o polipeptídeo semelhante a ILT c20 de alta afinidade produzido em *Pichia*. Isso se compara a um K_D de aproximadamente 25 - 85 nM determinado para o polipeptídeo semelhante a ILT c20 de alta afinidade produzido em *E. coli* correspondente.

Exemplo 9 - Dimerização de polipeptídeos semelhantes a ILT usando um ligante Mal-PEG-Mal de 3,4 kd.

Polipeptídeos semelhantes a ILT c50 solúveis de alta afinidade contendo um resíduo de cisteína adicional na terminação C foram preparados usando os métodos detalhados nos Exemplos 1 a 3 (veja a figura 8b (SEQ ID NO: 17) para a seqüência de aminoácidos desse polipeptídeo). Os polipeptídeos semelhantes a ILT foram reticulados usando maleimida-PEG bifuncional não-ramificada (MAL-PEG-MAL, MW 3,4KD, NOF Corporation, Japão). Os grupos de maleimida na terminação desse ligante conferem ao ligante especificidade de ligação a tiol livre. Antes da reticulação o polipeptídeo semelhante a ILT foi pré-tratado com um agente redutor, DTT 0,1 mM (temperatura ambiente, durante a noite), a fim de liberar a cisteína livre no polipeptídeo semelhante a ILT solúvel. Essa baixa concentração de agente redutor foi usada para reduzir seletivamente o resíduo de cisteína c-terminal exposto. O polipeptídeo semelhante a ILT solúvel foi então re-purificado por cromatografia de filtração em gel (Superdex 75) em tampão PBS. O polipeptídeo semelhante a ILT foi então reconcentrado usando um concentrador de membrana centrífuga de ponto de corte de 10 kDa (VivaScience, Satorius). A reticulação foi obtida pela adição em etapas de MAL-PEG-MAL (10 mM em DMF) em uma razão molar de aproximadamente 2:1 (proteína para reticulador) e subsequentemente incubando-se por 2 horas em temperatura ambiente. O produto foi então purificado usando uma coluna de filtração em

gel Superdex 75 HR10/30 pré-equilibrada em PBS. Três picos foram observados após a reticulação; deles, um correspondeu com a posição dos polipeptídeos semelhantes a ILT "monoméricos" intactos correspondendo a espécie de massa molecular mais elevada. O material nos picos foi analisado

5 ainda por SDS-PAGE.

Amostras dos três picos foram pré-tratadas com amostra de tampão SDS padronizado (BioRad) sem DTT (não-redutor) ou com DTT 15 mM (redutor) e foram corridas em um SDS-PAGE de gradiente 4-20% e coradas com corante azul de Coomassie. Sob condições não-redutoras, o material nos três picos apareceu como a espécie reticulada (ILT—PEG—ILT),
10 uma espécie intermediária (ILT—PEG) e ILT-2 não modificado, respectivamente.

A habilidade desses dímeros de polipeptídeo semelhante a ILT c50 solúvel de alta afinidade se ligarem a pMHC Classe I foi confirmada usando o método baseado em Biacore detalhado no Exemplo 4. Os dímeros semelhantes a ILT c50 solúveis de alta afinidade demonstraram uma meia-vida para dissociação de aproximadamente 30-86 minutos. Por comparação, o KD determinado por Biacore do polipeptídeo monomérico de ILT-2 c50 solúvel correspondente foi de aproximadamente 6 seg. Isso demonstra claramente a afinidade melhorada obtida pela dimerização. A Figura 11 fornece a curva de Biacore para a interação do dímero de polipeptídeo semelhante a ILT c50 de alta afinidade e Tax-HLA-A*0201. Essa curva de Biacore também tem a linha de regressão adicionada que foi usada para calcular a meia-vida para dissociação para essa corrida em particular (86 minutos).

25 Exemplo 10 – Tetramerização de polipeptídeos de ILT-2.

Polipeptídeos semelhantes a ILT c50 solúveis de alta afinidade que contem um resíduo de cisteína adicional na terminação C foram tetramerizados usando maleimida-PEG tetramérico (4arm MAL-PEG, MW 20KD, Shearwater Corporation). Os grupos de maleimida sobre as terminações desse ligante conferem ao ligante especificidade de ligação a tiol livre. Antes da reticulação, os polipeptídeos semelhantes a ILT c50 solúveis de alta afinidade foram pré-tratados com um agente redutor, DTT 0,1 mM (temperatura

ambiente, durante a noite), a fim de liberar a cisteína livre nos polipeptídeos de ILT-2 solúveis. Essa baixa concentração de agente redutor foi usada para reduzir seletivamente o resíduo de cisteína C-terminal exposto. Os polipeptídeos semelhantes a ILT c50 solúveis de alta afinidade foram então re-
5 purificados por cromatografia de filtração em gel (Superdex 75) em tampão PBS. O polipeptídeo semelhante a ILT c50 solúvel de alta afinidade foi então reconcentrado usando um concentrador de membrana centrífuga de ponto de corte de 10 kDa (VivaScience, Satorius). A tetramerização foi obtida pela
10 adição em etapas do 4arm MAL-PEG (10 mM em DMF) em uma proporção molar de aproximadamente 4:1 (proteína para reticulador) e subsequente incubação por 2 horas em temperatura ambiente. O produto foi então purificado usando uma coluna de filtração em gel Superdex 75 HR10/30 pré-equilibrada em PBS. As frações eluídas foram analisadas ainda por SDS-PAGE.

15 Amostras das frações foram pré-tratadas com tampão de amostra de SDS padrão (BioRad) sem DTT (não-redutor) ou com DTT 15 mM (re-
dutor) e foram corridas em um PAGE de gradiente 4-20% e coradas com corante azul de Coomassie. Os géis de SDS-PAGE demonstraram que a espécie de polipeptídeo semelhante a ILT c50 solúvel de alta afinidade te-
20 tramérico constituiu aproximadamente 50% da presente proteína.

A habilidade desses tetrâmeros se ligarem a pMHC Classe I foi confirmada usando o método baseado em Biacore detalhado no Exemplo 4. Os tetrâmeros semelhantes a ILT c50 solúveis se ligaram tão fortemente a Tax-HLA*0201 que foi impossível determinar o K_D aparente ou meia vida
25 para a dissociação da interação. Por comparação, a meia-vida determinada por Biacore para dissociação da interação dos polipeptídeos de ILT-2 c50 solúveis diméricos e monoméricos foi de 30-86 minutos e aproximadamente 6 segundos, respectivamente. Isso demonstra claramente a afinidade melho-
rada obtida pela tetramerização. A Figura 12 fornece a curva Biacore para a
30 interação do tetrâmero de polipeptídeo semelhante a ILT c50 solúvel de alta afinidade e Tax-HLA*A0201.

Exemplo 11 – Ensaio ELISPOT para avaliação de inibição *in vitro* da ativa-

ção de célula T citotóxica (CTL) por monômeros, dímeros e tetrâmeros semelhantes a ILT c50 de alta afinidade

O método a seguir fornece um meio de avaliar a habilidade de monômeros e complexos multi-valentes de polipeptídeo semelhante a ILT c50 solúvel de alta afinidade inibirem a ativação de célula T mediada pelo co-receptor de CD8.

Reagentes:

Meio de Ensaio: FCS 10% (inativado por calor, Gibco, cat# 10108-165), RPMI 1640 88% (Gibco, cat# 42401-018), glutamina 1% (Gibco, cat# 25030-024) e 1% de penicilina/estreptomicina (Gibco, cat# 15070-063).

Tampão de Lavagem: PBS 0,01 M/0,05% de Tween 20 (1 sachê de solução salina tamponada com Fosfato com Tween 20, pH 7.4 de Sigma, Cat. # P-3563 dissolvido em 1 litro de água destilada dá uma composição final de PBS 0,01 M, NaCl 0,138 M, KCl 0,0027 M, 0,05 % de Tween 20).

PBS (Gibco, cat# 10010-015).

Kit Diaclone EliSpot (IDS). O kit EliSpot contém todos os outros reagentes necessários, isto é, anticorpos de captura e de detecção, leite em pó desnatado, BSA, estreptavidina-fosfatase alcalina, solução de BCIP/NBT (PVDF Eli-manchas para IFN- γ humano com placas de 20 x 96 cavidades (IDS cat# DC-856.051.020, DC-856.000.000)).

O método a seguir é baseado nas instruções dos fabricantes, fornecidas com cada kit, mas contém algumas alterações.

Método

100 μ l de anticorpo de captura foram diluídos em 10 ml de PBS estéril por placa. 100 μ l de anticorpo de captura diluído foram aliquotados em cada cavidade e deixados durante a noite a 4°C, ou por 2h a temperatura ambiente. As placas foram então lavadas três vezes com 450 μ l de tampão de lavagem, lavador de placa de 96 cavidades Ultrawash (Thermo Life Sciences), para remover o excesso de anticorpo de captura. 100 μ l de leite em pó desnatado a 2% foram então adicionados a cada cavidade (um frasco de leite em pó desnatado conforme fornecido com o kit EliSpot foi dissolvido em 50 ml de PBS estéril). As placas foram então incubadas a temperatura

ambiente por duas horas antes de serem lavadas mais três vezes com 450 µl de tampão de lavagem, lavador de placa de 96 cavidades Ultrawash (Thermo Life Sciences).

- 5 Células alvo Mel 624 e Mel 526 foram removidas dos seus frascos de cultura de tecido usando tripsina, lavadas uma vez por centrifugação (280 x g por 10 minutos) em meio de ensaio e ressuspensas a 1×10^6 /ml no mesmo meio. 50 µl dessa suspensão foram então adicionados à placa de ensaio para dar um número total de células alvo de 50.000 células/cavidade.

- 10 Um clone de célula T MART-1 específico (KA/C5) (linhagem de célula efetora) foi coletado por centrifugação (280 s g por 10 min) e ressuspensão a 1×10^4 /ml em meio de ensaio para dar 500 células/cavidade quando 50 µl foram adicionados à placa de ensaio.

- 15 Monômero, dímero e tetrâmero de polipeptídeo semelhante a ILT c50 solúvel de alta afinidade foram diluídos em meio de ensaio em uma concentração de 3x para dar um final de 1x quando 50 µl foram adicionados à placa em um volume final de 150 µl. A faixa de concentração de monômero de ILT-2 testado foi de 10 µM-0,03 µM. A faixa de concentração de dímero e tetrâmero de ILT-2 testada foi de 1 µM-0,03 µM.

- 20 Cavidades contendo o seguinte foram então preparados (o volume de reação final em cada cavidade foi de 100 µl):

Amostras de Teste (adicionadas em ordem)

50 µl de células alvo Mel 624 ou Mel 526

50 µl da concentração desejada de monômero, tetrâmero ou dímero semelhante a ILT.

- 25 50 µl de células efetoras do clone de célula T.

Controles Negativos

50 µl de células alvo

50 µl da concentração mais alta de monômero, dímero ou tetrâmero semelhante a ILT

- 30 50 µl de meio de ensaio

OU

50 µl de células efetoras

50 µl da concentração mais alta de monômero, dímero ou tetrâmero semelhante a ILT

50 µl de meio de ensaio

Controles Positivos

5 50 µl de células alvo Mel 624 ou Mel 526

50 µl de células efetoras

50 µl de meio de ensaio

OU

Para mostrar a dependência de CD8

10 50 µl de células alvo Mel 624 ou Mel 526

50 µl de células efetoras

50 µl contendo 100 µg/ml de anticorpo anti-CD8 HB230

As placas foram então incubadas durante a noite a 37°C/ 5% de CO₂. As placas foram então lavadas seis vezes com tampão de lavagem antes de retirar o excesso de tampão. 550 µl de água destilada foram então adicionados a cada frasco de anticorpo de detecção fornecido com o kit E-LISPOT para preparar a solução diluída. 100 µl da solução de anticorpo de detecção diluída foram então diluídos em 10 ml de PBS/BSA 1% por placa e 100 µl da solução de anticorpo de detecção diluída foram aliqotados em cada cavidade. As placas foram então incubadas a temperatura ambiente por 90 minutos.

Após esse tempo, as placas foram lavadas três vezes com tampão de lavagem (três vezes com 450 µl de tampão de lavagem, lavador de placa de 96 cavidades Ultrawash (Thermo Life Sciences) e secas tampadas. 10 µl de estreptavidina-fosfatase alcalina foram então diluídos com 10 ml de PBS/BSA 1% por placa e 100 µl da estreptavidina diluída foram adicionados a cada cavidade e incubados a temperatura ambiente por 1 h. As placas foram então lavadas novamente três vezes com 450 µl de tampão de lavagem e secas tampadas.

30 100 µl da solução de BCIP/NBT fornecida foram então adicionados a cada cavidade e as placas foram cobertas com folha laminada e deixadas desenvolver por 5-15 min. As placas foram checadas regularmente

durante esse período para observar formação de manchas a fim de decidir quando terminar a reação.

5 As placas foram então lavadas cuidadosamente em água corrente e agitadas antes de serem desmontadas e deixadas secar sobre a bancada.

Uma vez secas, as placas foram lidas usando um leitor de ELISPOT (Autoimmune Diagnostistika, Alemanha).

10 O número de "spots" que apareceram em cada cavidade é proporcional ao número de células T ativadas. Portanto, qualquer diminuição no número de "spots" nos cavidades contendo o monômero, dímero ou tetrâmero de polipeptídeo semelhante a ILT c50 solúvel de alta afinidade indica inibição da ativação de CTL mediada por co-receptor de CD8.

Resultados

15 Como mostrado na Figura 14, o polipeptídeo de ILT-2 c50 de alta afinidade é eficaz em inibir a ativação de CTL tanto nas formas monomérica como dimérica. O dímero semelhante a ILT c50 de alta afinidade é consideravelmente mais eficaz em inibir a ativação de CTL do que o monômero correspondente. O tetrâmero c50 semelhante a ILT de alta afinidade é mais eficaz ainda (veja Figura 15). Os valores de IC_{50} calculados a partir dos
20 dados mostrados na Figura 15 para a inibição de CTLs pelos polipeptídeos monomérico, dimérico e tetramérico semelhantes a ILT foram 800 nM, 16,2 nM e 0,7 nM respectivamente.

LISTAGEM DE SEQUÊNCIA

<110> Avidex Ltd
 Jakobsen, Bent K
 Moysey, Ruth K
 5 Li, Yi
 <120> Polipeptídeos
 <130> 75/MG
 <140> PCT/GB2006/001860
 <141> 2006-05-19
 10 <150> GB0510627.3
 <151> 2005-05-25
 <160> 80
 <170> Versão 3.3 PatentIn
 <210> 1
 15 <211> 650
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 1
 Met Thr Pro Ile Leu Thr Val Leu Ile Cys Leu Gly Leu Ser Leu Gly
 20 1 5 10 15
 Pro Arg Thr His Val Gln Ala Gly His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp
 20 25 30
 Ala Glu Pro Gly Ser Val Ile Thr Gln Gly Ser Pro Val Thr Leu Arg
 35 40 45
 25 Cys Gln Gly Gly Gln Glu Thr Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys
 50 55 60
 Lys Thr Ala Pro Trp Ile Thr Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys
 65 70 75 80
 Gly Gln Phe Pro Ile Pro Ser Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr
 30 85 90 95
 Arg Cys Tyr Tyr Gly Ser Asp Thr Ala Gly Arg Ser Glu Ser Ser Asp
 100 105 110

Pro Leu Glu Leu Val Val Thr Gly Ala Tyr Ile Lys Pro Thr Leu Ser
 115 120 125
 Ala Gln Pro Ser Pro Val Val Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln
 130 135 140
 5 Cys Asp Ser Gln Val Ala Phe Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly
 145 150 155 160
 Glu Asp Glu His Pro Gln Cys Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly
 165 170 175
 Ser Ser Arg Ala Ile Phe Ser Val Gly Pro Val Ser Pro Ser Arg Arg
 10 180 185 190
 Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr Ala Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp
 195 200 205
 Ser Leu Pro Ser Asp Leu Leu Glu Leu Leu Val Leu Gly Val Ser Lys
 210 215 220
 15 Lys Pro Ser Leu Ser Val Gln Pro Gly Pro Ile Val Ala Pro Glu Glu
 225 230 235 240
 Thr Leu Thr Leu Gln Cys Gly Ser Asp Ala Gly Tyr Asn Arg Phe Val
 245 250 255
 Leu Tyr Lys Asp Gly Glu Arg Asp Phe Leu Gln Leu Ala Gly Ala Gln
 20 260 265 270
 Pro Gln Ala Gly Leu Ser Gln Ala Asn Phe Thr Leu Gly Pro Val Ser
 275 280 285
 Arg Ser Tyr Gly Gly Gln Tyr Arg Cys Tyr Gly Ala His Asn Leu Ser
 290 295 300
 25 Ser Glu Trp Ser Ala Pro Ser Asp Pro Leu Asp Ile Leu Ile Ala Gly
 305 310 315 320
 Gln Phe Tyr Asp Arg Val Ser Leu Ser Val Gln Pro Gly Pro Thr Val
 325 330 335
 Ala Ser Gly Glu Asn Val Thr Leu Leu Cys Gln Ser Gln Gly Trp Met
 30 340 345 350
 Gln Thr Phe Leu Leu Thr Lys Glu Gly Ala Ala Asp Asp Pro Trp Arg
 355 360 365

Leu Arg Ser Thr Tyr Gln Ser Gln Lys Tyr Gln Ala Glu Phe Pro Met
 370 375 380
 Gly Pro Val Thr Ser Ala His Ala Gly Thr Tyr Arg Cys Tyr Gly Ser
 385 390 395 400
 5 Gln Ser Ser Lys Pro Tyr Leu Leu Thr His Pro Ser Asp Pro Leu Glu
 405 410 415
 Leu Val Val Ser Gly Pro Ser Gly Gly Pro Ser Ser Pro Thr Thr Gly
 420 425 430
 Pro Thr Ser Thr Ser Gly Pro Glu Asp Gln Pro Leu Thr Pro Thr Gly
 435 440 445
 10 Ser Asp Pro Gln Ser Gly Leu Gly Arg His Leu Gly Val Val Ile Gly
 450 455 460
 Ile Leu Val Ala Val Ile Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Phe
 465 470 475 480
 15 Leu Ile Leu Arg His Arg Arg Gln Gly Lys His Trp Thr Ser Thr Gln
 485 490 495
 Arg Lys Ala Asp Phe Gln His Pro Ala Gly Ala Val Gly Pro Glu Pro
 500 505 510
 Thr Asp Arg Gly Leu Gln Trp Arg Ser Ser Pro Ala Ala Asp Ala Gln
 515 520 525
 20 Glu Glu Asn Leu Tyr Ala Ala Val Lys His Thr Gln Pro Glu Asp Gly
 530 535 540
 Val Glu Met Asp Thr Arg Ser Pro His Asp Glu Asp Pro Gln Ala Val
 545 550 555 560
 25 Thr Tyr Ala Glu Val Lys His Ser Arg Pro Arg Arg Glu Met Ala Ser
 565 570 575
 Pro Pro Ser Pro Leu Ser Gly Glu Phe Leu Asp Thr Lys Asp Arg Gln
 580 585 590
 Ala Glu Glu Asp Arg Gln Met Asp Thr Glu Ala Ala Ala Ser Glu Ala
 595 600 605
 30 Pro Gln Asp Val Thr Tyr Ala Gln Leu His Ser Leu Thr Leu Arg Arg
 610 615 620

Lys Ala Thr Glu Pro Pro Pro Ser Gln Glu Gly Pro Ser Pro Ala Val

625 630 635 640

Pro Ser Ile Tyr Ala Thr Leu Ala Ile His

645

650

5 <210> 2

<211> 2984

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 2

10 gaggaggaac agaaaagaaa agaaaagaaa aagtgggaaa caaataatct aagaatgagg 60
 agaaagcaag aagagtgacc cccttggtggg cactccattg gttttatggc gcctctactt 120
 tctggagttt gtgtaaaaca aaaatattat ggtctttgtg cacatttaca tcaagctcag 180
 cctgggcggc acagccagat gcgagatgcg tctctgctga tctgagtctg cctgcagcat 240
 ggacctgggt ctccctgaa gcattctccag ggctggaggg acgactgcca tgcaccgagg 300
 15 gctcatccat ccacagagca ggcagtgagg aggagacgcc atgaccccca tcttcacggg 360
 cctgatctgt ctgggctga gtctggggcc ccggaccac gtgcaggcag ggcacctccc 420
 caagcccacc ctctgggctg aaccaggctc tgtgatcacc caggggagtc ctgtgacctt 480
 caggtgtcag gggggccagg agaccagga gtaccgtcta tatagagaaa agaaaacagc 540
 accctggatt acacggatcc cacaggagct tgtgaagaag ggccagttcc ccatcccatc 600
 20 catcacctgg gaacatgcag ggcggtatcg ctgttactat ggtagcgaca ctgcaggccg 660
 ctgagagagc agtgaccccc tggagctggg ggtgacagga gcctacatca aaccaccctt 720
 ctgagcccag ccagccccg tggatgaactc aggagggaat gtaaccctcc agtgtgactc 780
 acaggtggca tttgatggct tcattctgtg taaggaagga gaagatgaac acccacaatg 840
 cctgaactcc cagccccatg cccgtgggtc gtcccgcgcc atcttctccg tgggccccgt 900
 25 gagcccaggt cgcaggtggg ggtacaggtg ctatgcttat gactcgaact ctccctatga 960
 gtggtctcta ccagtgatc tctggagct cctggctcta ggtgtttcta agaagccatc 1020
 actctcagtg cagccaggtc ctatcgtggc ccctgaggag accctgactc tgcagtgtgg 1080
 ctctgatgct ggctacaaca gatttgttct gtataaggac ggggaacgtg acttccttca 1140
 gctcgtggc gcacagcccc aggtgggct ctcccaggcc aacttcaccc tgggccctgt 1200
 30 gagccgctcc tacgggggccc agtacagatg ctacggtgca cacaacctct cctccgagtg 1260
 gtcggcccc agcgaccccc tggacatcct gatcgagga cagttctatg acagagtctc 1320
 cctctcgggtg cagccgggccc ccacggtggc ctgaggagag aacgtgaccc tgctgtgtca 1380

	gtcacagga tggatgcaaa ctttccttct gaccaaggag ggggcagctg atgacccatg	1440
	gcgtctaaga tcaacgtacc aatctcaaaa ataccaggct gaattcccca tgggtcctgt	1500
	gacctcagcc catgcgggga cctacagggtg ctacgggtca cagagctcca aaccctacct	1560
	gctgactcac cccagtgacc ccctggagct cgtgggtctca ggaccgtctg ggggccccag	1620
5	ctccccgaca acaggcccca cctccacatc tggccctgag gaccagcccc tcacccccac	1680
	cgggtcggat cccagagtgt gtctgggaag gcacctgggg gttgtgatcg gcatcttggt	1740
	ggcgtcatc ctactgtcc tctctctct cctctctctc ctcatctctc gacatcgacg	1800
	tcagggcaaa cactggacat cgaccagag aaaggctgat ttccaacatc ctgcaggggc	1860
	tgtggggcca gagccacag acagaggcct gcagtggagg tccagcccag ctgccgatgc	1920
10	ccaggaagaa aacctctatg ctgccgtgaa gcacacacag cctgaggatg ggggtggagat	1980
	ggacactcgg agccacacg atgaagacc ccaggcagtg acgtatgccg aggtgaaaca	2040
	ctccagacct aggagagaaa tggcctctcc tcttcccca ctgtctgggg aattcctgga	2100
	cacaaaggac agacaggcgg aagaggacag gcagatggac actgaggctg ctgcatctga	2160
	agccccccag gatgtgacct acgcccagct gcacagcttg acccttagac ggaaggcaac	2220
15	tgagcctcct ccatcccagg aagggccctc tccagctgtg cccagcatct acgccactct	2280
	ggccatccac tagcccaggg ggggacgcag accccacact ccatggagtc tggaatgcat	2340
	gggagctgcc cccccagtgg acaccattgg accccacca gcctggatct accccaggag	2400
	actctgggaa cttttagggg tcaactcaatt ctgcagtata aataactaat gtctctacaa	2460
	ttttgaaata aagcaacaga cttctcaata atcaatgaag tagctgagaa aactaagtca	2520
20	gaaagtgcac taaactgaat cacaatgtaa atattacaca tcaagcgatg aaactggaaa	2580
	actacaagcc acgaatgaat gaattaggaa agaaaaaaag taggaaatga atgatcttgg	2640
	ctttcttata agaaatttag ggcagggcac ggtgggtcac gcctgtaatt ccagcacttt	2700
	gggaggccga ggcgggcaga tcacgagttc aggagatcga gaccatcttg gccaacatgg	2760
	tgaaaccctg tctctcctaa aaatacaaaa attagctgga tgtgggtggca gtgcctgtaa	2820
25	tcccagctat ttgggaggct gaggcaggag aatcgcttga accagggagt cagaggtttc	2880
	agtgagccaa gatcgacca ctgctctcca gcctggcgac agagggagac tccatctcaa	2940
	attaaaaaaa aaaaaaaaaa agaagaaaaa aaaaaaaaaa aaaa	2984
	<210> 3	
	<211> 198	
30	<212> PRT	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 3	

Met Gly His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val
 1 5 10 15
 Ile Thr Gln Gly Ser Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu
 20 25 30
 5 Thr Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile
 35 40 45
 Thr Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro
 50 55 60
 Ser Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Tyr Tyr Gly Ser
 10 65 70 75 80
 Asp Thr Ala Gly Arg Ser Glu Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val
 85 90 95
 Thr Gly Ala Tyr Ile Lys Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val
 100 105 110
 15 Val Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala
 115 120 125
 Phe Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln
 130 135 140
 Cys Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe
 20 145 150 155 160
 Ser Val Gly Pro Val Ser Pro Ser Arg Arg Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr
 165 170 175
 Ala Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu
 180 185 190
 25 Leu Glu Leu Leu Val Leu
 195
 <210> 4
 <211> 690
 <212> DNA
 30 <213> Homo sapiens
 <400> 4
 atggggcacc tccccaagcc caccctctgg gctgaaccag gctctgtgat caccagggg 60

	agtcctgtga cctcaggtg tcaggggggc caggagaccc aggagtaccg tctatataga	120
	gaaaagaaaa cagcaccctg gattacacgg atcccacagg agcttgtgaa gaagggccag	180
	ttccccatcc catccatcac ctgggaacat gcagggcggt atcgctgtta ctatggtagc	240
	gacactgcag gccgctcaga gagcagtgac cccctggagc tgggtggtgac aggagcctac	300
5	atcaaaccce cctctcagc ccagcccagc cccgtggtga actcaggagg gaatgtaacc	360
	ctccagtggtg actcacaggt ggcatttgat ggcttcattc tgtgtaagga aggagaagat	420
	gaacacccac aatgcctgaa ctcccagccc catgcccgtg ggtcgtcccg cgccatcttc	480
	tccgtggggc ccgtgagccc gagtcgcagg tgggtgtaca ggtgctatgc ttatgactcg	540
	aactctccct atgagtggtc tctaccagc gatctcctgg agctcctggt cctagcggcc	600
10	gcaggtggcg gtactagtagc tgttgaaagt tgtttagcaa aacccatac agaaaattca	660
	tttactaacg tctggaaaga cgacaaaact	690
	<210> 5	
	<211> 615	
	<212> DNA	
15	<213> Sequência Artificial	
	<220>	
	<223> DNA codificando duas truncagens de domínio de ILT-2 e restrição	
	sítios de reconhecimento de enzimas introduzido no	
	vetor de expressão da base de PGMT7	
20	<400> 5	
	tatacatatg ggtcatcttc caaaaccaac tctctgggct gaaccaggct ctgtgatcac	60
	ccaggggagt cctgtgaccc tcaggtgtca ggggggcccag gagaccagg agtaccgtct	120
	atatagagaa aagaaaacag caccctggat tacacggatc ccacaggagc ttgtgaagaa	180
	gggccagttc cccatcccat ccatcacctg ggaacatgca gggcggtatc gctgttacta	240
25	tggtagcgac actgcaggcc gctcagagag cagtgacccc ctggagctgg tggtagacagg	300
	agcctacatc aaaccacccc tctcagccca gccagcccc gtggtgaact caggagggaa	360
	tgtaacctc cagtgtgact cacaggtggc atttgatggc ttcattctgt gtaaggaagg	420
	agaagatgaa caccacaaat gctgaactc ccagcccat gcccggtggg cgtcccgcgc	480
	catcttctcc gtggggcccc tgagcccagc ccgcaggtgg tggtagcagg gctatgctta	540
30	tgactcgaac tctccctatg agtgggtctct acccagtgat ctctggagc tcttggctct	600
	ataagcttga attcc	615
	<210> 6	

<211> 198

<212> PRT

<213> Sequência Artificial

<220>

5 <223> ILT-2 de dois domínios mutados

<400> 6

Met Gly His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val

1 5 10 15

Ile Thr Met Gly Gln Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu

10 20 25 30

Thr Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile

35 40 45

Thr Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro

50 55 60

15 Ser Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Tyr Tyr Gly Ser

65 70 75 80

Asp Thr Ala Gly Arg Ser Glu Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val

85 90 95

Thr Gly Ala Tyr Ile Lys Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val

20 100 105 110

Val Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala

115 120 125

Phe Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln

130 135 140

25 Cys Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe

145 150 155 160

Ser Val Gly Pro Val Ser Pro Ser Arg Arg Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr

165 170 175

Ala Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu

30 180 185 190

Leu Glu Leu Leu Val Leu

195

<210> 7

<211> 198

<212> PRT

<213> Sequência Artificial

5 <220>

<223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos

<400> 7

Met Gly His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val

1 5 10 15

10 Ile Thr Met Asp Gln Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu

20 25 30

Thr Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile

35 40 45

Thr Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro

15 50 55 60

Ser Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Tyr Tyr Gly Ser

65 70 75 80

Asp Thr Ala Gly Arg Ser Glu Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val

85 90 95

20 Thr Gly Val Tyr Ile Lys Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val

100 105 110

Val Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala

115 120 125

Phe Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln

25 130 135 140

Cys Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe

145 150 155 160

Ser Val Gly Pro Val Ser Pro Gly Arg Arg Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr

165 170 175

30 Ala Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu

180 185 190

Leu Glu Leu Leu Val Leu

195

<210> 8

<211> 198

<212> PRT

5 <213> Sequência Artificial

<220>

<223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos

<400> 8

Met Gly His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val

10 1 5 10 15

Ile Thr Leu Met Gln Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu

20 25 30

Thr Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile

35 40 45

15 Thr Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro

50 55 60

Ser Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Tyr Tyr Gly Ser

65 70 75 80

Asp Thr Ala Gly Arg Ser Glu Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val

20 85 90 95

Thr Gly Ala Tyr Ile Lys Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val

100 105 110

Val Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala

115 120 125

25 Phe Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln

130 135 140

Cys Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe

145 150 155 160

Ser Val Gly Pro Val Ser Pro Ser Arg Arg Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr

30 165 170 175

Ala Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu

180 185 190

Leu Glu Leu Leu Val Leu

195

<210> 9

<211> 198

5 <212> PRT

<213> Sequência Artificial

<220>

<223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos

<400> 9

10 Met Gly His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val

1 5 10 15

Ile Thr Met Gln Arg Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu

20 25 30

Thr Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Arg Lys Thr Ala Pro Trp Ile

15 35 40 45

Thr Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro

50 55 60

Ser Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Tyr Tyr Gly Ser

65 70 75 80

20 Asp Thr Ala Gly Arg Ser Glu Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val

85 90 95

Thr Gly Ala Tyr Ile Lys Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val

100 105 110

Val Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala

25 115 120 125

Phe Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln

130 135 140

Cys Leu Ser Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe

145 150 155 160

30 Ser Val Gly Pro Val Ser Pro Ser Arg Arg Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr

165 170 175

Ala Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu

	180	185	190
	Leu Glu Leu Leu Val Leu		
	195		
	<210> 10		
5	<211> 615		
	<212> DNA		
	<213> Sequência Artificial		
	<220>		
	<223> DNA codificando um polipeptídeo ILT-2 de dois domínios		
10	mutados de sítios de reconhecimento de enzimas de restrição		
	<400> 10		
	tatacatatg ggtcatcttc caaaaccaac tctctgggct gaaccaggct ctgtgatcac	60	
	catggggcag cctgtgaccc tcaggtgtca ggggggccag gagaccagg agtaccgtct	120	
	atatagagaa aagaaaacag caccctggat tacacggatc ccacaggagc ttgtgaagaa	180	
15	gggccagttc cccatcccat ccatcacctg ggaacatgca gggcggtatc gctgttacta	240	
	tggtagcgac actgcaggcc gctcagagag cagtgacccc ctggagctgg tggtagacagg	300	
	agcctacatc aaaccacccc tctcagccca gccagcccc gtggtgaact caggagggaa	360	
	tgtaaccttc cagtgtgact cacaggtggc atttgatggc ttcattctgt gtaaggaagg	420	
	agaagatgaa caccacaaat gcctgaactc ccagcccat gcccgagggt cgccccgcgc	480	
20	catcttctcc gtgggccccg tgagcccag tcgcagggtg tggtagaggt gctatgctta	540	
	tgactcgaac tctccctatg agtgggtctct acccagtgat ctctggagc tctgggtcct	600	
	ataagcttga attcc	615	
	<210> 11		
	<211> 615		
25	<212> DNA		
	<213> Sequência Artificial		
	<220>		
	<223> DNA codificando um polipeptídeo ILT-2 de dois domínios		
	mutados de sítios de reconhecimento de enzimas de restrição		
30	<400> 11		
	tatacatatg ggtcatcttc caaaaccaac tctctgggct gaaccaggct ctgtgatcac	60	
	catggatcaa cctgtgaccc tcaggtgtca ggggggccag gagaccagg agtaccgtct	120	

	atatagagaa aagaaaacag caccctggat tacacggatc ccacaggagc ttgtgaagaa	180
	gggccagttc cccatcccat ccatcacctg ggaacatgca gggcggatc gctgttacta	240
	tggtagcgac actgcaggcc gctcagagag cagtgaaccc ctggagctgg tggtgacagg	300
	agtctacatc aaaccacccc tctcagccca gccagcccc gtggtgaact caggagggaa	360
5	tgtaaccctc cagtgtgact cacaggtggc atttgatggc ttcattctgt gtaaggaagg	420
	agaagatgaa caccacaaat gcctgaactc ccagcccat gcccgagggt cgtcccgcg	480
	catcttctcc gtgggccccg tgagccccgg tcgcaggtgg tggtagaggt gctatgctta	540
	tgactcgaac tctccctatg agtgggtctc acccagtgat ctctggagc tctgggtcct	600
	ataagcttga attcc	615
10	<210> 12	
	<211> 615	
	<212> DNA	
	<213> Sequência Artificial	
	<220>	
15	<223> DNA codificando um polipeptídeo ILT-2 de dois domínios	
	mutados de sítios de reconhecimento de enzimas de restrição	
	<400> 12	
	tatacatatg ggtcatcttc caaaaccaac tctctgggct gaaccaggct ctgtgatcac	60
	cctgatgcaa cctgtgacct tcaggtgtca ggggggccag gagaccagg agtaccgtct	120
20	atatagagaa aagaaaacag caccctggat tacacggatc ccacaggagc ttgtgaagaa	180
	gggccagttc cccatcccat ccatcacctg ggaacatgca gggcggatc gctgttacta	240
	tggtagcgac actgcaggcc gctcagagag cagtgaaccc ctggagctgg tggtgacagg	300
	agcctacatc aaaccacccc tctcagccca gccagcccc gtggtgaact caggagggaa	360
	tgtaaccctc cagtgtgact cacaggtggc atttgatggc ttcattctgt gtaaggaagg	420
25	agaagatgaa caccacaaat gcctgaactc ccagcccat gcccgagggt cgtcccgcg	480
	catcttctcc gtgggccccg tgagccccgg ccgcaggtgg tggtagaggt gctatgctta	540
	tgactcgaac tctccctatg agtgggtctc acccagtgat ctctggagc tctgggtcct	600
	ataagcttga attcc	615
	<210> 13	
30	<211> 615	
	<212> DNA	
	<213> Sequência Artificial	

<220>

<223> DNA codificando um polipeptídeo ILT-2 de dois domínios
mutados de sítios de reconhecimento de enzimas de restrição

<400> 13

5	tatacatatg ggtcatcttc caaaaccaac tctctgggct gaaccaggct ctgtgatcac	60
	catgcagcgg cctgtgacct tcaggtgtca ggggggcccag gagaccagg agtaccgtct	120
	atatagagaa aggaaaacag caccctggat tacacggatc ccacaggagc ttgtgaagaa	180
	gggccagttc cccatcccat ccatcacctg ggaacatgca gggcgggtatc gctgttacta	240
	tggtagcgac actgcaggcc gctcagagag cagtgacccc ctggagctgg tggtgacagg	300
10	agcctacatc aaaccacccc tctcagccca gccagcccc gtggtgaact caggaggga	360
	tgtaaccctc cagtgtgact cacaggtggc atttgatggc ttcattctgt gtaaggaagg	420
	agaagatgaa caccacaat gcctgagctc ccagcccat gcccgagggt cgtcccgcc	480
	catcttctcc gtgggccccg tgagcccgag tcgcaggtgg tggtacaggt gctatgctta	540
	tgactcgaac tctccctatg agtgggtctc acccagtgat ctctggagc tcttggtcct	600
15	ataagcttga attcc	615

<210> 14

<211> 3111

<212> DNA

<213> Sequência Artificial

20 <220>

<223> DNA codificando um vetor de expressão baseado em PGMT7

<400> 14

	gatctcgatc ccgcgaaatt aatagcactc actatagga gaccacaacg gtttccctct	60
	agaaataatt ttgtttaact ttaagaagga gatatacata tgggatccat ggtaagcttg	120
25	aattccgatc cggctgctaa caaagcccga aaggaagctg agttggctgc tgccaccgct	180
	gagcaataac tagcataacc ccttggggcc tctaaacggg tcttgagggg ttttttgctg	240
	aaaggaggaa ctatatccgg ataattcttg aagacgaaag ggcctcgtga tacgcctatt	300
	tttataggtt aatgtcatga taataatggt ttcttagacg tcaggtggca cttttcgggg	360
	aaatgtgcgc ggaacccta tttgtttatt tttctaaata cattcaaata tgtatccgct	420
30	catgagacaa taacctgat aaatgcttca ataatatatt gttaaaattc gcgttaaatt	480
	tttgttaaat cagctcattt tttaaccaat aggccgaaat cggcaaaatc ccttataaat	540
	caaaagaata gaccgagata gggttgagtg ttgttccagt ttggaacaag agtccactat	600

	taaagaacgt ggactccaac gtcaaagggc gaaaaaccgt ctatcagggc gatggccac	660
	tacgtgaacc atcaccta tcaagttttt tggggctcgag gtgccgtaaa gcactaaatc	720
	ggaacccta agggagcccc cgatttagag cttgacgggg aaagccggcg aacgtggcga	780
	gaaaggaagg gaagaaagcg aaaggagcgg gcgctagggc gctggcaagt gtagcggta	840
5	cgctgcggt aaccaccaca cccgccgcgc ttaatgcgc gctacagggc gcgtcaggtg	900
	gcacttttcg gggaaatgtg cgcggaaccc ctatttgttt atttttctaa atacattcaa	960
	atatgtatcc gctcatgaga caataaccct gataaatgct tcaataatat tgaaaaagga	1020
	agagtatgag tattcaacat ttccgtgtcg cccttatcc cttttttgcg gcattttgcc	1080
	ttcctgtttt tgctcaccca gaaacgctgg tgaaagtaaa agatgctgaa gatcagttgg	1140
10	gtgcacgagt gggttacatc gaactggatc tcaacagcgg taagatcctt gagagttttc	1200
	gccccgaaga acgttttcca atgatgagca cttttaaaagt tctgctatgt ggcgcggtat	1260
	tatcccgtgt tgacgccggg caagagcaac tcggctgcgc catacactat tctcagaatg	1320
	acttggttga gtactacca gtcacagaaa agcatcttac ggatggcatg acagtaagag	1380
	aattatgcag tgctgccata accatgagtg ataactctgc ggccaactta cttctgacaa	1440
15	cgatcggagg accgaaggag ctaaccgctt ttttgcaaa catgggggat catgtaactc	1500
	gccttgatcg ttgggaaccg gagctgaatg aagccatacc aaacgacgag cgtgacacca	1560
	cgatgcctgc agcaatggca acaacgttgc gcaaaactatt aactggcgaa ctacttactc	1620
	tagcttcccg gcaacaatta atagactgga tggaggcgga taaagttgca ggaccacttc	1680
	tgcgctcggc cttccggct ggctggttta ttgctgataa atctggagcc ggtgagcgtg	1740
20	ggtctcgcg tatcattgca gcactggggc cagatggtaa gccctcccg atcgtagtta	1800
	tctacacgac ggggagtcag gcaactatgg atgaacgaaa tagacagatc gctgagatag	1860
	gtgcctcact gattaagcat tggtaactgt cagaccaagt ttactcatat atactttaga	1920
	ttgatttaaa acttcatttt taatttaaaa ggatctaggt gaagatcctt tttgataatc	1980
	tcatgaccaa aatcccttaa cgtgagtttt cgttcactg agcgtcagac cccgtagaaa	2040
25	agatcaaagg atcttcttga gatccttttt ttctgcgcgt aatctgctgc ttgcaaacaa	2100
	aaaaaccacc gctaccagcg gtggtttgtt tgccggatca agagctacca actctttttc	2160
	cgaaggtaac tggcttcagc agagcgcaga taccaaatac tgtccttcta gtgtagccgt	2220
	agttaggcca ccacttcaag aactctgtag caccgcctac atacctcgct ctgctaattc	2280
	tgttaccagt ggctgctgcc agtggcgata agtcgtgtct taccgggttg gactcaagac	2340
30	gatagttacc ggataaggcg cagcggtcgg gctgaacggg gggttcgtgc acacagccca	2400
	gcttgagcgc aacgacctac accgaactga gatacctaca gcgtgagcta tgagaaagcg	2460
	ccacgcttcc cgaagggaga aaggcggaca ggtatccggt aagcggcagg gtcggaacag	2520

gagagcgac gagggagctt ccagggggaa acgcctggta tctttatagt cctgtcgggt 2580
 ttccccacct ctgacttgag cgtcgatttt tgtgatgctc gtcagggggg cggagcctat 2640
 ggaaaaacgc cagcaacgcg gcctttttac ggttcctggc cttttgctgg ccttttgctc 2700
 acatgttctt tctgctgta tcccttgatt ctgtggataa ccgtattacc gcctttgagt 2760
 5 gagctgatac cgctcgccgc agccgaacga ccgagcgag cgagtcagt agcgaggaag 2820
 cggaagagcg cctgatgcg tattttctcc ttacgcatct gtgcggtatt tcacaccgca 2880
 atggtgact ctcagtacaa tctgctctga tgccgcatag ttaagccagt atacactccg 2940
 ctatcgctac gtgactgggt catggctgcg ccccgacacc cgccaacacc cgctgacgcg 3000
 ccctgacggg cttgtctgct cccggcatcc gcttacagac aagctgtgac cgtctccggg 3060
 10 agctgcatgt gtcagaggtt ttcaccgtca tcaccgaaac gcgcgaggca g 3111
 <210> 15
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 15 <400> 15
 Tyr Leu Ser Gly Ala Asn Leu Asn Leu
 1 5
 <210> 16
 <211> 198
 20 <212> PRT
 <213> Sequência Artificial
 <220>
 <223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos
 <400> 16
 25 Met Gly His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val
 1 5 10 15
 Ile Thr Met Asp Gln Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu
 20 25 30
 Thr Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile
 30 35 40 45
 Thr Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro
 50 55 60

Ser Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Tyr Tyr Gly Ser
 65 70 75 80
 Asp Thr Ser Gln Trp Ser Ala Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val
 85 90 95
 5 Thr Gly Val Tyr Ile Lys Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val
 100 105 110
 Val Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala
 115 120 125
 Phe Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln
 10 130 135 140
 Cys Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe
 145 150 155 160
 Ser Val Gly Pro Val Ser Pro Ser Arg Arg Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr
 165 170 175
 15 Ala Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu
 180 185 190
 Leu Glu Leu Leu Val Leu
 195
 <210> 17
 20 <211> 198
 <212> PRT
 <213> Sequência Artificial
 <220>
 <223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos
 25 <400> 17
 Met His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val Ile
 1 5 10 15
 Thr Met Asp Gln Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu Thr
 20 25 30
 30 Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile Thr
 35 40 45
 Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro Ser

50 55 60
 Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Tyr Tyr Gly Ser Asp
 65 70 75 80
 Thr Ser Gln Trp Ser Ala Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val Thr
 5 85 90 95
 Gly Val Tyr Ile Lys Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val Val
 100 105 110
 Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala Phe
 115 120 125
 10 Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln Cys
 130 135 140
 Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe Ser
 145 150 155 160
 Val Gly Pro Val Ser Pro Ser Arg Arg Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr Ala
 15 165 170 175
 Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu Leu
 180 185 190
 Glu Leu Asp Val Asp Gly
 195
 20 <210> 18
 <211> 199
 <212> PRT
 <213> Sequência Artificial
 <220>
 25 <223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos
 <400> 18
 Met His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val Ile
 1 5 10 15
 Thr Met Asp Gln Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu Thr
 30 20 25 30
 Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile Thr
 35 40 45

Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro Ser
 50 55 60
 Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Tyr Tyr Gly Ser Asp
 65 70 75 80
 5 Thr Ser Gln Trp Ser Ala Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val Thr
 85 90 95
 Gly Val Tyr Ile Lys Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val Val
 100 105 110
 Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala Phe
 10 115 120 125
 Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln Cys
 130 135 140
 Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe Ser
 145 150 155 160
 15 Val Gly Pro Val Ser Pro Ser Arg Arg Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr Ala
 165 170 175
 Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu Leu
 180 185 190
 Glu Leu Asp Val Asp Gly Cys
 20 195
 <210> 19
 <211> 614
 <212> DNA
 <213> Sequência Artificial
 25 <220>
 <223> DNA codificando um polipeptídeo ILT-2 de dois domínios
 mutado com um codom terminal cys e sítios de reconhecimento de enzi-
 mas de restrição
 <400> 19
 30 tacgtaatgg gtcattctcc aaaaccaact ctctgggctg aaccaggctc tgtgatcacc 60
 atggatcagc ctgtgaccct caggtgtcag gggggccagg agaccagga gtaccgtcta 120
 tatagagaaa agaaaacagc accctggatt acacggatcc cacaggagct tgtgaagaag 180

ggccagttcc ccatcccatc catcacctgg gaacatgcag ggcggtatcg ctgttactat 240
 ggtagcgaca ctagtcaatg gtcggcgagc agtgaccccc tggagctggt ggtgacagga 300
 gtctacatca aaccaccct ctcagcccag cccagccccg tggatgaactc aggaggaat 360
 gtaaccctcc agtgtgactc acaggtggca tttgatggct tcattctgtg taaggaagga 420
 5 gaagatgaac acccacaatg cctgaactcc cagcccatg cccgtgggtc gtcccgcgcc 480
 atcttctccg tgggccccgt gagcccgagt cgcaggtggt ggtacaggtg ctatgcttat 540
 gactcgaact ctccctatga gtggtctcta cccagtgatc tcctggagct cctggtccta 600
 tgttaagcgg ccgc 614
 <210> 20
 10 <211> 199
 <212> PRT
 <213> Sequência Artificial
 <220>
 <223> Polipeptídeo ILT-2 de dois domínios mutados com um
 15 resíduo de cys c-terminal.
 <400> 20
 Met Gly His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val
 1 5 10 15
 Ile Thr Met Asp Gln Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu
 20 20 25 30
 Thr Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile
 35 40 45
 Thr Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro
 50 55 60
 25 Ser Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Tyr Tyr Gly Ser
 65 70 75 80
 Asp Thr Ser Gln Trp Ser Ala Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val
 85 90 95
 Thr Gly Val Tyr Ile Lys Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val
 30 100 105 110
 Val Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala
 115 120 125

Phe Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln
 130 135 140
 Cys Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe
 145 150 155 160
 5 Ser Val Gly Pro Val Ser Pro Ser Arg Arg Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr
 165 170 175
 Ala Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu
 180 185 190
 Leu Glu Leu Leu Val Leu Cys
 10 195
 <210> 21
 <211> 198
 <212> PRT
 <213> Sequência Artificial
 15 <220>
 <223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos
 <400> 21
 Met Gly His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val
 1 5 10 15
 20 Ile Thr Leu Phe Gln Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu
 20 25 30
 Thr Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile
 35 40 45
 Thr Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro
 25 50 55 60
 Ser Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Tyr Tyr Gly Ser
 65 70 75 80
 Asp Thr Ala Gly Arg Ser Glu Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val
 85 90 95
 30 Thr Gly Ala Tyr Ile Lys Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val
 100 105 110
 Val Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala

115 120 125
 Phe Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln
 130 135 140
 Cys Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe
 5 145 150 155 160
 Ser Val Gly Pro Val Ser Pro Ser Arg Arg Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr
 165 170 175
 Ala Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu
 180 185 190
 10 Leu Glu Leu Leu Val Leu
 195
 <210> 22
 <211> 198
 <212> PRT
 15 <213> Sequência Artificial
 <220>
 <223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos
 <400> 22
 Met Gly His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val
 20 1 5 10 15
 Ile Thr Leu Ser Gln Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu
 20 25 30
 Thr Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile
 35 40 45
 25 Thr Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro
 50 55 60
 Ser Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Tyr Tyr Gly Ser
 65 70 75 80
 Asp Thr Ala Gly Arg Ser Glu Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val
 30 85 90 95
 Thr Gly Val Tyr Ile Lys Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val
 100 105 110

Val Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala
 115 120 125

Phe Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln
 130 135 140

5 Cys Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe
 145 150 155 160

Ser Val Gly Pro Val Ser Pro Ser Arg Arg Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr
 165 170 175

Ala Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu
 10 180 185 190

Leu Glu Leu Leu Val Leu
 195

<210> 23

<211> 198

15 <212> PRT

<213> Sequência Artificial

<220>

<223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos

<400> 23

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

Ile Thr Gln Gly Ser Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu
 20 25 30

Thr Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile
 25 35 40 45

Thr Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro
 50 55 60

Ser Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Val Ile Gln Arg
 65 70 75 80

30 Gly Thr Ala Gly Arg Ser Glu Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val
 85 90 95

Thr Gly Val Tyr Ile Lys Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val

100 105 110
 Val Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala
 115 120 125
 Phe Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln
 5 130 135 140
 Cys Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe
 145 150 155 160
 Ser Val Gly Pro Val Ser Pro Ser Arg Arg Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr
 165 170 175
 10 Ala Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu
 180 185 190
 Leu Glu Leu Leu Val Leu
 195
 <210> 24
 15 <211> 198
 <212> PRT
 <213> Sequência Artificial
 <220>
 <223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos
 20 <400> 24
 Met Gly His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val
 1 5 10 15
 Ile Thr Gln Gly Ser Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu
 20 25 30
 25 Thr Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile
 35 40 45
 Thr Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro
 50 55 60
 Ser Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Tyr Tyr Gly Ser
 30 65 70 75 80
 Gln Gly Gly Leu Arg Ser Glu Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val
 85 90 95

Thr Gly Val Tyr Ile Lys Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val
 100 105 110
 Val Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala
 115 120 125
 5 Phe Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln
 130 135 140
 Cys Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe
 145 150 155 160
 Ser Val Gly Pro Val Ser Pro Ser Arg Arg Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr
 10 165 170 175
 Ala Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu
 180 185 190
 Leu Glu Leu Leu Val Leu
 195
 15 <210> 25
 <211> 198
 <212> PRT
 <213> Sequência Artificial
 <220>
 20 <223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos
 <400> 25
 Met Gly His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val
 1 5 10 15
 Ile Thr Gln Gly Ser Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu
 25 20 25 30
 Thr Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile
 35 40 45
 Thr Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro
 50 55 60
 30 Ser Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Tyr Tyr Gly Thr
 65 70 75 80
 Gln Thr Ala Gly Arg Ser Glu Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val

85 90 95
 Thr Gly Val Tyr Ile Lys Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val
 100 105 110
 Val Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala
 5 115 120 125
 Phe Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln
 130 135 140
 Cys Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe
 145 150 155 160
 10 Ser Val Gly Pro Val Ser Pro Ser Arg Arg Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr
 165 170 175
 Ala Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu
 180 185 190
 Leu Glu Leu Leu Val Leu
 15 195
 <210> 26
 <211> 198
 <212> PRT
 <213> Sequência Artificial
 20 <220>
 <223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos
 <400> 26
 Met Gly His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val
 1 5 10 15
 25 Ile Thr Gln Gly Ser Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu
 20 25 30
 Thr Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile
 35 40 45
 Thr Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro
 30 50 55 60
 Ser Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Met Gln Tyr Thr
 65 70 75 80

Leu Thr Ala Gly Arg Ser Glu Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val
 85 90 95
 Thr Gly Val Tyr Ile Lys Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val
 100 105 110
 5 Val Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala
 115 120 125
 Phe Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln
 130 135 140
 Cys Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe
 10 145 150 155 160
 Ser Val Gly Pro Val Ser Pro Ser Arg Arg Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr
 165 170 175
 Ala Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu
 180 185 190
 15 Leu Glu Leu Leu Val Leu
 195
 <210> 27
 <211> 198
 <212> PRT
 20 <213> Sequência Artificial
 <220>
 <223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos
 <400> 27
 Met Gly His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val
 25 1 5 10 15
 Ile Thr Gln Gly Ser Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu
 20 25 30
 Thr Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile
 35 40 45
 30 Thr Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro
 50 55 60
 Ser Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Tyr Tyr Gly Ser

65 70 75 80
 Asp Thr Ser Gln Trp Ser Ala Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val
 85 90 95
 Thr Gly Val Tyr Ile Lys Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val
 5 100 105 110
 Val Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala
 115 120 125
 Phe Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln
 130 135 140
 10 Cys Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe
 145 150 155 160
 Ser Val Gly Pro Val Ser Pro Ser Arg Arg Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr
 165 170 175
 Ala Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu
 15 180 185 190
 Leu Glu Leu Leu Val Leu
 195
 <210> 28
 <211> 198
 20 <212> PRT
 <213> Sequência Artificial
 <220>
 <223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos
 <400> 28
 25 Met Gly His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val
 1 5 10 15
 Ile Thr Gln Gly Ser Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu
 20 25 30
 Thr Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile
 30 35 40 45
 Thr Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro
 50 55 60

Ser Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Tyr Tyr Gly Ser
 65 70 75 80
 Gln Gly Gly Leu Arg Ser Glu Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val
 85 90 95
 5 Thr Gly Ala Tyr Ile Lys Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val
 100 105 110
 Val Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala
 115 120 125
 Phe Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln
 10 130 135 140
 Cys Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe
 145 150 155 160
 Ser Val Gly Pro Val Ser Pro Ser Arg Arg Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr
 165 170 175
 15 Ala Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu
 180 185 190
 Leu Glu Leu Leu Val Leu
 195
 <210> 29
 20 <211> 198
 <212> PRT
 <213> Sequência Artificial
 <220>
 <223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos.
 25 <400> 29
 Met Gly His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val
 1 5 10 15
 Ile Thr Gln Gly Ser Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu
 20 25 30
 30 Thr Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile
 35 40 45
 Thr Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro

50 55 60
 Ser Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Tyr Tyr Gly Thr
 65 70 75 80
 Gln Thr Ala Gly Arg Ser Glu Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val
 5 85 90 95
 Thr Gly Ala Tyr Ile Lys Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val
 100 105 110
 Val Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala
 115 120 125
 10 Phe Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln
 130 135 140
 Cys Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe
 145 150 155 160
 Ser Val Gly Pro Val Ser Pro Ser Arg Arg Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr
 15 165 170 175
 Ala Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu
 180 185 190
 Leu Glu Leu Leu Val Leu
 195
 20 <210> 30
 <211> 198
 <212> PRT
 <213> Sequência Artificial
 <220>
 25 <223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos
 <400> 30
 Met Gly His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val
 1 5 10 15
 Ile Thr Gln Gly Ser Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu
 30 20 25 30
 Thr Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile
 35 40 45

Thr Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro
 50 55 60
 Ser Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Met Gln Tyr Thr
 65 70 75 80
 5 Leu Thr Ala Gly Arg Ser Glu Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val
 85 90 95
 Thr Gly Ala Tyr Ile Lys Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val
 100 105 110
 Val Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala
 10 115 120 125
 Phe Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln
 130 135 140
 Cys Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe
 145 150 155 160
 15 Ser Val Gly Pro Val Ser Pro Ser Arg Arg Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr
 165 170 175
 Ala Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu
 180 185 190
 Leu Glu Leu Leu Val Leu
 20 195
 <210> 31
 <211> 198
 <212> PRT
 <213> Sequência Artificial
 25 <220>
 <223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos
 <400> 31
 Met Gly His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val
 1 5 10 15
 30 Ile Thr Met Asp Gln Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu
 20 25 30
 Thr Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile

35 40 45
 Thr Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro
 50 55 60
 Ser Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Tyr Tyr Gly Ser
 5 65 70 75 80
 Gln Gly Gly Leu Arg Ser Glu Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val
 85 90 95
 Thr Gly Val Tyr Ile Lys Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val
 100 105 110
 10 Val Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala
 115 120 125
 Phe Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln
 130 135 140
 Cys Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe
 15 145 150 155 160
 Ser Val Gly Pro Val Ser Pro Gly Arg Arg Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr
 165 170 175
 Ala Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu
 180 185 190
 20 Leu Glu Leu Leu Val Leu
 195
 <210> 32
 <211> 198
 <212> PRT
 25 <213> Sequência Artificial
 <220>
 <223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos
 <400> 32
 Met Gly His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val
 30 1 5 10 15
 Ile Thr Met Asp Gln Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu
 20 25 30

Thr Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile
 35 40 45
 Thr Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro
 50 55 60
 5 Ser Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Tyr Tyr Gly Thr
 65 70 75 80
 Gln Thr Ala Gly Arg Ser Glu Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val
 85 90 95
 Thr Gly Val Tyr Ile Lys Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val
 10 100 105 110
 Val Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala
 115 120 125
 Phe Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln
 130 135 140
 15 Cys Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe
 145 150 155 160
 Ser Val Gly Pro Val Ser Pro Gly Arg Arg Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr
 165 170 175
 Ala Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu
 20 180 185 190
 Leu Glu Leu Leu Val Leu
 195
 <210> 33
 <211> 198
 25 <212> PRT
 <213> Sequência Artificial
 <220>
 <223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos
 <400> 33
 30 Met Gly His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val
 1 5 10 15
 Ile Thr Met Asp Gln Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu

20 25 30
 Thr Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile
 35 40 45
 Thr Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro
 5 50 55 60
 Ser Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Val Ile Gln Arg
 65 70 75 80
 Gly Thr Ala Gly Arg Ser Glu Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val
 85 90 95
 10 Thr Gly Val Tyr Ile Lys Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val
 100 105 110
 Val Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala
 115 120 125
 Phe Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln
 15 130 135 140
 Cys Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe
 145 150 155 160
 Ser Val Gly Pro Val Ser Pro Ser Arg Arg Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr
 165 170 175
 20 Ala Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu
 180 185 190
 Leu Glu Leu Leu Val Leu
 195
 <210> 34
 25 <211> 198
 <212> PRT
 <213> Sequência Artificial
 <220>
 <223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos
 30 <400> 34
 Met Gly His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val
 1 5 10 15

Ile Thr Met Asp Gln Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu
 20 25 30
 Thr Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile
 35 40 45
 5 Thr Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro
 50 55 60
 Ser Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Met Gln Tyr Thr
 65 70 75 80
 Leu Thr Ala Gly Arg Ser Glu Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val
 10 85 90 95
 Thr Gly Val Tyr Ile Lys Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val
 100 105 110
 Val Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala
 115 120 125
 15 Phe Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln
 130 135 140
 Cys Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe
 145 150 155 160
 Ser Val Gly Pro Val Ser Pro Ser Arg Arg Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr
 20 165 170 175
 Ala Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu
 180 185 190
 Leu Glu Leu Leu Val Leu
 195
 25 <210> 35
 <211> 198
 <212> PRT
 <213> Sequência Artificial
 <220>
 30 <223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos
 <400> 35
 Met Gly His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val

1 5 10 15
 Ile Thr Gln Gly Ser Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu
 20 25 30
 Thr Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile
 5 35 40 45
 Thr Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro
 50 55 60
 Ser Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Tyr Tyr Gly Ser
 65 70 75 80
 10 Asp Thr Ala Gly Arg Ser Glu Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val
 85 90 95
 Thr Gly Ile Tyr Arg Gln Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val
 100 105 110
 Val Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala
 15 115 120 125
 Phe Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln
 130 135 140
 Cys Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe
 145 150 155 160
 20 Ser Val Gly Pro Val Ser Pro Ser Arg Arg Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr
 165 170 175
 Ala Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu
 180 185 190
 Leu Glu Leu Leu Val Leu
 25 195
 <210> 36
 <211> 198
 <212> PRT
 <213> Sequência Artificial
 30 <220>
 <223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos
 <400> 36

Met Gly His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val
 1 5 10 15
 Ile Thr Gln Gly Ser Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu
 20 25 30
 5 Thr Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile
 35 40 45
 Thr Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro
 50 55 60
 Ser Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Tyr Tyr Gly Ser
 10 65 70 75 80
 Asp Thr Ala Gly Arg Ser Glu Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val
 85 90 95
 Thr Gly Ile Tyr Leu Ala Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val
 100 105 110
 15 Val Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala
 115 120 125
 Phe Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln
 130 135 140
 Cys Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe
 20 145 150 155 160
 Ser Val Gly Pro Val Ser Pro Ser Arg Arg Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr
 165 170 175
 Ala Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu
 180 185 190
 25 Leu Glu Leu Leu Val Leu
 195
 <210> 37
 <211> 198
 <212> PRT
 30 <213> Sequência Artificial
 <220>
 <223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos

<400> 37

Met Gly His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val

1 5 10 15

Ile Thr Gln Gly Ser Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu

5 20 25 30

Thr Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile

35 40 45

Thr Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro

50 55 60

10 Ser Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Tyr Tyr Gly Ser

65 70 75 80

Asp Thr Ala Gly Arg Ser Glu Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val

85 90 95

Thr Gly Ile Tyr Lys Ala Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val

15 100 105 110

Val Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala

115 120 125

Phe Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln

130 135 140

20 Cys Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe

145 150 155 160

Ser Val Gly Pro Val Ser Pro Ser Arg Arg Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr

165 170 175

Ala Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu

25 180 185 190

Leu Glu Leu Leu Val Leu

195

<210> 38

<211> 198

30 <212> PRT

<213> Sequência Artificial

<220>

<223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos

<400> 38

Met Gly His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val

1 5 10 15

5 Ile Thr Gln Gly Ser Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu

20 25 30

Thr Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile

35 40 45

Thr Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro

10 50 55 60

Ser Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Tyr Tyr Gly Ser

65 70 75 80

Asp Thr Ala Gly Arg Ser Glu Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val

85 90 95

15 Thr Gly Ile Tyr Gln Ala Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val

100 105 110

Val Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala

115 120 125

Phe Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln

20 130 135 140

Cys Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe

145 150 155 160

Ser Val Gly Pro Val Ser Pro Ser Arg Arg Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr

165 170 175

25 Ala Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu

180 185 190

Leu Glu Leu Leu Val Leu

195

<210> 39

30 <211> 198

<212> PRT

<213> Sequência Artificial

<220>

<223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos

<400> 39

Met Gly His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val

5 1 5 10 15

Ile Thr Gln Gly Ala Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu

20 25 30

Thr Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile

35 40 45

10 Thr Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro

50 55 60

Ser Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Tyr Tyr Gly Ser

65 70 75 80

Asp Thr Ala Gly Arg Ser Glu Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val

15 85 90 95

Thr Gly Val Tyr Ile Lys Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val

100 105 110

Val Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala

115 120 125

20 Phe Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln

130 135 140

Cys Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe

145 150 155 160

Ser Val Gly Pro Val Ser Pro Gly Arg Arg Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr

25 165 170 175

Ala Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu

180 185 190

Leu Glu Leu Leu Val Leu

195

30 <210> 40

<211> 198

<212> PRT

<213> Sequência Artificial

<220>

<223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos

<400> 40

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

30 195

<210> 41

<211> 198

<212> PRT

<213> Sequência Artificial

<220>

<223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos

5 <400> 41

Met Gly His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val

1 5 10 15

Ile Thr Val Gly Gln Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu

20 25 30

* 10 Thr Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile

35 40 45

Thr Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro

50 55 60

Ser Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Tyr Tyr Gly Ser

15 65 70 75 80

Asp Thr Ala Gly Arg Ser Glu Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val

85 90 95

Thr Gly Val Tyr Ile Lys Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val

100 105 110

20 Val Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala

115 120 125

Phe Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln

130 135 140

Cys Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe

25 145 150 155 160

Ser Val Gly Pro Val Ser Pro Gly Arg Arg Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr

165 170 175

Ala Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu

180 185 190

30 Leu Glu Leu Leu Val Leu

195

<210> 42

<211> 198

<212> PRT

<213> Sequência Artificial

<220>

5 <223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos

<400> 42

Met Gly His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val

1 5 10 15

Ile Thr Leu Gly Gln Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu

10 20 25 30

Thr Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile

35 40 45

Thr Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro

50 55 60

15 Ser Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Tyr Tyr Gly Ser

65 70 75 80

Asp Thr Ala Gly Arg Ser Glu Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val

85 90 95

Thr Gly Val Tyr Ile Lys Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val

20 100 105 110

Val Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala

115 120 125

Phe Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln

130 135 140

25 Cys Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe

145 150 155 160

Ser Val Gly Pro Val Ser Pro Gly Arg Arg Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr

165 170 175

Ala Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu

30 180 185 190

Leu Glu Leu Leu Val Leu

195

<210> 43

<211> 198

<212> PRT

<213> Sequência Artificial

5 <220>

<223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos

<400> 43

Met Gly His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val

1 5 10 15

10 Ile Thr Gln Gly Ser Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu

20 25 30

Thr Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile

35 40 45

Thr Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro

15 50 55 60

Ser Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Tyr Tyr Gly Ser

65 70 75 80

Asp Thr Ala Gly Arg Ser Glu Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val

85 90 95

20 Thr Gly Val Tyr Ile Lys Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val

100 105 110

Val Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala

115 120 125

Phe Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln

25 130 135 140

Cys Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe

145 150 155 160

Ser Val Gly Pro Val Ser Pro Gly Arg Arg Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr

165 170 175

30 Ala Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu

180 185 190

Leu Glu Leu Leu Val Leu

195

<210> 44

<211> 198

<212> PRT

5 <213> Sequência Artificial

<220>

<223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos

<400> 44

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

Leu Glu Leu Leu Val Leu

195

<210> 45

<211> 198

5 <212> PRT

<213> Sequência Artificial

<220>

<223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos

<400> 45

10 Met Gly His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val

1 5 10 15

Ile Thr Gln Gly Ser Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu

20 25 30

Thr Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile

15 35 40 45

Thr Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro

50 55 60

Ser Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Val Gly Trp Ala

65 70 75 80

20 Val Thr Ala Gly Arg Ser Glu Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val

85 90 95

Thr Gly Val Tyr Ile Lys Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val

100 105 110

Val Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala

25 115 120 125

Phe Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln

130 135 140

Cys Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe

145 150 155 160

30 Ser Val Gly Pro Val Ser Pro Ser Arg Arg Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr

165 170 175

Ala Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu

180 185 190
 Leu Glu Leu Leu Val Leu
 195
 <210> 46
 5 <211> 198
 <212> PRT
 <213> Sequência Artificial
 <220>
 <223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos
 10 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (170)..(170)
 <223> Xaa pode estar ocorrendo naturalmente algum aminoácido
 <400> 46
 15 Met Gly His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val
 1 5 10 15
 Ile Thr Gln Gly Ser Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu
 20 25 30
 Thr Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile
 20 35 40 45
 Thr Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro
 50 55 60
 Ser Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Ile Gly Arg Ser
 65 70 75 80
 25 Gln Thr Ala Gly Arg Ser Glu Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val
 85 90 95
 Thr Gly Val Tyr Ile Lys Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val
 100 105 110
 Val Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala
 30 115 120 125
 Phe Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln
 130 135 140

Cys Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe

145 150 155 160

Ser Val Gly Pro Val Ser Pro Ser Arg Xaa Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr

165 170 175

5 Ala Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu

180 185 190

Leu Glu Leu Leu Val Leu

195

<210> 47

10 <211> 198

<212> PRT

<213> Sequência Artificial

<220>

<223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos

15 <400> 47

Met Gly His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val

1 5 10 15

Ile Thr Gln Gly Ser Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu

20 25 30

20 Thr Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile

35 40 45

Thr Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro

50 55 60

Ser Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Tyr Tyr Gly Gly

25 65 70 75 80

Gln Glu Gly Ala Arg Ser Glu Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val

85 90 95

Thr Gly Val Tyr Ile Lys Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val

100 105 110

30 Val Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala

115 120 125

Phe Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln

130 135 140
 Cys Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe
 145 150 155 160
 Ser Val Gly Pro Val Ser Pro Ser Arg Arg Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr
 5 165 170 175
 Ala Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu
 180 185 190
 Leu Glu Leu Leu Val Leu
 195
 10 <210> 48
 <211> 198
 <212> PRT
 <213> Sequência Artificial
 <220>
 15 <223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos
 <400> 48
 Met Gly His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val
 1 5 10 15
 Ile Thr Gln Gly Ser Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu
 20 20 25 30
 Thr Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile
 35 40 45
 Thr Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro
 50 55 60
 25 Ser Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Gln Gly Val Ser
 65 70 75 80
 Gln Thr Ala Gly Arg Ser Glu Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val
 85 90 95
 Thr Gly Val Tyr Ile Lys Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val
 30 100 105 110
 Val Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala
 115 120 125

Phe Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln
 130 135 140
 Cys Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe
 145 150 155 160
 5 Ser Val Gly Pro Val Ser Pro Ser Arg Arg Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr
 165 170 175
 Ala Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu
 180 185 190
 Leu Glu Leu Leu Val Leu
 10 195
 <210> 49
 <211> 198
 <212> PRT
 <213> Sequência Artificial
 15 <220>
 <223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos
 <400> 49
 Met Gly His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val
 1 5 10 15
 20 Ile Thr Gln Gly Ser Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu
 20 25 30
 Thr Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Gln Ile
 35 40 45
 Thr Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro
 25 50 55 60
 Ser Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Tyr Tyr Gly Ser
 65 70 75 80
 Asp Thr Ala Gly Arg Ser Glu Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val
 85 90 95
 30 Thr Gly Val Tyr Val Ala Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val
 100 105 110
 Val Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala

115 120 125
 Phe Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln
 130 135 140
 Cys Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe
 5 145 150 155 160
 Ser Val Gly Pro Val Ser Pro Gly Arg Arg Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr
 165 170 175
 Ala Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu
 180 185 190
 10 Leu Glu Leu Leu Val Leu
 195
 <210> 50
 <211> 198
 <212> PRT
 15 <213> Sequência Artificial
 <220>
 <223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos
 <400> 50
 Met Gly His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val
 20 1 5 10 15
 Ile Thr Gln Gly Ser Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu
 20 25 30
 Thr Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile
 35 40 45
 25 Thr Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro
 50 55 60
 Ser Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Tyr Tyr Gly Ser
 65 70 75 80
 Asp Thr Ala Gly Arg Ser Glu Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val
 30 85 90 95
 Thr Gly Ile Tyr Lys Ala Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val
 100 105 110

Val Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala
 115 120 125
 Phe Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln
 130 135 140
 5 Cys Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe
 145 150 155 160
 Ser Val Gly Pro Val Ser Pro Gly Arg Arg Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr
 165 170 175
 Ala Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu
 10 180 185 190
 Leu Glu Leu Leu Val Leu
 195
 <210> 51
 <211> 198
 15 <212> PRT
 <213> Sequência Artificial
 <220>
 <223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos
 <400> 51
 20 Met Gly His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val
 1 5 10 15
 Ile Thr Gln Gly Ser Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu
 20 25 30
 Thr Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile
 25 35 40 45
 Thr Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro
 50 55 60
 Ser Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Tyr Tyr Gly Ser
 65 70 75 80
 30 Asp Thr Ala Gly Arg Ser Glu Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val
 85 90 95
 Thr Gly Ile Tyr Gln Arg Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val

100 105 110
 Val Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala
 115 120 125
 Phe Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln
 5 130 135 140
 Cys Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe
 145 150 155 160
 Ser Val Gly Pro Val Ser Pro Gly Arg Arg Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr
 165 170 175
 10 Ala Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu
 180 185 190
 Leu Glu Leu Leu Val Leu
 195
 <210> 52
 15 <211> 198
 <212> PRT
 <213> Sequência Artificial
 <220>
 <223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos
 20 <400> 52
 Met Gly His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val
 1 5 10 15
 Ile Thr Gln Gly Ser Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu
 20 25 30
 25 Thr Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile
 35 40 45
 Thr Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro
 50 55 60
 Ser Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Tyr Tyr Gly Ser
 30 65 70 75 80
 Asp Thr Ala Gly Arg Ser Glu Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val
 85 90 95

Thr Gly Ile Tyr Gln Ala Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val
 100 105 110
 Val Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala
 115 120 125
 5 Phe Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln
 130 135 140
 Cys Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe
 145 150 155 160
 Ser Val Gly Pro Val Ser Pro Gly Arg Arg Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr
 10 165 170 175
 Ala Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu
 180 185 190
 Leu Glu Leu Leu Val Leu
 195
 15 <210> 53
 <211> 198
 <212> PRT
 <213> Sequência Artificial
 <220>
 20 <223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos
 <400> 53
 Met Gly His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val
 1 5 10 15
 Ile Thr Gln Gly Ser Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu
 25 20 25 30
 Thr Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile
 35 40 45
 Thr Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro
 50 55 60
 30 Ser Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Tyr Tyr Gly Ser
 65 70 75 80
 Asp Thr Ala Gly Arg Ser Glu Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val

	85	90	95
	Thr Gly Ile Tyr Leu Gln Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val		
	100	105	110
	Val Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala		
5	115	120	125
	Phe Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln		
	130	135	140
	Cys Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe		
	145	150	155
10	Ser Val Gly Pro Val Ser Pro Gly Arg Arg Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr		
	165	170	175
	Ala Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu		
	180	185	190
	Leu Glu Leu Leu Val Leu		
15	195		
	<210> 54		
	<211> 198		
	<212> PRT		
	<213> Sequência Artificial		
20	<220>		
	<223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos		
	<400> 54		
	Met Gly His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val		
	1	5	10
25	Ile Thr Gln Gly Ser Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu		15
	20	25	30
	Thr Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile		
	35	40	45
	Thr Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro		
30	50	55	60
	Ser Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Tyr Tyr Gly Ser		
	65	70	75
			80

Asp Thr Ala Gly Arg Ser Glu Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val
 85 90 95
 Thr Gly Ile Tyr Lys Gln Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val
 100 105 110
 5 Val Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala
 115 120 125
 Phe Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln
 130 135 140
 Cys Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe
 10 145 150 155 160
 Ser Val Gly Pro Val Ser Pro Gly Arg Arg Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr
 165 170 175
 Ala Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu
 180 185 190
 15 Leu Glu Leu Leu Val Leu
 195
 <210> 55
 <211> 198
 <212> PRT
 20 <213> Sequência Artificial
 <220>
 <223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos
 <400> 55
 Met Gly His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val
 25 1 5 10 15
 Ile Thr Gln Gly Ser Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu
 20 25 30
 Thr Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile
 35 40 45
 30 Thr Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro
 50 55 60
 Ser Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Tyr Tyr Gly Ser

65 70 75 80
 Asp Thr Ala Gly Arg Ser Glu Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val
 85 90 95
 Thr Gly Ile Tyr Gln Lys Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val
 5 100 105 110
 Val Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala
 115 120 125
 Phe Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln
 130 135 140
 10 Cys Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe
 145 150 155 160
 Ser Val Gly Pro Val Ser Pro Ser Arg Arg Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr
 165 170 175
 Ala Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu
 15 180 185 190
 Leu Glu Leu Leu Val Leu
 195
 <210> 56
 <211> 198
 20 <212> PRT
 <213> Sequência Artificial
 <220>
 <223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos
 <400> 56
 25 Met Gly His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val
 1 5 10 15
 Ile Thr Met Asp Gln Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu
 20 25 30
 Thr Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile
 30 35 40 45
 Thr Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro
 50 55 60

Ser Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Tyr Tyr Gly Ser
 65 70 75 80
 Asp Thr Ala Gly Arg Ser Glu Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val
 85 90 95
 5 Thr Gly Ile Tyr Leu Ala Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val
 100 105 110
 Val Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala
 115 120 125
 Phe Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln
 10 130 135 140
 Cys Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe
 145 150 155 160
 Ser Val Gly Pro Val Ser Pro Ser Arg Arg Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr
 165 170 175
 15 Ala Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu
 180 185 190
 Leu Glu Leu Leu Val Leu
 195
 <210> 57
 20 <211> 198
 <212> PRT
 <213> Sequência Artificial
 <220>
 <223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos
 25 <400> 57
 Met Gly His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val
 1 5 10 15
 Ile Thr Leu Gly Gln Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu
 20 25 30
 30 Thr Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile
 35 40 45
 Thr Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro

50 55 60
 Ser Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Tyr Tyr Gly Ser
 65 70 75 80
 Asp Thr Ala Gly Arg Ser Glu Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val
 5 85 90 95
 Thr Gly Ile Tyr Leu Ala Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val
 100 105 110
 Val Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala
 115 120 125
 10 Phe Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln
 130 135 140
 Cys Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe
 145 150 155 160
 Ser Val Gly Pro Val Ser Pro Ser Arg Arg Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr
 15 165 170 175
 Ala Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu
 180 185 190
 Leu Glu Leu Leu Val Leu
 195
 20 <210> 58
 <211> 198
 <212> PRT
 <213> Sequência Artificial
 <220>
 25 <223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos
 <400> 58
 Met Gly His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val
 1 5 10 15
 Ile Thr Met Asp Gln Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu
 30 20 25 30
 Thr Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile
 35 40 45

Thr Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro
 50 55 60
 Ser Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Tyr Tyr Gly Ser
 65 70 75 80
 5 Asp Thr Ser Gln Trp Ser Ala Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val
 85 90 95
 Thr Gly Ile Tyr Leu Ala Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val
 100 105 110
 Val Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala
 10 115 120 125
 Phe Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln
 130 135 140
 Cys Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe
 145 150 155 160
 15 Ser Val Gly Pro Val Ser Pro Ser Arg Arg Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr
 165 170 175
 Ala Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu
 180 185 190
 Leu Glu Leu Leu Val Leu
 20 195
 <210> 59
 <211> 198
 <212> PRT
 <213> Sequência Artificial
 25 <220>
 <223> MGHLPKPTLWAEPGSVITMDQPVTLCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIPQELVKKGFPIPS
 ITWEHAGRYRCYYGSDTSQWSASSDPLELVVTGIYLAPTLAQSPVNVNSGGNVTLQCDSQVAFD
 GFILCKEGEDEHPQCLNSQPHARGSSRAIFSVGPVSPSRRWWYRCYAYDSNSPYEWSLPSDLLEL
 LVL
 30 <400> 59
 Met Gly His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val
 1 5 10 15

Ile Thr Leu Gly Gln Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu
 20 25 30
 Thr Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile
 35 40 45
 5 Thr Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro
 50 55 60
 Ser Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Tyr Tyr Gly Ser
 65 70 75 80
 Asp Thr Ser Gln Trp Ser Ala Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val
 85 90 95
 10 Thr Gly Ile Tyr Leu Ala Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val
 100 105 110
 Val Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala
 115 120 125
 15 Phe Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln
 130 135 140
 Cys Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe
 145 150 155 160
 Ser Val Gly Pro Val Ser Pro Ser Arg Arg Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr
 165 170 175
 20 Ala Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu
 180 185 190
 Leu Glu Leu Leu Val Leu
 195
 25 <210> 60
 <211> 198
 <212> PRT
 <213> Sequência Artificial
 <220>
 30 <223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos
 <400> 60
 Met Gly His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val

1 5 10 15
 Ile Thr Met Asp Gln Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu
 20 25 30
 Thr Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile
 5 35 40 45
 Thr Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro
 50 55 60
 Ser Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Ile Gly Arg Ser
 65 70 75 80
 10 Gln Thr Ser Gln Trp Ser Ala Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val
 85 90 95
 Thr Gly Ile Tyr Leu Ala Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val
 100 105 110
 Val Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala
 15 115 120 125
 Phe Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln
 130 135 140
 Cys Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe
 145 150 155 160
 20 Ser Val Gly Pro Val Ser Pro Ser Arg Arg Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr
 165 170 175
 Ala Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu
 180 185 190
 Leu Glu Leu Leu Val Leu
 25 195
 <210> 61
 <211> 198
 <212> PRT
 <213> Sequência Artificial
 30 <220>
 <223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos
 <400> 61

Met Gly His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val
 1 5 10 15
 Ile Thr Leu Gly Gln Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu
 20 25 30
 5 Thr Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile
 35 40 45
 Thr Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro
 50 55 60
 Ser Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Ile Gly Arg Ser
 10 65 70 75 80
 Gln Thr Ser Gln Trp Ser Ala Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val
 85 90 95
 Thr Gly Ile Tyr Leu Ala Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val
 100 105 110
 15 Val Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala
 115 120 125
 Phe Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln
 130 135 140
 Cys Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe
 20 145 150 155 160
 Ser Val Gly Pro Val Ser Pro Ser Arg Arg Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr
 165 170 175
 Ala Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu
 180 185 190
 25 Leu Glu Leu Leu Val Leu
 195
 <210> 62
 <211> 198
 <212> PRT
 30 <213> Sequência Artificial
 <220>
 <223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos

<400> 62

Met His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val Ile

1 5 10 15

Thr Met Asp Gln Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu Thr

5 20 25 30

Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile Thr

35 40 45

Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro Ser

50 55 60

10 Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Tyr Tyr Gly Ser Asp

65 70 75 80

Thr Ser Gln Trp Ser Ala Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val Thr

85 90 95

Gly Val Tyr Ile Lys Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val Val

15 100 105 110

Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala Phe

115 120 125

Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln Cys

130 135 140

20 Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe Ser

145 150 155 160

Val Gly Pro Val Ser Pro Ser Arg Arg Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr Ala

165 170 175

Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu Leu

25 180 185 190

Glu Leu Asp Val Asp Gly

195

<210> 63

<211> 198

30 <212> PRT

<213> Sequência Artificial

<220>

<223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos

<400> 63

Met His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val Ile

1 5 10 15

5 Thr Met Asp Gln Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu Thr

20 25 30

Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile Thr

35 40 45

Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro Ser

10 50 55 60

Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Tyr Tyr Gly Ser Asp

65 70 75 80

Thr Ser Gln Trp Ser Ala Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val Thr

85 90 95

15 Gly Val Tyr Ile Lys Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val Val

100 105 110

Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala Phe

115 120 125

Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln Cys

20 130 135 140

Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe Ser

145 150 155 160

Val Gly Pro Val Ser Pro Ser Arg Arg Trp Arg Tyr Arg Cys Tyr Ala

165 170 175

25 Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu Leu

180 185 190

Glu Leu Asp Val Asp Gly

195

<210> 64

30 <211> 198

<212> PRT

<213> Sequência Artificial

<220>

<223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos

<400> 64

Met His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val Ile

5 1 5 10 15

Thr Met Asp Gln Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu Thr

20 25 30

Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile Thr

35 40 45

10 Leu Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro Ser

50 55 60

Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Tyr Tyr Gly Ser Asp

65 70 75 80

Thr Ser Gln Trp Ser Ala Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val Thr

15 85 90 95

Gly Val Tyr Ile Lys Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val Val

100 105 110

Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala Phe

115 120 125

20 Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Gly His Pro Gln Cys

130 135 140

Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe Ser

145 150 155 160

Val Gly Pro Val Ser Pro Ser Arg Arg Trp Trp Tyr Trp Cys Tyr Ala

25 165 170 175

Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu Leu

180 185 190

Glu Leu Asp Val Asp Gly

195

30 <210> 65

<211> 198

<212> PRT

<213> Sequência Artificial

<220>

<223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos

<400> 65

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

30 195

<210> 66

<211> 198

<212> PRT

<213> Sequência Artificial

<220>

<223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos

5 <400> 66

Met His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val Ile

1 5 10 15

Thr Leu Gly Gln Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu Thr

20 25 30

10 Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile Thr

35 40 45

Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro Ser

50 55 60

Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Tyr Tyr Gly Ser Asp

15 65 70 75 80

Thr Ser Gln Trp Ser Ala Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val Thr

85 90 95

Gly Val Tyr Ile Lys Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val Val

100 105 110

20 Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala Phe

115 120 125

Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln Cys

130 135 140

Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe Ser

25 145 150 155 160

Val Gly Pro Val Ser Pro Ser Arg Arg Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr Ala

165 170 175

Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu Leu

180 185 190

30 Glu Leu Asp Val Asp Gly

195

<210> 67

<211> 198

<212> PRT

<213> Sequência Artificial

<220>

5 <223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos

<400> 67

Met His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val Ile

1 5 10 15

Thr Leu Gly Ser Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu Thr

10 20 25 30

Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile Thr

35 40 45

Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro Ser

50 55 60

15 Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Tyr Tyr Gly Ser Asp

65 70 75 80

Thr Ser Gln Trp Ser Ala Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val Thr

85 90 95

Gly Val Tyr Ile Lys Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val Val

20 100 105 110

Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala Phe

115 120 125

Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln Cys

130 135 140

25 Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe Ser

145 150 155 160

Val Gly Pro Val Ser Pro Ser Arg Arg Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr Ala

165 170 175

Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu Leu

30 180 185 190

Glu Leu Asp Val Asp Gly

195

<210> 68

<211> 198

<212> PRT

<213> Sequência Artificial

5 <220>

<223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos

<400> 68

Met His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val Ile

1 5 10 15

10 Thr Leu Arg Ser Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu Thr

20 25 30

Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile Thr

35 40 45

Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro Ser

15 50 55 60

Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Tyr Tyr Gly Ser Asp

65 70 75 80

Thr Ser Gln Trp Ser Ala Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val Thr

85 90 95

20 Gly Val Tyr Ile Lys Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val Val

100 105 110

Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala Phe

115 120 125

Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln Cys

25 130 135 140

Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe Ser

145 150 155 160

Val Gly Pro Val Ser Pro Ser Arg Arg Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr Ala

165 170 175

30 Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu Leu

180 185 190

Glu Leu Asp Val Asp Gly

195

<210> 69

<211> 198

<212> PRT

5 <213> Sequência Artificial

<220>

<223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos

<400> 69

Met His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val Ile

10 1 5 10 15

Thr Leu Gln Ser Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu Thr

20 25 30

Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile Thr

35 40 45

15 Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro Ser

50 55 60

Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Tyr Tyr Gly Ser Asp

65 70 75 80

Thr Ser Gln Trp Ser Ala Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val Thr

20 85 90 95

Gly Val Tyr Ile Lys Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val Val

100 105 110

Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala Phe

115 120 125

25 Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln Cys

130 135 140

Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe Ser

145 150 155 160

Val Gly Pro Val Ser Pro Ser Arg Arg Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr Ala

30 165 170 175

Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu Leu

180 185 190

Glu Leu Asp Val Asp Gly

195

<210> 70

<211> 198

5 <212> PRT

<213> Sequência Artificial

<220>

<223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos

<400> 70

10 Met His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val Ile

1 5 10 15

Thr Leu Glu Ser Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu Thr

20 25 30

Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile Thr

15 35 40 45

Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro Ser

50 55 60

Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Tyr Tyr Gly Ser Asp

65 70 75 80

20 Thr Ser Gln Trp Ser Ala Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val Thr

85 90 95

Gly Val Tyr Ile Lys Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val Val

100 105 110

Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala Phe

25 115 120 125

Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln Cys

130 135 140

Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe Ser

145 150 155 160

30 Val Gly Pro Val Ser Pro Ser Arg Arg Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr Ala

165 170 175

Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu Leu

180 185 190

Glu Leu Asp Val Asp Gly

195

<210> 71

5 <211> 198

<212> PRT

<213> Sequência Artificial

<220>

<223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos

10 <400> 71

Met His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val Ile

1 5 10 15

Thr Met Asp Gln Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu Thr

20 25 30

15 Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile Thr

35 40 45

Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro Ser

50 55 60

Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Tyr Tyr Gly Thr Gln

20 65 70 75 80

Thr Ala Gly Arg Ser Glu Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val Thr

85 90 95

Gly Val Tyr Ile Lys Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val Val

100 105 110

25 Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala Phe

115 120 125

Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln Cys

130 135 140

Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe Ser

30 145 150 155 160

Val Gly Pro Val Ser Pro Ser Arg Arg Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr Ala

165 170 175

Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu Leu

180

185

190

Glu Leu Asp Val Asp Gly

195

5 <210> 72

<211> 198

<212> PRT

<213> Sequência Artificial

<220>

10 <223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos

<400> 72

Met His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val Ile

1

5

10

15

Thr Met Asp Gln Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu Thr

15

20

25

30

Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile Thr

35

40

45

Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro Ser

50

55

60

20 Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Met Gln Tyr Thr Leu

65

70

75

80

Thr Ala Gly Arg Ser Glu Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val Thr

85

90

95

Gly Val Tyr Ile Lys Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val Val

25

100

105

110

Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala Phe

115

120

125

Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln Cys

130

135

140

30 Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe Ser

145

150

155

160

Val Gly Pro Val Ser Pro Ser Arg Arg Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr Ala

165 170 175
 Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu Leu
 180 185 190
 Glu Leu Asp Val Asp Gly
 5 195
 <210> 73
 <211> 198
 <212> PRT
 <213> Sequência Artificial
 10 <220>
 <223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos
 <400> 73
 Met His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val Ile
 1 5 10 15
 15 Thr Met Asp Gln Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu Thr
 20 25 30
 Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile Thr
 35 40 45
 Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro Ser
 20 50 55 60
 Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Val Ile Gln Arg Gly
 65 70 75 80
 Thr Ala Gly Arg Ser Glu Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val Thr
 85 90 95
 25 Gly Val Tyr Ile Lys Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val Val
 100 105 110
 Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala Phe
 115 120 125
 Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln Cys
 30 130 135 140
 Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe Ser
 145 150 155 160

Val Gly Pro Val Ser Pro Ser Arg Arg Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr Ala

165

170

175

Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu Leu

180

185

190

5 Glu Leu Asp Val Asp Gly

195

<210> 74

<211> 198

<212> PRT

10 <213> Sequência Artificial

<220>

<223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos

<400> 74

Met His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val Ile

15

1

5

10

15

Thr Met Asp Gln Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu Thr

20

25

30

Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile Thr

35

40

45

20 Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro Ser

50

55

60

Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Tyr Tyr Gly Gly Gln

65

70

75

80

Glu Gly Ala Arg Ser Glu Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val Thr

25

85

90

95

Gly Val Tyr Ile Lys Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val Val

100

105

110

Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala Phe

115

120

125

30 Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln Cys

130

135

140

Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe Ser

145 150 155 160
 Val Gly Pro Val Ser Pro Ser Arg Arg Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr Ala
 165 170 175
 Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu Leu
 5 180 185 190
 Glu Leu Asp Val Asp Gly
 195
 <210> 75
 <211> 198
 10 <212> PRT
 <213> Sequência Artificial
 <220>
 <223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos
 <400> 75
 15 Met His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val Ile
 1 5 10 15
 Thr Met Asp Gln Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu Thr
 20 25 30
 Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile Thr
 20 35 40 45
 Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro Ser
 50 55 60
 Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Tyr Tyr Gly Thr Gln
 65 70 75 80
 25 Thr Ser Gln Trp Ser Ala Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val Thr
 85 90 95
 Gly Val Tyr Ile Lys Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val Val
 100 105 110
 Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala Phe
 30 115 120 125
 Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln Cys
 130 135 140

Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe Ser
 145 150 155 160
 Val Gly Pro Val Ser Pro Ser Arg Arg Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr Ala
 165 170 175
 5 Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu Leu
 180 185 190
 Glu Leu Asp Val Asp Gly
 195
 <210> 76
 10 <211> 199
 <212> PRT
 <213> Sequência Artificial
 <220>
 <223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos
 15 <400> 76
 Met Gly His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val
 1 5 10 15
 Ile Thr Met Asp Gln Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu
 20 25 30
 20 Thr Gln Gln Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile
 35 40 45
 Thr Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro
 50 55 60
 Ser Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Tyr Tyr Gly Ser
 25 65 70 75 80
 Asp Thr Arg Gln Trp Ser Ala Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val
 85 90 95
 Thr Gly Val Tyr Ile Lys Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val
 100 105 110
 30 Val Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala
 115 120 125
 Phe Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Asp His Pro Gln

130 135 140
 Cys Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe
 145 150 155 160
 Ser Val Gly Pro Val Ser Pro Ser Arg Arg Trp Arg Tyr Arg Cys Tyr
 5 165 170 175
 Ala Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu
 180 185 190
 Leu Glu Leu Asp Val Asp Gly
 195
 10 <210> 77
 <211> 198
 <212> PRT
 <213> Sequência Artificial
 <220>
 15 <223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos
 <400> 77
 Met His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val Ile
 1 5 10 15
 Thr Met Asp Gln Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu Thr
 20 20 25 30
 Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile Thr
 35 40 45
 Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro Ser
 50 55 60
 25 Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Tyr Tyr Gly Ser Asp
 65 70 75 80
 Thr Ser Gln Trp Ser Ala Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val Thr
 85 90 95
 Gly Val Tyr Ile Lys Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val Val
 30 100 105 110
 Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala Phe
 115 120 125

Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln Cys

130

135

140

Asp Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe Ser

145

150

155

160

5 Val Gly Pro Val Ser Pro Ser Arg Arg Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr Ala

165

170

175

Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu Leu

180

185

190

Glu Leu Asp Val Asp Gly

10

195

<210> 78

<211> 198

<212> PRT

<213> Sequência Artificial

15

<220>

<223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos

<400> 78

Met His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val Ile

1

5

10

15

20 Thr Met Asp Gln Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu Thr

20

25

30

Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile Thr

35

40

45

Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro Ser

25

50

55

60

Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Tyr Tyr Gly Ser Asp

65

70

75

80

Thr Ser Gln Trp Ser Ala Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val Thr

85

90

95

30 Gly Val Tyr Ile Lys Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val Val

100

105

110

Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala Phe

115 120 125
 Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln Cys
 130 135 140
 Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Glu Phe Ser
 5 145 150 155 160
 Val Gly Pro Val Ser Pro Ser Arg Arg Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr Ala
 165 170 175
 Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu Leu
 180 185 190
 10 Glu Leu Asp Val Asp Gly
 195
 <210> 79
 <211> 198
 <212> PRT
 15 <213> Sequência Artificial
 <220>
 <223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos
 <400> 79
 Met His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val Ile
 20 1 5 10 15
 Thr Met Asp Gln Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu Thr
 20 25 30
 Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile Thr
 35 40 45
 25 Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro Ser
 50 55 60
 Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Tyr Tyr Gly Ser Asp
 65 70 75 80
 Thr Ser Gln Trp Ser Ala Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val Thr
 30 85 90 95
 Gly Val Tyr Ile Lys Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val Val
 100 105 110

Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala Phe
 115 120 125
 Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln Cys
 130 135 140
 5 Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe Ser
 145 150 155 160
 Val Gly Pro Val Ser Pro Ser Arg Arg Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr Ala
 165 170 175
 Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Asp Pro Ser Asp Leu Leu
 10 180 185 190
 Glu Leu Asp Val Asp Gly
 195
 <210> 80
 <211> 198
 15 <212> PRT
 <213> Sequência Artificial
 <220>
 <223> ILT-2 de dois domínios mutados polipeptídeos
 <400> 80
 20 Met His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val Ile
 1 5 10 15
 Thr Met Asp Gln Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Gly Gln Glu Thr
 20 25 30
 Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Pro Trp Ile Thr
 25 35 40 45
 Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Pro Ser
 50 55 60
 Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr Arg Cys Tyr Tyr Gly Ser Asp
 65 70 75 80
 30 Thr Ser Gln Trp Ser Ala Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val Thr
 85 90 95
 Gly Val Tyr Ile Lys Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val Val

	100		105		110
	Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala Phe				
	115		120		125
	Asp Gly Phe Ile Leu Ser Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln Ser				
5	130		135		140
	Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe Ser				
	145		150		155
	Val Gly Pro Val Ser Pro Ser Arg Arg Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr Ala				
	165		170		175
10	Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu Leu				
	180		185		190
	Glu Leu Asp Val Asp Gly				
	195				

REIVINDICAÇÕES

1. Polipeptídeo que tem a propriedade de ligação a uma dada pMHC Classe I caracterizado em que o dito polipeptídeo tem um K_D para a dita pMHC Classe I de menos do que ou igual a $1 \mu\text{M}$ e/ou tem "off rate" (k_{off}) para a dita dada molécula de pMHC Classe I de 2S^{-1} ou mais lento E o dito polipeptídeo tem pelo menos 45% de identidade e/ou 55% de similaridade com SEQ ID NO: 7 e o dito polipeptídeo inibe a ligação de CD8 a dada pMHC em um grau maior do que o polipeptídeo SEQ ID NO: 3.
2. Polipeptídeo de acordo com a reivindicação 1 que é uma molécula de ILT humana mutada.
3. Polipeptídeo de acordo com a reivindicação ou a reivindicação 2, em que o dito K_D ou k_{off} é/são conforme medido(s) por ressonância de plasmon de superfície.
4. Polipeptídeo de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, em que um ou mais dos aminoácidos que correspondem aos aminoácidos 10W, 19Q, 20G, 21S, 42K, 47W, 50R, 66I, 77Y, 78Y, 79G, 80S, 8 ID, 82T, 83A, 84G, 85R, 87E, 99A, 101I, 102K, 141E, 146L, 147N, 159I, 168S, 172W, 174R e 188L de SEQ ID NO: 3 é/são mutados.
5. Polipeptídeo de acordo com em qualquer uma das reivindicações anteriores, que compreende uma ou mais das seguintes mutações 10W→L, 19Q→M, 19Q→L, 19Q→V, 20G→D, 20G→M, 20G→Q, 20G→F, 20G→S, 20G→E, 20G→R, 21S→Q, 21S→R, 21S→A, 21S→S, 42K→R, 47W→Q, 50R→L, 66L→V, 77Y→V, 77Y→M, 77Y→I, 77Y→Q, 78Y→Q, 78Y→I, 78Y→G, 79G→Q, 79G→Y, 79G→W, 79G→R, 79G→V, 80S→R, 80S→T, 80S→G, 81D→G, 81D→Q, 81D→L, 81D→V, 82T→G, 82T→E, 83A→S, 83A→G, 83A→R, 84G→L, 84G→Q, 84G→A, 85R→W, 87E→A, 99A→I, 99A→Y, 101I→L, 101I→K, 101I→Q, 101→V, 102K→Q, 102K→A, 102K→R, 141E→G, 141E→D, 146L→D, 147N→S, 159I→E, 168S→G, 172W→R, 174R→W ou 188L→D usando a numeração de SEQ ID NO: 3.
6. Polipeptídeo de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, que compreende as mutações que correspondem a 19Q→M e 21→Q usando a numeração de SEQ ID NO: 3.

7. Polipeptídeo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, que compreende as mutações que correspondem a 19Q→M, 20G→D, 21S→Q, 99A→V e 168S→G usando a numeração de SEQ ID NO: 3.

5 8. Polipeptídeo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, que compreende as mutações que correspondem a 19Q→L, 20G→M, e 21S→Q usando a numeração de SEQ ID NO: 3.

9. Polipeptídeo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, que compreende as mutações que correspondem a 19Q→M, 20G→Q, 21S→R, 42K→R, e 146L→S usando a numeração de SEQ ID NO: 3.

10 10. Polipeptídeo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, que compreende as mutações que correspondem a 19Q→M, 20G→D, 21S→Q, 83A→S, 84G→Q, 85R→W, 87E→A e 99A→V usando a numeração de SEQ ID NO: 3.

15 11. Polipeptídeo de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, em que os aminoácidos que correspondem a um ou ambos de 135C ou 145C usando a numeração de SEQ ID NO: 3 é/são mutado(s) para S.

20 12. Polipeptídeo de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores que compreende aminoácidos que correspondem a pelo menos os aminoácidos 1-195 de SEQ ID NO: 3.

13. Polipeptídeo de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores que consiste em ou inclui qualquer uma das SEQ ID Nos: 6 a 9 ou 21 a 61.

25 14. Polipeptídeo de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores que consiste em ou inclui SEQ ID No: 16.

15. Polipeptídeo de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores que compreende uma ou mais mutação(ões) que aumenta(m) a solubilidade do polipeptídeo em relação a um polipeptídeo correspondente que não tem as ditas mutações.

30 16. Polipeptídeo de acordo com na reivindicação 15, em que pelo menos um aminoácido hidrofóbico exposto a solvente é substituído por um aminoácido carregado.

17. Polipeptídeo de acordo com na reivindicação 15 ou reivindicação 16, em que as ditas mutações estão dentro dos 6 aminoácidos C-terminais do polipeptídeo.

5 18. Polipeptídeo de acordo com em qualquer uma das reivindicações 15 a 17, em que os aminoácidos que correspondem a 196L e/ou 198L de SEQ ID NO: 3 são mutados para 196D e 198D respectivamente.

19. Polipeptídeo de acordo com qualquer uma das reivindicações 15 a 18, que compreende as mutações que correspondem a 19Q→M, 20G→D, 21S→Q, 83A→S, 84G→Q, 85R→W, 87E→A, 99A→V, 196L→D e
10 198L→D usando a numeração de SEQ ID NO: 3.

20. Polipeptídeo de acordo com qualquer uma das reivindicações 15 a 17 que consiste em ou inclui qualquer uma de SEQ ID Nos: 63 a 80.

21. Polipeptídeo de acordo com qualquer uma das reivindicações 14 a 19, que consiste em ou inclui SEQ ID Nos: 17 ou 62.
15

22. Polipeptídeo de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, que compreende um "sinalizador" na porção C-terminal do mesmo.

23. Polipeptídeo de acordo com a reivindicação 22, em que o
20 dito sinalizador é um resíduo de cisteína.

24. Polipeptídeo de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, em que o polipeptídeo está associado a pelo menos uma cadeia de polialquileno glicol.

25. Polipeptídeo de acordo com a reivindicação 24, em que a(s)
25 cadeia(s) de polialquileno glicol é/são ligada(s) covalentemente ao polipeptídeo.

26. Polipeptídeo de acordo com a reivindicação 24 ou reivindicação 25 em que a(s) cadeia(s) de polialquileno glicol compreende(m) pelo menos duas unidades de repetição de polialquileno glicol.

30 27. Polipeptídeo de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, associado a um agente terapêutico.

28. Polipeptídeo de acordo com a reivindicação 27, em que o

polipeptídeo é ligado covalentemente a um agente terapêutico.

29. Polipeptídeo de acordo com a reivindicação 28, em que o agente terapêutico é ligado covalentemente à terminação C do polipeptídeo.

30. Polipeptídeo de acordo com qualquer uma das reivindicações 27 a 29, em que o agente terapêutico é uma molécula imune efetora.

31. Polipeptídeo de acordo com a reivindicação 30, em que a molécula imune efetora é uma citocina.

32. Polipeptídeo de acordo com a reivindicação 31, em que a molécula imune efetora é IL-4, IL-10 ou IL-13.

33. Complexo multivalente que compreende pelo menos dois polipeptídeos como definidos em qualquer uma das reivindicações 1 a 32, o dito complexo multivalente tendo um K_D para uma dada pMHC Classe I de menos do que ou igual a $1\ \mu\text{M}$ e/ou "off rate" (k_{off}) para a dada pMHC Classe I de 2S^{-1} ou mais lento.

34. Complexo multivalente de acordo com a reivindicação 33, em que os polipeptídeos são ligados por uma cadeia de polímero não-peptídica ou uma sequência peptídica ligante.

35. Complexo multivalente de acordo com a reivindicação 33, em que a cadeia de polímero ou sequência peptídica ligante se estende entre os resíduos de aminoácidos de cada polipeptídeo que não estão localizados no domínio de ligação de pMHC Classe I dos polipeptídeos.

36. Complexo multivalente de acordo com a reivindicação 34 ou 35, no qual os polipeptídeos são ligados por uma cadeia de polialquilenoglicol ou um ligante peptídico derivado de um domínio de multimerização humano.

37. Complexo multivalente de acordo com a reivindicação 36, em que um radical espaçador de alquilenodivalente está localizado entre a cadeia de polialquilenoglicol e seu ponto de ligação a um polipeptídeo do complexo.

38. Complexo multivalente de acordo com a reivindicação 36 ou reivindicação 37, em que a cadeia de polialquilenoglicol compreende pelo menos duas unidades de repetição de polietilenglicol.

39. Complexo multivalente de acordo com em qualquer uma das reivindicações 33 a 38 que é um dímero ou um tetrâmero.

5 40. Complexo multivalente que compreende pelo menos dois polipeptídeos de acordo com qualquer uma das reivindicações 33 a 39 em que (i) pelo menos um do dito polipeptídeo está associado a um agente terapêutico de acordo com em qualquer uma das reivindicações 16 a 21.

41. Polipeptídeo ou complexo multivalente de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores que é solúvel.

10 42. Ácido nucléico isolado que codifica um polipeptídeo conforme reivindicado em qualquer uma das reivindicações 1 a 32.

43. Ácido nucléico isolado que codifica de acordo com a reivindicação 42 que foi adaptado para alto nível de expressão em uma célula hospedeira.

15 44. Vetor que incorpora um ácido nucléico de acordo com a reivindicação 42 ou 43.

45. Célula ou uma partícula isolada que apresenta pelo menos um polipeptídeo como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 21.

20 46. Composição farmacêutica que compreende um polipeptídeo como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 26, ou um complexo multivalente conforme reivindicado em qualquer uma das reivindicações 33 a 39, ou uma pluralidade de células ou partículas conforme reivindicadas na reivindicação 45, junto com um veículo farmacêuticamente aceitável.

25 47. Uso de um polipeptídeo como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 26, ou um complexo multivalente conforme reivindicado em qualquer uma das reivindicações 33 a 39, ou uma pluralidade de células ou partículas como reivindicado na reivindicação 45 na fabricação e um medicamento para o tratamento de doença autoimune, o dito medicamento sendo adaptado para administração parenteral.

30 48. Uso terapêutico de um polipeptídeo como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 26, ou um ou um complexo multivalente conforme reivindicado em qualquer uma das reivindicações 33 a 39, ou uma pluralidade de células ou partículas conforme reivindicado na reivindicação

45.

49. Composição farmacêutica que compreende um polipeptídeo como definido em qualquer uma das reivindicações 27 a 32, ou um complexo multivalente conforme reivindicado na reivindicação 40, junto com um veículo farmacêuticamente aceitável.

50. Uso de um polipeptídeo como definido em qualquer uma das reivindicações 27 a 32, ou um complexo multivalente conforme reivindicado na reivindicação 40 na fabricação de um medicamento para o tratamento de doença autoimune, o dito medicamento sendo adaptado para administração parenteral.

51. Uso terapêutico de um polipeptídeo como definido em qualquer uma das reivindicações 27 a 32, um complexo multivalente conforme reivindicado na reivindicação 40.

52. Método de tratamento de doença autoimune que compreende administrar a um indivíduo que sofre de tal doença autoimune uma quantidade eficaz de um polipeptídeo como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 26, um complexo multivalente conforme reivindicado em qualquer uma das reivindicações 33 a 39, ou uma pluralidade de células ou partículas conforme reivindicado na reivindicação 45.

53. Uso de um polipeptídeo como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 26, ou um complexo multivalente conforme reivindicado nas reivindicações 33 a 39, ou uma pluralidade de células ou partículas conforme reivindicado na reivindicação 45, no preparo de uma composição para o tratamento de doença autoimune.

54. Método de tratamento de doença autoimune que compreende administrar a um indivíduo que sofre de tal doença autoimune uma quantidade eficaz de um polipeptídeo como definido nas reivindicações 27 a 32 ou um complexo multivalente conforme reivindicado na reivindicação 40.

55. O uso de um polipeptídeo de acordo com em qualquer uma das reivindicações 27 a 32, ou um complexo multivalente como definido na reivindicação 40, no preparo de uma composição para o tratamento de doença autoimune.

56. Método de identificar uma variante de alta afinidade de uma dada molécula de ILT que tem a propriedade de ligação a uma dada pMHC Classe I CARACTERIZADO EM QUE o dito polipeptídeo tem um K_D para a dita dada pMHC Classe I de menos do que ou igual a $1\mu\text{M}$ e/ou tem "off rate" (k_{off}) para a dita dada molécula de pMHC Classe I de 2S^{-1} ou mais lento E que o dito polipeptídeo tem pelo menos 45% de identidade e/ou 55% de similaridade com SEQ ID NO: 7 e o dito polipeptídeo inibe a ligação de CD8 a dada pMHC em um grau maior do que o polipeptídeo SEQ ID NO: 3, o dito método compreendendo:

- 10 (i) A produção de uma biblioteca de moléculas de ILT que compreendem uma ou mais mutações na seqüência de aminoácido em comparação com a molécula de ILT selvagem correspondente; e
- (ii) Colocar as ditas moléculas de ILT mutadas em contato com uma pMHC Classe I alvo sob condições adequadas para permitir a ligação da molécula de ILT mutada a pMHC Classe I alvo; e
- 15 (iii) Medir o K_D e/ou k_{off} das interações; e
- (iv) Selecionar o(s) polipeptídeo(s) com as características de ligação desejadas.

57. Método de produzir um polipeptídeo como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 23 que compreende:

- 20 (i) transformar uma célula hospedeira com um vetor de acordo com na reivindicação 43; e
- (ii) cultivar as células transformadas sob condições adequadas para a expressão do polipeptídeo como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 23; e
- 25 (iii) recuperar o polipeptídeo expresso.

58. Método de acordo com a reivindicação 57, em que as células hospedeiras são células de *E. coli*.

59. Método de acordo com a reivindicação 57, em que as células hospedeiras são células de levedura.

60. Método de acordo com a reivindicação 57, em que as células hospedeiras são células de *Pichia pastoris*.

Fig. 1a

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

(SEQ ID NO: 1)

Fig. 1b

GAGGAGGAACAGAAAAGAAAAGAAAAGAAAAGTGGGAAACAAATAATCTAAGAATGA
GGAGAAAGCAAGAAGAGTGACCCCCCTTGTGGGCACTCCATTGGTTTTATGGCGCCTCT
ACTTTCTGGAGTTTGTGTAAAACAAAAATATTATGGTCTTTGTGCACATTTACATCAA
GCTCAGCCTGGGCGGCACAGCCAGATGCGAGATGCGTCTCTGCTGATCTGAGTCTGCC
TGCAGCATGGACCTGGGTCTTCCCTGAAGCATCTCCAGGGCTGGAGGGACGACTGCCA
TGCACCGAGGGCTCATCCATCCACAGAGCAGGGCAGTGGGAGGAGACGCCATGACCCC
CATCCTCACGGTCCTGATCTGTCTCGGGCTGAGTCTGGGCCCCCGGACCCACGTGCAG
GCAGGGCACCTCCCCAAGCCCACCCTCTGGGCTGAACCAGGCTCTGTGATCACCCAGG
GGAGTCCTGTGACCCTCAGGTGTCAGGGGGGGCCAGGAGACCCAGGAGTACCGTCTATA
TAGAGAAAAGAAAACAGCACCCCTGGATTACACGGATCCACAGGAGCTTGTGAAGAAG
GGCCAGTTCCCCATCCCATCCATCACCTGGGAACATGCAGGGCGGTATCGCTGTTACT
ATGGTAGCGACACTGCAGGGCCGCTCAGAGAGCAGTGACCCCCCTGGAGCTGGTGGTGAC
AGGAGCCTACATCAAACCCACCCTCTCAGCCCAGCCCAGCCCCGTGGTGAACCTCAGGA
GGGAATGTAACCCTCCAGTGTGACTCACAGGTGGCATTGTGATGGCTTCATTCTGTG
TAAGGAAGGAGAAGATGAACACCCACAATGCCTGAACTCCCAGCCCCATGCCCGTGGG
TCGTCCCGCGCCATCTTCTCCGTGGGCCCCGTGAGCCCGAGTCGCAGGTGGTGGTACA
GGTGCTATGCTTATGACTCGAACTCTCCCTATGAGTGGTCTCTACCCAGTGATCTCCT
GGAGCTCCTGGTCCTAGGTGTTTCTAAGAAGCCATCACTCTCAGTGCAGCCAGGTC
CTATCGTGGCCCCCTGAGGAGACCCTGACTCTGCAGTGTGGCTCTGATGCTGGCTACAA
CAGATTTGTTCTGTATAAGGACGGGGAACGTGACTTCCTTCAGCTCGCTGGCGCACAG
CCCCAGGCTGGGCTCTCCCAGGCCAACTTCACCCTGGGCCCTGTGAGCCGCTCCTACG
GGGGCCAGTACAGATGCTACGGTGCACACAACCTCTCCTCCGAGTGGTCGGCCCCCAG
CGACCCCCTGGACATCCTGATCGCAGGACAGTTCTATGACAGAGTCTCCCTCTCGGTG
CAGCCGGGCCCCACGGTGGCCTCAGGAGAGAACGTGACCCTGCTGTGTGAGTCACAGG
GATGGATGCAAACCTTTCCTTCTGACCAAGGAGGGGGCAGCTGATGACCCATGGCGTCT
AAGATCAACGTACCAATCTCAAAAATACCAGGCTGAATTCCCCATGGGTCTGTGACC
TCAGCCCATGCGGGGACCTACAGGTGCTACGGCTCACAGAGCTCCAAACCCTACCTGC
TGACTCACCCCAGTGACCCCCTGGAGCTCGTGGTCTCAGGACCGTCTGGGGGCCCCAG
CTCCCCGACAACAGGCCCCACCTCCACATCTGGCCCTGAGGACCAGCCCCCTACCCCC
ACCGGGTCGGATCCCCAGAGTGGTCTGGGAAGGCACCTGGGGGTGTGTGATCGGCATCT
TGGTGGCCGTCATCCTACTGCTCCTCCTCCTCCTCCTCCTCCTCCTCCTCCTCCTCCT
TCGACGTCAGGGCAAACACTGGACATCGACCCAGAGAAAGGCTGATTTCCAACATCCT
GCAGGGGCTGTGGGGCCAGAGCCCACAGACAGAGGCCTGCAGTGGAGGTCCAGCCCAG
CTGCCGATGCCCAGGAAGAAAACCTCTATGCTGCCGTGAAGCACACACAGCCTGAGGA
TGGGGTGGAGATGGACACTCGGAGCCCACACGATGAAGACCCCCAGGCAGTGACGTAT
GCCGAGGTGAAACACTCCAGACCTAGGAGAGAAATGGCCTCTCCTCCTTCCCCACTGT
CTGGGGAATTCTGACACAAAGGACAGACAGGCGGAAGAGGACAGGCAGATGGACAC
TGAGGCTGCTGCATCTGAAGCCCCCAGGATGTGACCTACGCCAGCTGCACAGCTTG
ACCCTTAGACGGAAGGCAACTGAGCCTCCTCCATCCCAGGAAGGGCCCTCTCCAGCTG
TGCCAGCATCTACGCCACTCTGGCCATCCACTAGCCCAGGGGGGGACGCAGACCCCA

Fig. 1b (Cont.)

CACTCCATGGAGTCTGGAATGCATGGGAGCTGCCCCCCCAGTGGACACCATTGGACCC
CACCCAGCCTGGATCTACCCCAGGAGACTCTGGGAACTTTTAGGGGTCACTCAATTCT
GCAGTATAAATAACTAATGTCTCTACAATTTTGAAATAAAGCAACAGACTTCTCAATA
ATCAATGAAGTAGCTGAGAAAATAAGTCAGAAAGTGCATTAACTGAATCACAATGT
AAATATTACACATCAAGCGATGAACTGGAAAATAACAAGCCACGAATGAATGAATTA
GGAAAGAAAAAAGTAGGAAATGAATGATCTTGGCTTTCCTATAAGAAATTTAGGGCA
GGGCACGGTGGCTCACGCCTGTAATTCCAGCACTTTGGGAGGCCGAGGCGGGCAGATC
ACGAGTTCAGGAGATCGAGACCATCTTGGCCAACATGGTGAAACCCTGTCTCTCCTAA
AAATACAAAAATTAGCTGGATGTGGTGGCAGTGCCTGTAATCCCAGCTATTTGGGAGG
CTGAGGCAGGAGAATCGCTTGAACCAGGGAGTCAGAGGTTTCAGTGAGCCAAGATCGC
ACCACTGCTCTCCAGCCTGGCGACAGAGGGAGACTCCATCTCAAATTAAAAAAAAAAAA
AAAAAAGAAAGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

(SEQ ID NO: 2)

Fig. 2a

1		10		20															
*		*		*															
M	G	H	L	P	K	P	T	L	W	A	E	P	G	S	V	I	T	Q	G
									30										40
									*										*
S	P	V	T	L	R	C	Q	G	G	Q	E	T	Q	E	Y	R	L	Y	R
									50										60
									*										*
E	K	K	T	A	P	W	I	T	R	I	P	Q	E	L	V	K	K	G	Q
									70										80
									*										*
F	P	I	P	S	I	T	W	E	H	A	G	R	Y	R	C	Y	Y	G	S
									90										100
									*										*
D	T	A	G	R	S	E	S	S	D	P	L	E	L	V	V	T	G	A	Y
									110										120
									*										*
I	K	P	T	L	S	A	Q	P	S	P	V	V	N	S	G	G	N	V	T
									130										140
									*										*
L	Q	C	D	S	Q	V	A	F	D	G	F	I	L	C	K	E	G	E	D

Fig. 2a (Cont.)

									150											160
									*											*
E	H	P	Q	C	L	N	S	Q	P	H	A	R	G	S	S	R	A	I	F	
									170											180
									*											*
S	V	G	P	V	S	P	S	R	R	W	W	Y	R	C	Y	A	Y	D	S	
									190											
									*											
N	S	P	Y	E	W	S	L	P	S	D	L	L	E	L	L	V	L			

(SEQ ID NO: 3)

Fig. 2b

ATGGGGCACCTCCCCAAGCCCACCCTCTGGGCTGAACCAGGCTCTGTGATCACCCAGG
GGAGTCCTGTGACCCTCAGGTGTCAGGGGGGCCAGGAGACCCAGGAGTACCGTCTATA
TAGAGAAAAGAAAACAGCACCTGGATTACACGGATCCCACAGGAGCTTGTGAAGAAG
GGCCAGTTCCCCATCCCATCCATCACCTGGGAACATGCAGGGCGGTATCGCTGTTACT
ATGGTAGCGACACTGCAGGCCGCTCAGAGAGCAGTGACCCCCTGGAGCTGGTGGTGAC
AGGAGCCTACATCAAACCCACCCTCTCAGCCCAGCCCAGCCCCGTGGTGAACCTCAGGA
GGGAATGTAACCCTCCAGTGTGACTCACAGGTGGCATTGATGGCTTCATTCTGTGTA
AGGAAGGAGAAGATGAACACCCACAATGCCTGAACTCCCAGCCCCATGCCCCGTGGGTC
GTCCCGCGCCATCTTCTCCGTGGGCCCCGTGAGCCCGAGTCGCAGGTGGTGGTACAGG
TGCTATGCTTATGACTCGAACTCTCCCTATGAGTGGTCTCTACCCAGTGATCTCCTGG
AGCTCCTGGTCCTAGCGGCCGCAGGTGGCGGTACTAGTACTGTTGAAAGTTGTTTAGC
AAAACCCCATACAGAAAATTCATTTACTAACGTCTGGAAAGACGACAAAACCT
(SEQ ID NO: 4)

Fig. 3

TATACATATG_GGTCATCTTCCAAAACCAACTCTCTGGGCTGAACCAGGCTC
TGTGATCACCCAGGGGAGTCCTGTGACCCTCAGGTGTCAGGGGGGGCCAGG
AGACCCAGGAGTACCGTCTATATAGA GAAAAGAAAACAGCACCCCTGGATT
ACACGGATCCACAGGAGCTTGTGAAGAAGGGCCAGTTCCCCATCCCATC
CATCACCTGGGAACATGCAGGGCGGTATCGCTGTTACTATGGTAGCGACA
CTGCAGGCCGCTCAGAGAGCAGTGACCCCTGGAGCTGGTGGTGACAGGA
GCCTACATCAAACCCACCCTCTCAGCCCAGCCCAGCCCCGTGGTGAACCTCA
GGAGGGAATGTAACCCTCCAGTGTGA CTCACAGGTGGCATTGATGGCTTC
ATTCTGTGTAAGGAAGGAGAAGATG AACACCCACAATGCCTGAACTCCCA
GCCCCATGCCCGTGGGTCTG TCCCGCGCCATCTTCTCCGTGGGCCCCGTGAG
CCCGAGCCGCAGGTGGTGGTACAGGTGCTATGCTTATGACTCGAACTCTCC
CTATGAGTGGTCTCTACCCAGTGATCTCCTGGAGCTCCTGGTCCTATAAGC_
TTGAATTCC
(SEQ ID NO: 5)

Fig. 4a

MGHLPKPTLWAEPGSVITM[GQ]PVTLCRCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIP
 QELVKKKGQFPIPSITWEHAGRYRCYYGSDTAGRSESSDPLELVVTGAYIKPTLS
 AQPSPVVNSGGNVTLCQDSQVAFDGFILCKEGEDEHPQCLNSQPHARGSSRAI
 FSVGVPSPSRRWYRCYAYDSNSPYEWSLPSDLLELLVL
 (SEQ ID NO: 6)

Fig. 4b

MGHLPKPTLWAEPGSVITMDQ]PVTLCRCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIP
 QELVKKKGQFPIPSITWEHAGRYRCYYGSDTAGRSESSDPLELVVTGVYIKPTLS
 AQPSPVVNSGGNVTLCQDSQVAFDGFILCKEGEDEHPQCLNSQPHARGSSRAI
 FSVGVPSPGRRRWYRCYAYDSNSPYEWSLPSDLLELLVL
 (SEQ ID NO: 7)

Fig. 4c

MGHLPKPTLWAEPGSVITLMQ]PVTLCRCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIPQ
 ELVKKKGQFPIPSITWEHAGRYRCYYGSDTAGRSESSDPLELVVTGAYIKPTLSA
 QPSPVVNSGGNVTLCQDSQVAFDGFILCKEGEDEHPQCLNSQPHARGSSRAIFS
 VGPVSPSRRWYRCYAYDSNSPYEWSLPSDLLELLVL
 (SEQ ID NO: 8)

Fig. 4d

MGHLPKPTLWAEPGSVITMQRP]VTLCRCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIPQ
 ELVKKKGQFPIPSITWEHAGRYRCYYGSDTAGRSESSDPLELVVTGAYIKPTLSA
 QPSPVVNSGGNVTLCQDSQVAFDGFILCKEGEDEHPQCLSSQPHARGSSRAIFS
 VGPVSPSRRWYRCYAYDSNSPYEWSLPSDLLELLVL
 (SEQ ID NO: 9)

Fig. 5a

TATACATATG GGTTCATCTTCCAAAACCAACTCTCTGGGCTGAACCAGGCTC
TGTGATCACCATGGGGCAGCCTGTGACCCTCAGGTGTCAGGGGGGGCCAGG
AGACCCAGGAGTACCGTCTATATAGA GAAAAGAAAACAGCACCCCTGGATT
ACACGGATCCACAGGAGCTTGTGAAGAAGGGCCAGTTCCCCATCCCATC
CATCACCTGGGAACATGCAGGGCGGTATCGCTGTTACTATGGTAGCGACA
CTGCAGGCCGCTCAGAGAGCAGTGACCCCTGGAGCTGGTGGTGACAGGA
GCCTACATCAAACCCACCCTCTCAGCCCAGCCCAGCCCCGTGGTGAACCTCA
GGAGGGAATGTAACCCTCCAGTGTGA CTCACAGGTGGCATTGATGGCTTC
ATTCTGTGTAAGGAAGGAGAAGATG AACACCCACAATGCCTGAACTCCCA
GCCCCATGCCCCGTGGGTGCTCCCGCGCCATCTTCTCCGTGGGCCCCGTGAG
CCCGAGTCGCAGGTGGTGGTACAGGTGCTATGCTTATGACTCGAACTCTCC
CTATGAGTGGTCTCTACCCAGTGATCTCCTGGAGCTCCTGGTCCTATAAGC
TTGAATTCC
(SEQ ID NO: 10)

Fig. 5b

TATACATATG GGTTCATCTTCCAAAACCAACTCTCTGGGCTGAACCAGGCTC
TGTGATCACCATGGATCAACCTGTGACCCTCAGGTGTCAGGGGGGGCCAGG
AGACCCAGGAGTACCGTCTATATAGA GAAAAGAAAACAGCACCCCTGGATT
ACACGGATCCACAGGAGCTTGTGAAGAAGGGCCAGTTCCCCATCCCATC
CATCACCTGGGAACATGCAGGGCGGTATCGCTGTTACTATGGTAGCGACA
CTGCAGGCCGCTCAGAGAGCAGTGACCCCTGGAGCTGGTGGTGACAGGA
GTCTACATCAAACCCACCCTCTCAGCCCAGCCCAGCCCCGTGGTGAACCTCA
GGAGGGAATGTAACCCTCCAGTGTGA CTCACAGGTGGCATTGATGGCTTC
ATTCTGTGTAAGGAAGGAGAAGATG AACACCCACAATGCCTGAACTCCCA
GCCCCATGCCCCGTGGGTGCTCCCGCGCCATCTTCTCCGTGGGCCCCGTGAG
CCCGGGTTCGCAGGTGGTGGTACAGGTGCTATGCTTATGACTCGAACTCTCC
CTATGAGTGGTCTCTACCCAGTGATCTCCTGGAGCTCCTGGTCCTATAAGC
TTGAATTCC
(SEQ ID NO: 11)

Fig. 5c

TATACATATG GGTCATCTTCCAAAACCAACTCTCTGGGCTGAACCAGGCTC
TGTGATCACCCTGATGCAACCCTGTGA CCCTCAGGTGTCAGGGGGGGCCAGG
AGACCCAGGAGTACCGTCTATATAGA GAAAAGAAAACAGCACCCCTGGATT
ACACGGATCCACAGGAGCTTGTGAAGAAGGGCCAGTTCCCCATCCCATC
CATCACCTGGGAACATGCAGGGGCGGTATCGCTGTTACTATGGTAGCGACA
CTGCAGGCCGCTCAGAGAGCAGTGACCCCTGGAGCTGGTGGTGACAGGA
GCCTACATCAAACCCACCCTCTCAGCCCAGCCCAGCCCCGTGGTGAAGTCA
GGAGGGAATGTAACCCTCCAGTGTGA CTCACAGGTGGCATTGATGGCTTC
ATTCTGTGTAAGGAAGGAGAAGATG AACACCCACAATGCCTGAAGTCCCA
GCCCCATGCCCCGTGGGTTCGTCGCGCCATCTTCTCCGTGGGCCCCGTGAG
CCCGAGCCGCAGGTGGTGGTACAGGTGCTATGCTTATGACTCGAACTCTCC
CTATGAGTGGTCTCTACCCAGTGATCTCCTGGAGCTCCTGGTCCTATAAGC
TTGAATTCC
(SEQ ID NO: 12)

Fig. 5d

TATACATATG GGTCATCTTCCAAAACCAACTCTCTGGGCTGAACCAGGCTC
TGTGATCACCATGCAGCGGCCTGTGACCCTCAGGTGTCAGGGGGGGCCAGG
AGACCCAGGAGTACCGTCTATATAGA GAAAGGAAAACAGCACCCCTGGATT
ACACGGATCCACAGGAGCTTGTGAAGAAGGGCCAGTTCCCCATCCCATC
CATCACCTGGGAACATGCAGGGGCGGTATCGCTGTTACTATGGTAGCGACA
CTGCAGGCCGCTCAGAGAGCAGTGACCCCTGGAGCTGGTGGTGACAGGA
GCCTACATCAAACCCACCCTCTCAGCCCAGCCCAGCCCCGTGGTGAAGTCA
GGAGGGAATGTAACCCTCCAGTGTGA CTCACAGGTGGCATTGATGGCTTC
ATTCTGTGTAAGGAAGGAGAAGATG AACACCCACAATGCCTGAGCTCCCA
GCCCCATGCCCCGTGGGTTCGTCGCGCCATCTTCTCCGTGGGCCCCGTGAG
CCCGAGTCGCAGGTGGTGGTACAGGTGCTATGCTTATGACTCGAACTCTCC
CTATGAGTGGTCTCTACCCAGTGATCTCCTGGAGCTCCTGGTCCTATAAGC
TTGAATTCC
(SEQ ID NO: 13)

Fig. 6

GATCTCGATCCCGCGAAATTAATACGACTCACTATAGGGAGACCACAACG
 GTTTCCTCTAGAAATAATTTTGTTTAA CTTTAAGAAGGAGATATACATAT
 GGGATCCATGGTAAGCTTGAATTCCGATCCGGCTGCTAACAAAGCCCGAA
 AGGAAGCTGAGTTGGCTGCTGCCACCGCTGAGCAATAACTAGCATAACCC
 CTTGGGGCCTCTAAACGGGTCTTGAGGGGTTTTTTGCTGAAAGGAGGAACT
 ATATCCGGATAATTCTTGAAGACGAA AGGGCCTCGTGATACGCCTATTTTT
 ATAGGTTAATGTCATGATAATAATGGTTTCTTAGACGTCAGGTGGCACTTT
 TCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTA TTTGTTTATTTTTCTAAATACATTC
 AAATATGTATCCGCTCATGAGACAATAACCCTGATAAATGCTTCAATAATA
 TTTTGTAAAATTCGCGTTAAATTTTTG TAAATCAGCTCATTTTTTAACCA
 ATAGGCCGAAATCGGCAAAATCCC TTATAAATCAAAAGAATAGACCGAGA
 TAGGGTTGAGTGTTGTTCCAGTTTGGAACAAGAGTCCACTATTAAAGAACG
 TGGACTCCAACGTCAAAGGGCGAAAAACCGTCTATCAGGGCGATGGCCCA
 CTACGTGAACCATCACCTAATCAAGT TTTTGGGGTCGAGGTGCCGTAAA
 GCACTAAATCGGAACCCTAAAGGG AGCCCCGATTAGAGCTTGACGGGG
 AAAGCCGGCGAACGTGGCGAGAAAGGAAGGGAAGAAAGCGAAAGGAGC
 GGGCGCTAGGGCGCTGGCAAGTGTAGCGGTCACGCTGCGCGTAACCACCA
 CACCCGCCGCGCTTAATGCGCCG CTACAGGGCGCGTCAGGTGGCACTTTTC
 GGGGAAATGTGCGCGGAACCCCT ATTTGTTTATTTTTCTAAATACATTCAA
 ATATGTATCCGCTCATGAGACAATAACCCTGATAAATGCTTCAATAATATT
 GAAAAAGGAAGAGTATGAGTATTCAACATTTCCGTGTCGCCCTTATTCCCT
 TTTTTCGCGGCATTTTGCCTTCCTGTTTTT GTCACCCAGAAACGCTGGTGAA
 AGTAAAAGATGCTGAAGATCAGTTG GGTGCACGAGTGGGTACATCGAAC
 TGGATCTCAACAGCGGTAAGATCCTTGAGAGTTTTCGCCCCGAAGAACGTT
 TTCCAATGATGAGCACTTTTAAAGTTCTG CTATGTGGCGCGGTATTATCCC
 GTGTTGACGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTGCGGCATACACTATTCTCAG
 AATGACTTGTTGAGTACTACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGG
 CATGACAGTAAGAGAATTATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACA
 CTGCGGCCAACTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACC
 GCTTTTTTGCACAACATGGGGGATCATGTAATC GCCTTGATCGTTGGGAA
 CCGGAGCTGAATGAAGCCATACCAAACGACGAGCGTGACACCACGATGCC
 TGCAGCAATGGCAACAACGTTGCGCAAACTATTAAGTGGCGAACTACTTA
 CTCTAGCTTCCCGGCAACAATTAAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTT
 GCAGGACCACTTCTGCGCTCGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGAT
 AAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGGTCTCGCGGTATCATTGCAGCACTGGG
 GCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACGACGGGGAGTCA
 GGCAACTATGGATGAACGAAATAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCAC
 TGATTAAGCATTGGTAAGTGCAGA CCAAGTTTACTCATATATACTTTAGA
 TTGATTTAAACTTCATTTTTTAATTT AAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTT
 TGATAATCTCATGACCAAAATCCCTTAACGTGAGTTTTTCGTTCCACTGAGC
 GTCAGACCCCGTAGAAAAGAT CAAAGGATCTTC TTGAGATCCTTTTTTTCT

Fig. 6 (Cont)

GCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGG
TTTGTTTGCCGGATCAAGAGCTACC AACTCTTTTTCCGAAGGTAAGTGGCT
TCAGCAGAGCGCAGATACCAAATACTGTCCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAG
GCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAA
TCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTTACCGGGT
TGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTCGGGCTGAACG
GGGGGTTCGTGCACACAGCCCAGCTTGAGCGAACGACCTACACCGAACT
GAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAG AAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGA
GAAAGGCGGACAGGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCG
CACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAACGCCTGGTATCTTTATAGTCCTGTCGG
GTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGG
GCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGC AACGCGGCCTTTTTACGGTTCCTGG
CCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGTTCTTTCCTGCGTTATCCCCTGATTCT
GTGGATAACCGTATTACCGCCTTTGAG TGAGCTGATACCGCTCGCCGCAGC
CGAACGACCGAGCGCAGCGAGTCAGTGAGCGAGGAAGCGGAAGAGCGCC
TGATGCGGTATTTTCTCCTTACGCATC TGTGCGGTATTTACACCGCAATGG
TGCACTCTCAGTACAATCTGCTCTGATGCCGCATAGTTAAGCCAGTATACA
CTCCGCTATCGCTACGTGACTGGGT CATGGCTGCGCCCCGACACCCGCCAA
CACCCGCTGACGCGCCCTGACGGGCTTGTCTGCTCCCGGCATCCGCTTACA
GACAAGCTGTGACCGTCTCCGGGAGCTGCATGTGTCAGAGGTTTTACCGT
CATCACCGAAACGCGCGAGGCAG

(SEQ ID NO: 14)

Fig. 7

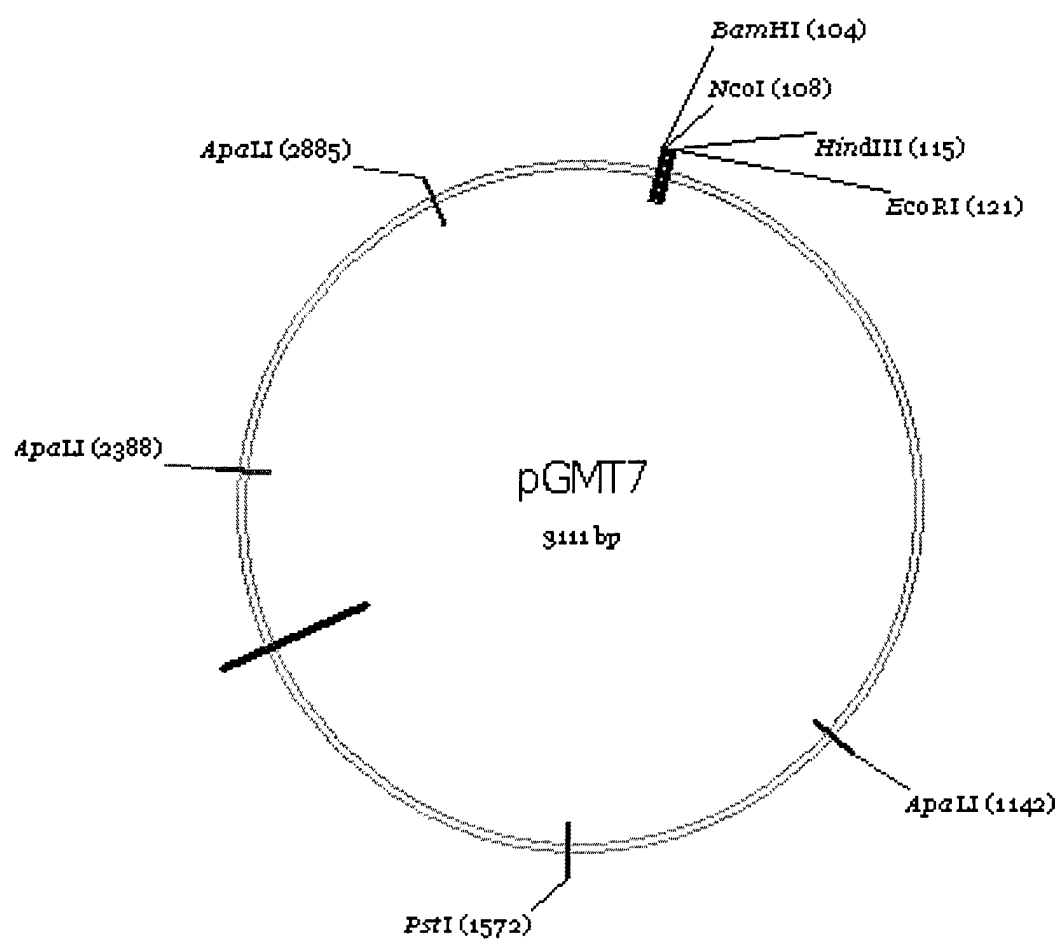


Fig. 8a

MGHLPKPTLWAEPGSVITMDQPVTLCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIP
QELVKKGQFPIPSITWEHAGRYRCYYGSDTSQWSASSDPLELVVTGVYIKPTL
SAQSPVVNSGGNVTLCDSQVAFDGFILCKEGEDEHPQCLNSQPHARGSSRA
IFS VGPVSPSRWWYRCYAYDSNSPYEWSLPSDLLELLVL
(SEQ ID NO: 16)

Fig. 8b

MHLPKPTLWAEPGSVITMDQPVTLCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIPQE
LVKKGQFPIPSITWEHAGRYRCYYGSDTSQWSASSDPLELVVTGVYIKPTLSA
QPSPVVNSGGNVTLCDSQVAFDGFILCKEGEDEHPQCLNSQPHARGSSRAIFS
VGPVSPSRWWYRCYAYDSNSPYEWSLPSDLLELDVDG
(SEQ ID NO: 17)

Fig. 8c

MHLPKPTLWAEPGSVITMDQPVTLCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIPQE
LVKKGQFPIPSITWEHAGRYRCYYGSDTSQWSASSDPLELVVTGVYIKPTLSA
QPSPVVNSGGNVTLCDSQVAFDGFILCKEGEDEHPQCLNSQPHARGSSRAIFS
VGPVSPSRWWYRCYAYDSNSPYEWSLPSDLLELDVDGC
(SEQ ID NO: 18)

Fig. 9a

tacgtaatgggtcatcttccaaaaccaactctctgggctgaaccaggctctgtgatca
ccatggatcagcctgtgaccctcaggtgtcaggggggcccaggagaccaggagtaccg
tctatatagagaaaagaaaacagcacccctggattacacggatcccacaggagcttgtg
aagaagggccagttcccatcccatccatcacctgggaacatgcagggcggtatcgct
gttactatggtagcgacactagtcaatggtcggcgagcagtgacccccctggagctggg
ggtgacaggagtctacatcaaaccaccctctcagcccagcccagccccgtgggtaac
tcaggaggggaatgtaaccctccagtggtgactcacagggtggcatttgatggcttcattc
tgtgtaaggaaggagaagatgaacaccacaaatgcctgaactcccagccccatgcccg
tgggtcgtcccgcgccatcttctcgtgggccccgtgagcccagtcgcaggtgggtgg
tacagggtgctatgcttatgactcgaactctccctatgagtggtctctaccagtgatc
tcctggagctcctggtcctatgttaagcggccgc

(SEQ ID NO: 19)

Fig. 9b

MGHLPKPTLWAEPSVITMDQPVTLCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIP
QELVKKGQFPIPSITWEHAGRYRCYYGSDTSQWSASSDPLELVVTGVYIKPTL
SAQPSPVVNSGGNVTLQCDSQVAFDGFILCKEGEDEHPQCLNSQPHARGSSRA
IFS VGPVSPSRWWYRCYAYDSNSPYEWSLPSDLLELLVLC

(SEQ ID NO: 20)

Fig. 10

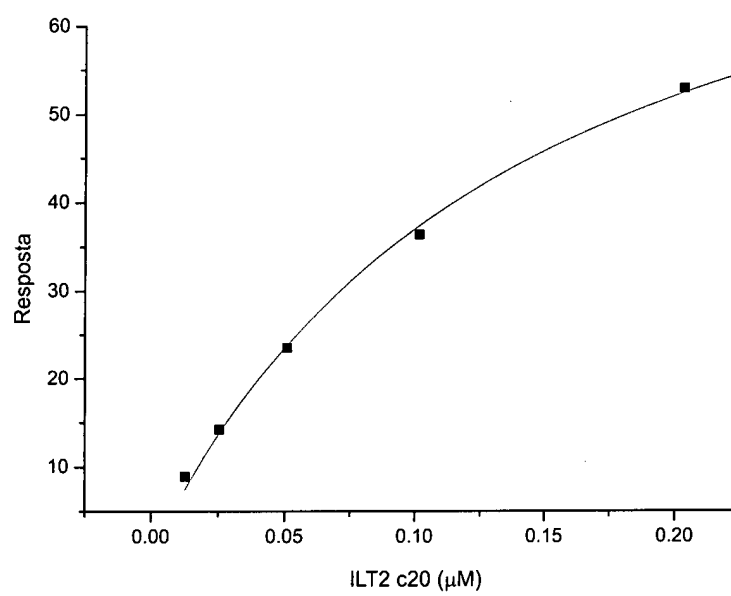


Fig. 11

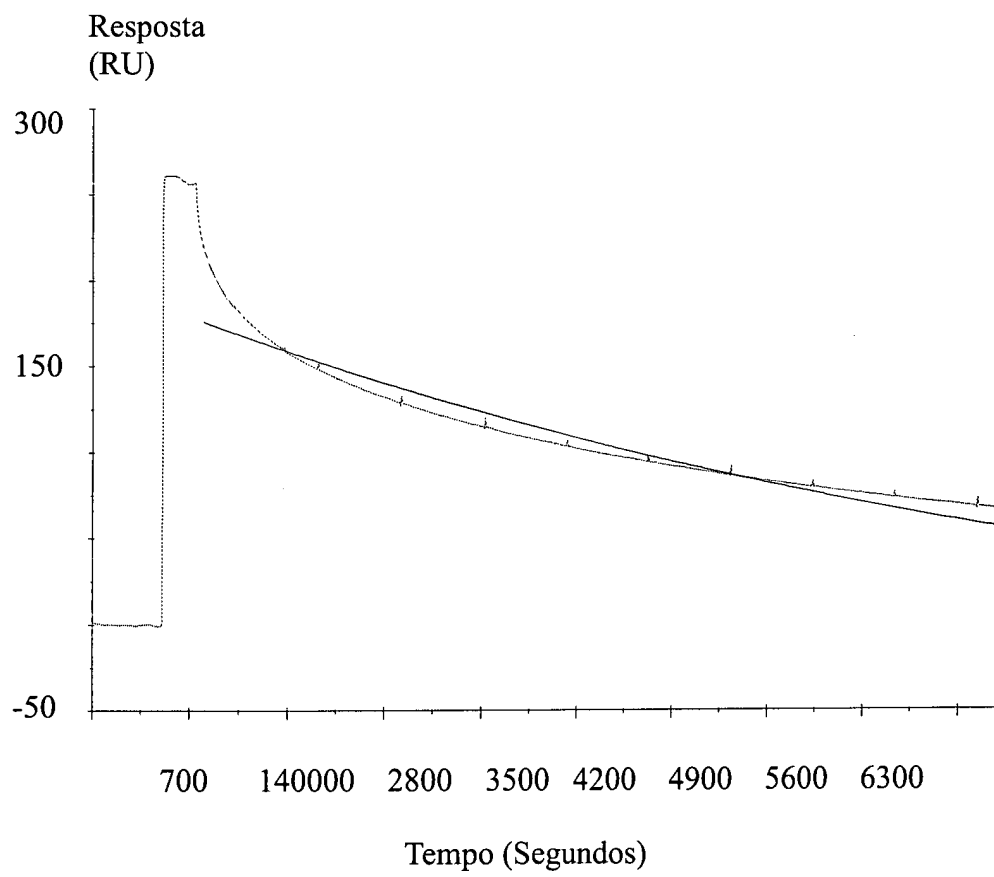


Fig. 12

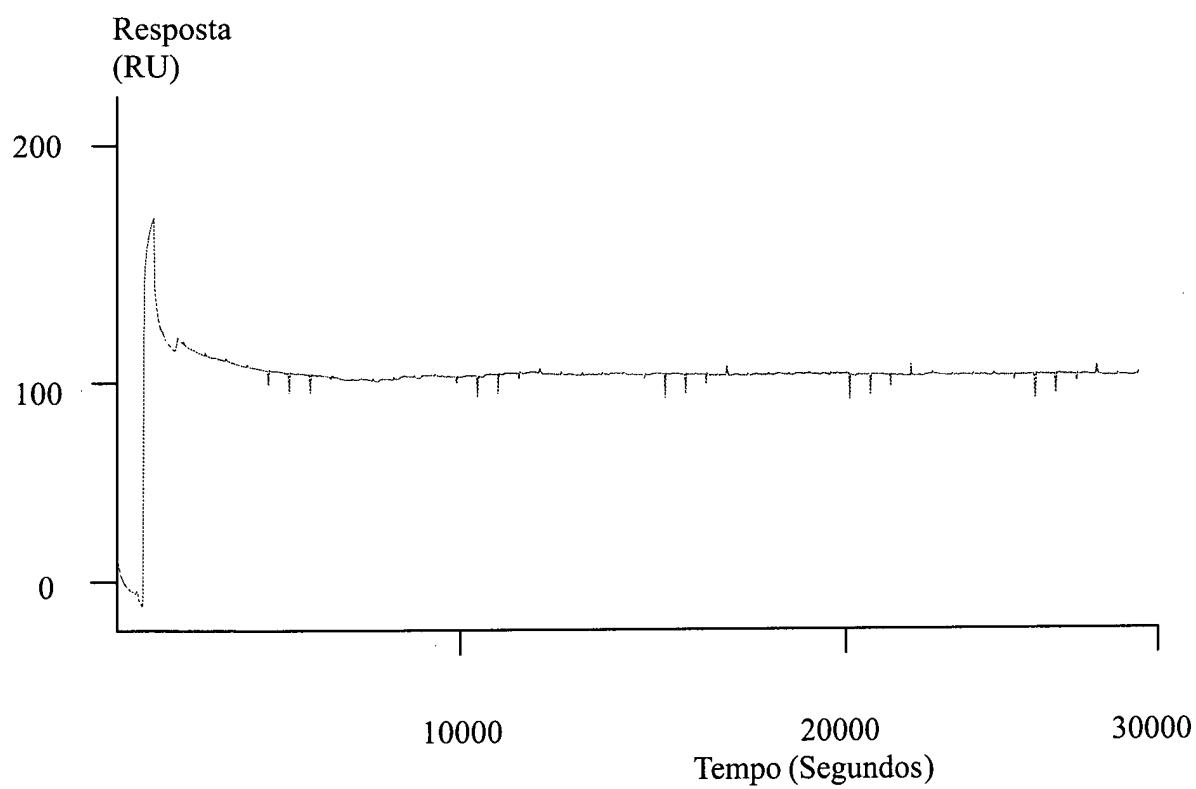


Fig. 13a

MGHLPKPTLWAEPGSVITL[FQ]PVTLCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIPQ
 ELVKKGQFPIPSITWEHAGRYRCYYGSDTAGRSESSDPLELVVTGAYIKPTLSA
 QPSPVVNSGGNVTLCQDSQVAFDGFILCKEGEDEHPQCLNSQPHARGSSRAIFS
 VGPVSPSRRWWYRCYAYDSNSPYEWSLPSDLLELLVL
 (SEQ ID NO: 21)

Fig. 13b

MGHLPKPTLWAEPGSVITL[SQ]PVTLCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIPQ
 ELVKKGQFPIPSITWEHAGRYRCYYGSDTAGRSESSDPLELVVTGV[Y]IKPTLSA
 QPSPVVNSGGNVTLCQDSQVAFDGFILCKEGEDEHPQCLNSQPHARGSSRAIFS
 VGPVSPSRRWWYRCYAYDSNSPYEWSLPSDLLELLVL
 (SEQ ID NO: 22)

Fig. 13c

MGHLPKPTLQAEPGSVITQGSPVTLRCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIPQ
 ELVKKGQFPIPSITWEHAGRYRCV[IQRG]TAGRSESSDPLELVVTGV[Y]IKPTLSA
 QPSPVVNSGGNVTLCQDSQVAFDGFILCKEGEDEHPQCLNSQPHARGSSRAIFS
 VGPVSPSRRWWYRCYAYDSNSPYEWSLPSDLLELLVL
 (SEQ ID NO: 23)

Fig. 13d

MGHLPKPTLWAEPGSVITQGSPVTLRCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIPQ
 ELVKKGQFPIPSITWEHAGRYRCYYGS[QGGL]RSESSDPLELVVTGV[Y]IKPTLSA
 QPSPVVNSGGNVTLCQDSQVAFDGFILCKEGEDEHPQCLNSQPHARGSSRAIFS
 VGPVSPSRRWWYRCYAYDSNSPYEWSLPSDLLELLVL
 (SEQ ID NO: 24)

Fig. 13e

MGHLPKPTLWAEPGSVITQGSPVTLRCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIPQ
 ELVKKGQFPIPSITWEHAGRYRCYYG[IQ]TAGRSESSDPLELVVTGV[Y]IKPTLSA
 QPSPVVNSGGNVTLCQDSQVAFDGFILCKEGEDEHPQCLNSQPHARGSSRAIFS
 VGPVSPSRRWWYRCYAYDSNSPYEWSLPSDLLELLVL
 (SEQ ID NO: 25)

Fig. 13f

MGHLPKPTLWAEPGSVITQGSPVTLRCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIPQ
 ELVKKKGQFPIPSITWEHAGRYRCMQYTLTAGRSESSDPLELVVTGVYIKPTLSA
 QPSPVVNSGGNVTLCDSQVAFDGFILCKEGEDEHPQCLNSQPHARGSSRAIFS
 VGPVSPSRRWWYRCYAYDSNS PYEWSLPSDLLELLVL
 (SEQ ID NO: 26)

Fig. 13g

MGHLPKPTLWAEPGSVITQGSPVTLRCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIPQ
 ELVKKKGQFPIPSITWEHAGRYRCYYGSDTSQWSASSDPLELVVTGVYIKPTLS
 AQSPVVNSGGNVTLCDSQVAFDGFILCKEGEDEHPQCLNSQPHARGSSRAI
 FSVGPVSPSRRWWYRCYAYDSNSPYEWSLPSDLLELLVL
 (SEQ ID NO: 27)

Fig. 13h

MGHLPKPTLWAEPGSVITQGSPVTLRCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIPQ
 ELVKKKGQFPIPSITWEHAGRYRCYYGSGGGRSESSDPLELVVTGAYIKPTLSA
 QPSPVVNSGGNVTLCDSQVAFDGFILCKEGEDEHPQCLNSQPHARGSSRAIFS
 VGPVSPSRRWWYRCYAYDSNS PYEWSLPSDLLELLVL
 (SEQ ID NO: 28)

Fig. 13i

MGHLPKPTLWAEPGSVITQGSPVTLRCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIPQ
 ELVKKKGQFPIPSITWEHAGRYRCYYGTQTAGRSESSDPLELVVTGAYIKPTLSA
 QPSPVVNSGGNVTLCDSQVAFDGFILCKEGEDEHPQCLNSQPHARGSSRAIFS
 VGPVSPSRRWWYRCYAYDSNS PYEWSLPSDLLELLVL
 (SEQ ID NO: 29)

Fig. 13j

MGHLPKPTLWAEPGSVITQGSPVTLRCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIPQ
 ELVKKKGQFPIPSITWEHAGRYRCMQYTLTAGRSESSDPLELVVTGAYIKPTLSA
 QPSPVVNSGGNVTLCDSQVAFDGFILCKEGEDEHPQCLNSQPHARGSSRAIFS
 VGPVSPSRRWWYRCYAYDSNS PYEWSLPSDLLELLVL
 (SEQ ID NO: 30)

Fig. 13k

MGHLPKPTLWAEPGSVITMDQPVTL RCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIP
 QELVKKGGQFPIPSITWEHAGRYRCYYGSQGGLRSESSDPLELVVTGVYIKPTLS
 AQPSPVVNSGGNVTLCDSQVAFDGFILCKEGEDEHPQCLNSQPHARGSSRAI
 FSVGVPVSPGRRWWYRCYAYDSNSPYEWSLPSDLLELLVL
 (SEQ ID NO: 31)

Fig. 13l

MGHLPKPTLWAEPGSVITMDQPVTL RCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIP
 QELVKKGGQFPIPSITWEHAGRYRCYYGTQTAGRSESSDPLELVVTGVYIKPTLS
 AQPSPVVNSGGNVTLCDSQVAFDGFILCKEGEDEHPQCLNSQPHARGSSRAI
 FSVGVPVSPGRRWWYRCYAYDSNSPYEWSLPSDLLELLVL
 (SEQ ID NO: 32)

Fig. 13m

MGHLPKPTLWAEPGSVITMDQPVTL RCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIP
 QELVKKGGQFPIPSITWEHAGRYRCVIQRTAGRSESSDPLELVVTGVYIKPTLS
 AQPSPVVNSGGNVTLCDSQVAFDGFILCKEGEDEHPQCLNSQPHARGSSRAI
 FSVGVPVSPSRRWWYRCYAYDSNSPYEWSLPSDLLELLVL
 (SEQ ID NO: 33)

Fig. 13n

MGHLPKPTLWAEPGSVITMDQPVTL RCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIP
 QELVKKGGQFPIPSITWEHAGRYRCMOYTLTAGRSESSDPLELVVTGVYIKPTLS
 AQPSPVVNSGGNVTLCDSQVAFDGFILCKEGEDEHPQCLNSQPHARGSSRAI
 FSVGVPVSPSRRWWYRCYAYDSNSPYEWSLPSDLLELLVL
 (SEQ ID NO: 34)

Fig. 13o

MGHLPKPTLWAEPGSVITQGSPVTLRCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIPQ
 ELVKKGGQFPIPSITWEHAGRYRCYYGSDTAGRSESSDPLELVVTGVYIKPTLSA
 QPSPVVNSGGNVTLCDSQVAFDGFILCKEGEDEHPQCLNSQPHARGSSRAIFS
 VGPVSPSRRWWYRCYAYDSNS PYEWSLPSDLLELLVL
 (SEQ ID NO: 35)

Fig. 13p

MGHLPKPTLWAEPGSVITQGSPVTLRCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIPQ
 ELVKKGGQFPIPSITWEHAGRYRCYYGSDTAGRSESSDPLELVVTGIIYLA³⁶PTLSA
 QPSPVVNSGGNVTLCDSQVAFDGFILCKEGEDEHPQCLNSQPHARGSSRAIFS
 VGPVSPSRWWYRCYAYDSNSPYEWSLPSDLLELLVL
 (SEQ ID NO: 36)

Fig. 13q

MGHLPKPTLWAEPGSVITQGSPVTLRCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIPQ
 ELVKKGGQFPIPSITWEHAGRYRCYYGSDTAGRSESSDPLELVVTGIIYKA³⁷PTLSA
 QPSPVVNSGGNVTLCDSQVAFDGFILCKEGEDEHPQCLNSQPHARGSSRAIFS
 VGPVSPSRWWYRCYAYDSNSPYEWSLPSDLLELLVL
 (SEQ ID NO: 37)

Fig. 13r

MGHLPKPTLWAEPGSVITQGSPVTLRCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIPQ
 ELVKKGGQFPIPSITWEHAGRYRCYYGSDTAGRSESSDPLELVVTGIIYQA³⁸PTLSA
 QPSPVVNSGGNVTLCDSQVAFDGFILCKEGEDEHPQCLNSQPHARGSSRAIFS
 VGPVSPSRWWYRCYAYDSNSPYEWSLPSDLLELLVL
 (SEQ ID NO: 38)

Fig. 13s

MGHLPKPTLWAEPGSVITQGA³⁹PVTLRCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIPQ
 ELVKKGGQFPIPSITWEHAGRYRCYYGSDTAGRSESSDPLELVVTGIIYK³⁹PTLSA
 QPSPVVNSGGNVTLCDSQVAFDGFILCKEGEDEHPQCLNSQPHARGSSRAIFS
 VGPVSP³⁹RRWWYRCYAYDSNSPYEWSLPSDLLELLVL
 (SEQ ID NO: 39)

Fig. 13t

MGHLPKPTLWAEPGSVITQGR⁴⁰PVTLRCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIPQ
 ELVKKGGQFPIPSITWEHAGRYRCYYGSDTAGRSESSDPLELVVTGIIYK⁴⁰PTLSA
 QPSPVVNSGGNVTLCDSQVAFDGFILCKEGEDEHPQCLNSQPHARGSSRAIFS
 VGPVSPSRWWYRCYAYDSNSPYEWSLPSDLLELLVL
 (SEQ ID NO: 40)

Fig. 13u

MGHLPKPTLWAEPGSVITVGQPVTLRCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIPQ
 ELVKKKGQFPIPSITWEHAGRYRCYYGSDTAGRSESSDPLELVVTGVYIKPTLSA
 QPSPVVNSGGNVTLCQDSQVAFDGFILCKEGEDEHPQCLNSQPHARGSSRAIFS
 VGPVSPGRRWWYRCYAYDSNSPYEWSLPSDLLELLVL
 (SEQ ID NO: 41)

Fig. 13v

MGHLPKPTLWAEPGSVITVGQPVTLRCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIPQ
 ELVKKKGQFPIPSITWEHAGRYRCYYGSDTAGRSESSDPLELVVTGVYIKPTLSA
 QPSPVVNSGGNVTLCQDSQVAFDGFILCKEGEDEHPQCLNSQPHARGSSRAIFS
 VGPVSPGRRWWYRCYAYDSNSPYEWSLPSDLLELLVL
 (SEQ ID NO: 42)

Fig. 13w

MGHLPKPTLWAEPGSVITQGSPVTLRCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIPQ
 ELVKKKGQFPIPSITWEHAGRYRCYYGSDTAGRSESSDPLELVVTGVYIKPTLSA
 QPSPVVNSGGNVTLCQDSQVAFDGFILCKEGEDEHPQCLNSQPHARGSSRAIFS
 VGPVSPGRRWWYRCYAYDSNSPYEWSLPSDLLELLVL
 (SEQ ID NO: 43)

Fig. 13x

MGHLPKPTLWAEPGSVITQGSPVTLRCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIPQ
 ELVKKKGQFPIPSITWEHAGRYRCYYGSDTAGRSESSDPLELVVTGVYIKPTLSA
 AQSPSPVVNSGGNVTLCQDSQVAFDGFILCKEGEDEHPQCLNSQPHARGSSRAI
 FSVGPVSPSRWWYRCYAYDSNSPYEWSLPSDLLELLVL
 (SEQ ID NO: 44)

Fig. 13y

MGHLPKPTLWAEPGSVITQGSPVTLRCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIPQ
 ELVKKKGQFPIPSITWEHAGRYRCVGWAVTAGRSESSDPLELVVTGVYIKPTLSA
 AQSPSPVVNSGGNVTLCQDSQVAFDGFILCKEGEDEHPQCLNSQPHARGSSRAI
 FSVGPVSPSRWWYRCYAYDSNSPYEWSLPSDLLELLVL
 (SEQ ID NO: 45)

Fig. 13z

MGHLPKPTLWAEPGSVITQGSPVTLRCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIPQ
 ELVKKGQFPIPSITWEHAGRYRC[GRSQ]TAGRSESSDPLELVVTGVYIKPTLSA
 QPSPVVNSGGNVTLCDSQVAFDGFILCKEGEDEHPQCLNSQPHARGSSRAIFS
 VGPVSPSRXWWYRCYAYDSNSPYEWSLPSDLLELLVL
 (SEQ ID NO: 46)

Fig. 13aa

MGHLPKPTLWAEPGSVITQGSPVTLRCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIPQ
 ELVKKGQFPIPSITWEHAGRYRCYYG[GOEGAR]SESSDPLELVVTGVYIKPTLSA
 QPSPVVNSGGNVTLCDSQVAFDGFILCKEGEDEHPQCLNSQPHARGSSRAIFS
 VGPVSPSRWWYRCYAYDSNSPYEWSLPSDLLELLVL
 (SEQ ID NO: 47)

Fig. 13ab

MGHLPKPTLWAEPGSVITQGSPVTLRCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIPQ
 ELVKKGQFPIPSITWEHAGRYRC[QGV]S[Q]TAGRSESSDPLELVVTGVYIKPTLSA
 QPSPVVNSGGNVTLCDSQVAFDGFILCKEGEDEHPQCLNSQPHARGSSRAIFS
 VGPVSPSRWWYRCYAYDSNSPYEWSLPSDLLELLVL
 (SEQ ID NO: 48)

Fig. 13ac

MGHLPKPTLWAEPGSVITQGSPVTLRCQGGQETQEYRLYREKKTAPQITRIPQ
 ELVKKGQFPIPSITWEHAGRYRCYYGSDTAGRSESSDPLELVVTGVYVAPTLS
 AQSPVVNSGGNVTLCDSQVAFDGFILCKEGEDEHPQCLNSQPHARGSSRAI
 FSVGPVSP[Q]RRWWYRCYAYDSNSPYEWSLPSDLLELLVL
 (SEQ ID NO: 49)

Fig. 13ad

MGHLPKPTLWAEPGSVITQGSPVTLRCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIPQ
 ELVKKGQFPIPSITWEHAGRYRCYYGSDTAGRSESSDPLELVVTG[YK]APTLSA
 QPSPVVNSGGNVTLCDSQVAFDGFILCKEGEDEHPQCLNSQPHARGSSRAIFS
 VGPVSP[Q]RRWWYRCYAYDSNSPYEWSLPSDLLELLVL
 (SEQ ID NO: 50)

Fig. 13ae

MGHLPKPTLWAEPGSVITQGSPVTLRCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIPQ
 ELVKKKGQFPIPSITWEHAGRYRCYYGSDTAGRSESSDPLELVVTGIIYQRP¹PTLSA
 QPSPVVNSGGNVTLCDSQVAFDGFILCKEGEDEHPQCLNSQPHARGSSRAIFS
 VGPVSPG²RRWWYRCYAYDSNSPYEWSLPSDLLELLVL
 (SEQ ID NO: 51)

Fig. 13af

MGHLPKPTLWAEPGSVITQGSPVTLRCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIPQ
 ELVKKKGQFPIPSITWEHAGRYRCYYGSDTAGRSESSDPLELVVTGIIYQAP¹PTLSA
 QPSPVVNSGGNVTLCDSQVAFDGFILCKEGEDEHPQCLNSQPHARGSSRAIFS
 VGPVSPG²RRWWYRCYAYDSNSPYEWSLPSDLLELLVL
 (SEQ ID NO: 52)

Fig. 13ag

MGHLPKPTLWAEPGSVITQGSPVTLRCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIPQ
 ELVKKKGQFPIPSITWEHAGRYRCYYGSDTAGRSESSDPLELVVTGIIYLO¹PPTLSA
 QPSPVVNSGGNVTLCDSQVAFDGFILCKEGEDEHPQCLNSQPHARGSSRAIFS
 VGPVSPG²RRWWYRCYAYDSNSPYEWSLPSDLLELLVL
 (SEQ ID NO: 53)

Fig. 13ah

MGHLPKPTLWAEPGSVITQGSPVTLRCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIPQ
 ELVKKKGQFPIPSITWEHAGRYRCYYGSDTAGRSESSDPLELVVTGIIYKQ¹PPTLSA
 QPSPVVNSGGNVTLCDSQVAFDGFILCKEGEDEHPQCLNSQPHARGSSRAIFS
 VGPVSPG²RRWWYRCYAYDSNSPYEWSLPSDLLELLVL
 (SEQ ID NO: 54)

Fig. 13ai

MGHLPKPTLWAEPGSVITQGSPVTLRCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIPQ
 ELVKKKGQFPIPSITWEHAGRYRCYYGSDTAGRSESSDPLELVVTGIIYQK¹PPTLSA
 QPSPVVNSGGNVTLCDSQVAFDGFILCKEGEDEHPQCLNSQPHARGSSRAIFS
 VGPVSPSRRWWYRCYAYDSNSPYEWSLPSDLLELLVL
 (SEQ ID NO: 55)

Fig. 13aj

MGHLPKPTLWAEPGSVITMDQPVTLCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIP
 QELVKKGGQFPIPSITWEHAGRYRCYYGSDTAGRSESSDPLELVVTGTYLAPTLS
 AQSPVVNSGGNVTLCQDSQVAFDGFILCKEGEDEHPQCLNSQPHARGSSRAI
 FSVGPVSPSRRWWYRCYAYDSNSPYEWSLPSDLLELLVL
 (SEQ ID NO: 56)

Fig. 13ak

MGHLPKPTLWAEPGSVITLGQPVTLRCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIPQ
 ELVKKGGQFPIPSITWEHAGR YRCYYGSDTAGRSESSDPLELVVTGTYLAPTLSA
 QPSPVVNSGGNVTLCQDSQVAFDGFILCKEGEDEHPQCLNSQPHARGSSRAIFS
 VGPVSPSRRWWYRCYAYDSNS PYEWSLPSDLLELLVL
 (SEQ ID NO: 57)

Fig. 13al

MGHLPKPTLWAEPGSVITMDQPVTLCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIP
 QELVKKGGQFPIPSITWEHAGRYRCYYGSDT SOWSASSDPLELVVTGTYLAPTLS
 AQSPVVNSGGNVTLCQDSQVAFDGFILCKEGEDEHPQCLNSQPHARGSSRAI
 FSVGPVSPSRRWWYRCYAYDSNSPYEWSLPSDLLELLVL
 (SEQ ID NO: 58)

Fig. 13am

MGHLPKPTLWAEPGSVITLGQPVTLRCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIPQ
 ELVKKGGQFPIPSITWEHAGR YRCYYGSDTSOWSASSDPLELVVTGTYLAPTLSA
 QPSPVVNSGGNVTLCQDSQVAFDGFILCKEGEDEHPQCLNSQPHARGSSRAIFS
 VGPVSPSRRWWYRCYAYDSNS PYEWSLPSDLLELLVL
 (SEQ ID NO: 59)

Fig. 13an

MGHLPKPTLWAEPGSVITMDQPVTLCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIP
 QELVKKGGQFPIPSITWEHAGRYRCIGRSQTSOWSASSDPLELVVTGTYLAPTLS
 AQSPVVNSGGNVTLCQDSQVAFDGFILCKEGEDEHPQCLNSQPHARGSSRAI
 FSVGPVSPSRRWWYRCYAYDSNSPYEWSLPSDLLELLVL
 (SEQ ID NO: 60)

Fig. 13ao

MGHLPKPTLWAEPGSVITLGQPVTLCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIPQ
 ELVKKGQFPIPSITWEHAGRYRCIGRSQTSQWSASSDPLELVVTGTYLAPTLA
 QPSPVVNSGGNVTLCDSQVAFDGFILCKEGEDEHPQCLNSQPHARGSSRAIFS
 VGPVSPSRWWYRCYAYDSNSPYEWSLPSDLLELLVL
 (SEQ ID NO: 61)

Fig. 13ap

MHLPKPTLWAEPGSVITMDQPVTLRCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIPQE
 LVKKGQFPIPSITWEHAGRYRCYYGSDTSQWSASSDPLELVVTGVYIKPTLSA
 QPSPVVNSGGNVTLCDSQVAFDGFILCKEGEDEHPQCLNSQPHARGSSRAIFS
 VGPVSPSRWWYRCYAYDSNSPYEWSLPSDLLELDVDG
 (SEQ ID NO: 62)

Fig. 13aq

MHLPKPTLWAEPGSVITMDQPVTLRCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIPQE
 LVKKGQFPIPSITWEHAGRYRCYYGSDTSQWSASSDPLELVVTGVYIKPTLSA
 QPSPVVNSGGNVTLCDSQVAFDGFILCKEGEDEHPQCLNSQPHARGSSRAIFS
 VGPVSPSRWWYRCYAYDSNSPYEWSLPSDLLELDVDG
 (SEQ ID NO: 63)

Fig. 13ar

MHLPKPTLWAEPGSVITMDQPVTLRCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIPQE
 LVKKGQFPIPSITWEHAGRYRCYYGSDTSQWSASSDPLELVVTGVYIKPTLSA
 QPSPVVNSGGNVTLCDSQVAFDGFILCKEGEDGHPQCLNSQPHARGSSRAIF
 SVGPVSPSRWWYRCYAYDSNSPYEWSLPSDLLELDVDG
 (SEQ ID NO: 64)

Fig. 13as

MHLPKPTLWAEPGSVITMDQPVTLRCQGGQETQEYRLYRERKTAPWITRIPQE
 LVKKGQFPIPSITWEHAGRYRCYYGSDTSQWSASSDPLELVVTGVYIKPTLSA
 QPSPVVNSGGNVTLCDSQVAFDGFILCKEGEDEHPQCLNSQPHARGSSRAIFS
 VGPVSPSRWWYRCYAYDSNSPYEWSLPSDLLELDVDG
 (SEQ ID NO: 65)

Fig. 13at

MHLPKPTLWAEPGSVITLQSPVTLRCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIPQE
 LVKKGQFPIPSITWEHAGRYRCYYG SDTSQWSASSDPLELVVTGVYIKPTLSA
 QPSPVVNSGGNVTLCDSQVAFDGFIL CKEGEDEHPQCLNSQPHARGSSRAIFS
 VGPVSPSRRWWYRCYAYDSNS PYEWSLPSDLLELDVDG
 (SEQ ID NO: 66)

Fig. 13au

MHLPKPTLWAEPGSVITLQSPVTLRCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIPQE
 LVKKGQFPIPSITWEHAGRYRCYYG SDTSQWSASSDPLELVVTGVYIKPTLSA
 QPSPVVNSGGNVTLCDSQVAFDGFIL CKEGEDEHPQCLNSQPHARGSSRAIFS
 VGPVSPSRRWWYRCYAYDSNS PYEWSLPSDLLELDVDG
 (SEQ ID NO: 67)

Fig. 13av

MHLPKPTLWAEPGSVITLQSPVTLRCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIPQE
 LVKKGQFPIPSITWEHAGRYRCYYG SDTSQWSASSDPLELVVTGVYIKPTLSA
 QPSPVVNSGGNVTLCDSQVAFDGFIL CKEGEDEHPQCLNSQPHARGSSRAIFS
 VGPVSPSRRWWYRCYAYDSNS PYEWSLPSDLLELDVDG
 (SEQ ID NO: 68)

Fig. 13aw

MHLPKPTLWAEPGSVITLQSPVTLRCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIPQE
 LVKKGQFPIPSITWEHAGRYRCYYG SDTSQWSASSDPLELVVTGVYIKPTLSA
 QPSPVVNSGGNVTLCDSQVAFDGFIL CKEGEDEHPQCLNSQPHARGSSRAIFS
 VGPVSPSRRWWYRCYAYDSNS PYEWSLPSDLLELDVDG
 (SEQ ID NO: 69)

Fig. 13ax

MHLPKPTLWAEPGSVITLQSPVTLRCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIPQEL
 VKKGQFPIPSITWEHAGRYRCYYGSDTSQWSASSDPLELVVTGVYIKPTLSAQ
 PSPVVNSGGNVTLCDSQVAFDGFILCKE GEDEHPQCLNSQPHARGSSRAIFSV
 GPVSPSRRWWYRCYAYDSNSPYEWSLPSDLLELDVDG
 (SEQ ID NO: 70)

Fig. 13ay

MHLPKPTLWAEPGSVITMDQPVTLCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIPQE
 LVKKGQFPIPSITWEHAGRYRCYYGTQT AGRSESSDPLELVVTGVYIKPTLSAQ
 PSPVVNSGGNVTLCDSQVAFDGFILCKE GEDEHPQCLNSQPHARGSSRAIFSV
 GPVSPSRRWWYRCYAYDSNSPYEWSLPSDLLELDVDG
 (SEQ ID NO: 71)

Fig. 13az

MHLPKPTLWAEPGSVITMDQPVTLCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIPQE
 LVKKGQFPIPSITWEHAGRYRCMQYTLT AGRSESSDPLELVVTGVYIKPTLSA
 QPSPVVNSGGNVTLCDSQVAFDGFILCKE GEDEHPQCLNSQPHARGSSRAIFSV
 VGPVSPSRRWWYRCYAYDSNSPYEWSLPSDLLELDVDG
 (SEQ ID NO: 72)

Fig. 13ba

MHLPKPTLWAEPGSVITMDQPVTLCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIPQE
 LVKKGQFPIPSITWEHAGRYRCVIQRG TAGRSESSDPLELVVTGVYIKPTLSAQ
 PSPVVNSGGNVTLCDSQVAFDGFILCKE GEDEHPQCLNSQPHARGSSRAIFSV
 GPVSPSRRWWYRCYAYDSNSPYEWSLPSDLLELDVDG
 (SEQ ID NO: 73)

Fig. 13bb

MHLPKPTLWAEPGSVITMDQPVTLCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIPQE
 LVKKGQFPIPSITWEHAGRYRCYYGTQEGARSESSDPLELVVTGVYIKPTLSA
 QPSPVVNSGGNVTLCDSQVAFDGFILCKE GEDEHPQCLNSQPHARGSSRAIFSV
 VGPVSPSRRWWYRCYAYDSNSPYEWSLPSDLLELDVDG
 (SEQ ID NO: 74)

Fig. 13bc

MHLPKPTLWAEPGSVITMDQPVTLCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIPQE
 LVKKGQFPIPSITWEHAGRYRCYYGTQTSQWSA SSDPLELVVTGVYIKPTLSA
 QPSPVVNSGGNVTLCDSQVAFDGFILCKE GEDEHPQCLNSQPHARGSSRAIFSV
 VGPVSPSRRWWYRCYAYDSNSPYEWSLPSDLLELDVDG
 (SEQ ID NO: 75)

Fig. 13bd

MGHLPKPTLWAEPGSVITMDQPVTLCQGGQETOQYRLYREKKTAPWITRIP
 QELVKKGQFPIPSITWEHAGRYRCYYGSDTRQWSASSDPLELVVTGVYIKPTL
 SAQPSPVVNSGGNVTLCDSQVAFDGFILCKEGEDDHPQCLNSQPHARGSSRA
 IFSVGPVSPSRRWRYRCYAYDSNSPYEWSLPSDLLELDVDG
 (SEQ ID NO: 76)

Fig. 13be

MHLPKPTLWAEPGSVITMDQPVTLCQGGQETOQYRLYREKKTAPWITRIPQE
 LVKKGQFPIPSITWEHAGRYRCYYGSDTSQWSASSDPLELVVTGVYIKPTLSA
 QPSPVVNSGGNVTLCDSQVAFDGFILCKEGEDEHPQCLNSQPHARGSSRAIF
 SVGPVSPSRRWWYRCYAYDSNSPYEWSLPSDLLELDVDG
 (SEQ ID NO: 77)

Fig. 13bf

MHLPKPTLWAEPGSVITMDQPVTLCQGGQETOQYRLYREKKTAPWITRIPQE
 LVKKGQFPIPSITWEHAGRYRCYYGSDTSQWSASSDPLELVVTGVYIKPTLSA
 QPSPVVNSGGNVTLCDSQVAFDGFILCKEGEDEHPQCLNSQPHARGSSRAEF
 SVGPVSPSRRWWYRCYAYDSNSPYEWSLPSDLLELDVDG
 (SEQ ID NO: 78)

Fig. 13bg

MHLPKPTLWAEPGSVITMDQPVTLCQGGQETOQYRLYREKKTAPWITRIPQE
 LVKKGQFPIPSITWEHAGRYRCYYGSDTSQWSASSDPLELVVTGVYIKPTLSA
 QPSPVVNSGGNVTLCDSQVAFDGFILCKEGEDEHPQCLNSQPHARGSSRAIFS
 VGPVSPSRRWWYRCYAYDSNSPYEWSLPSDLLELDVDG
 (SEQ ID NO: 79)

Fig. 13bh

MHLPKPTLWAEPGSVITMDQPVTLRCQGGQETQEYRLYREKKTAPWITRIPQE
LVKKGQFPIPSITWEHAGRYRCYYG SDTSQWSASSDPLELVVTGMVYIKPTLSA
QPSPVVNSGGNVTLCDSQVAFDGFILSKEGEDEHPQSLNSQPHARGSSRAIFS
VGPVSPSRWWYRCYAYDSNS PYEWSLPSDLLELDVDG
(SEQ ID NO: 80)

Fig. 14

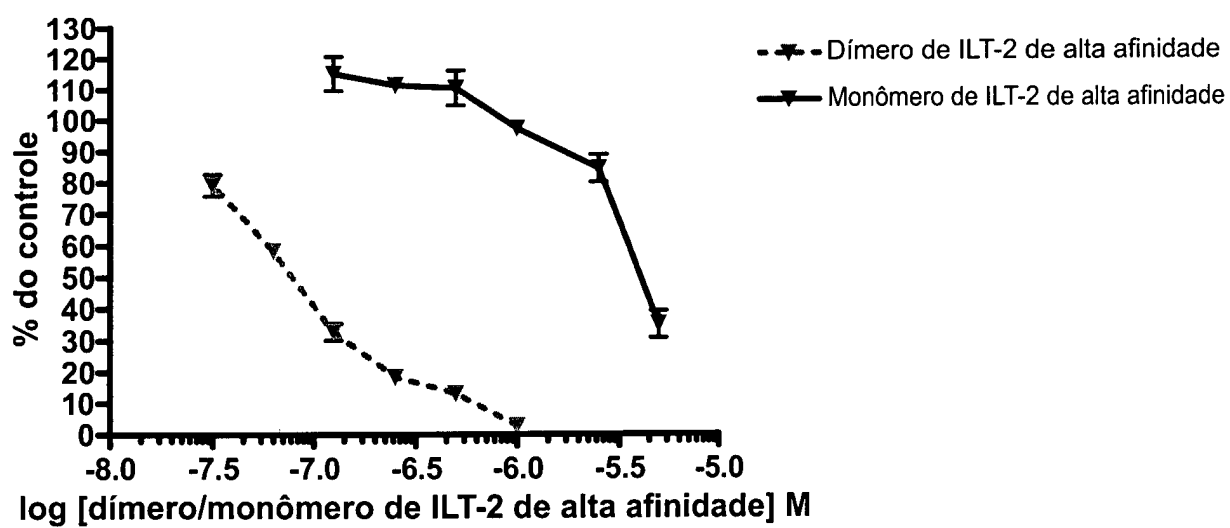
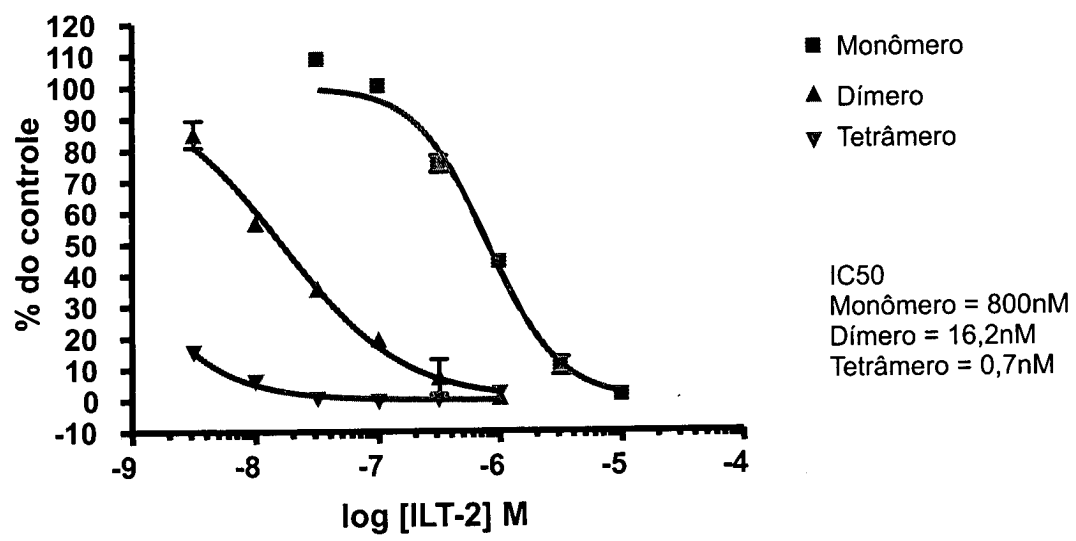


Fig. 15



RESUMO

Patente de Invenção: "**POLIPEPTÍDEOS**".

- 5 A presente invenção refere-se a polipeptídeos que tem a propriedade de ligação a uma dada pMHC Classe I caracterizado em que o dito polipeptídeo tem o dito polipeptídeo tem um K_D para a dita pMCH Classe I de menos do que ou igual a 1 μM e/ou tem "*off rate*" (k_{off}) para a dita dada molécula de pMHC Classe I de 2S^{-1} ou mais lento E o dito polipeptídeo tem pelo menos 45% de identidade e/ou 55% de similaridade com SEQ ID NO: 7 E o dito polipeptídeo inibe a ligação de CD8 a dada pMHC em um grau maior do que o polipeptídeo SEQ ID NO: 3. Tais
- 10 polipeptídeos são úteis, tanto sozinhos como associados com um agente terapêutico, para a inibição de respostas de células T citotóxicas (CTL).

Novo quadro reivindicatório (total de 63 reivindicações) para processamento na Fase Nacional Brasileira.

REIVINDICAÇÕES

1. Polipeptídeo que apresenta a propriedade de ligar-se a uma dada pMHC Classe I, caracterizado pelo fato de que o dito polipeptídeo apresenta um K_D para a dita pMHC Classe I de menos do que ou igual a $1\ \mu\text{M}$ e/ou apresenta um "off rate" (k_{off}) para a dita molécula de pMHC Classe I de 2S^{-1} ou mais lento, e o dito polipeptídeo apresenta pelo menos 45% de identidade e/ou 55% de similaridade à SEQ ID NO: 7, e o dito polipeptídeo inibe a ligação de CD8 a dada pMHC em um grau maior do que o polipeptídeo SEQ ID NO: 3.
2. Polipeptídeo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que é uma molécula de ILT humana mutada.
3. Polipeptídeo de acordo com a reivindicação 1 ou 2, caracterizado pelo fato de que o referido K_D ou k_{off} é/são conforme medido(s) por ressonância de plasmônio de superfície.
4. Polipeptídeo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, caracterizado pelo fato de que um ou mais dos aminoácidos que correspondem aos aminoácidos 10W, 19Q, 20G, 21S, 42K, 47W, 50R, 66I, 77Y, 78Y, 79G, 80S, 8 ID, 82T, 83A, 84G, 85R, 87E, 99A, 101I, 102K, 141E, 146L, 147N, 159I, 168S, 172W, 174R e 188L da SEQ ID NO: 3 é/são mutados.
5. Polipeptídeo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, caracterizado pelo fato de que compreende uma ou mais das seguintes mutações 10W→L, 19Q→M, 19Q→L, 19Q→V, 20G→D, 20G→M, 20G→Q, 20G→F, 20G→S, 20G→E, 20G→R, 21S→Q, 21S→R, 21S→A, 21S→S, 42K→R, 47W→Q, 50R→L, 66L→V, 77Y→V, 77Y→M, 77Y→I, 77Y→Q, 78Y→Q, 78Y→I, 78Y→G, 79G→Q, 79G→Y, 79G→W, 79G→R, 79G→V, 80S→R, 80S→T, 80S→G, 81D→G, 81D→Q, 81D→L, 81D→V, 82T→G, 82T→E, 83A→S, 83A→G, 83A→R, 84G→L, 84G→Q, 84G→A, 85R→W, 87E→A, 99A→I, 99A→Y, 101I→L, 101I→K, 101I→Q, 101→V, 102K→Q, 102K→A, 102K→R, 141E→G, 141E→D, 146L→D, 147N→S, 159I→E, 168S→G, 172W→R, 174R→W ou 188L→D usando a numeração de SEQ ID NO: 3.
6. Polipeptídeo de acordo com qualquer uma das reivindicações

1 a 5, caracterizado pelo fato de que compreende as mutações que correspondem a 19Q→M e 21→Q usando a numeração da SEQ ID NO: 3.

7. Polipeptídeo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, caracterizado pelo fato de que compreende as mutações que correspondem a 19Q→M, 20G→D, 21S→Q, 99A→V e 168S→G usando a numeração da SEQ ID NO: 3.

8. Polipeptídeo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, caracterizado pelo fato de que compreende as mutações que correspondem a 19Q→L, 20G→M, e 21S→Q usando a numeração da SEQ ID NO: 3.

9. Polipeptídeo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, caracterizado pelo fato de que compreende as mutações que correspondem a 19Q→M, 20G→Q, 21S→R, 42K→R, e 146L→S usando a numeração da SEQ ID NO: 3.

10. Polipeptídeo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, caracterizado pelo fato de que compreende as mutações que correspondem a 19Q→M, 20G→D, 21S→Q, 83A→S, 84G→Q, 85R→W, 87E→A e 99A→V usando a numeração da SEQ ID NO: 3.

11. Polipeptídeo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 10, caracterizado pelo fato de que os aminoácidos que correspondem a um ou ambos de 135C ou 145C usando a numeração da SEQ ID NO: 3 é/são mutado(s) para S.

12. Polipeptídeo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 11, caracterizado pelo fato de que compreende aminoácidos que correspondem a pelo menos os aminoácidos 1-195 da SEQ ID NO: 3.

13. Polipeptídeo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 12, caracterizado pelo fato de que consiste em ou inclui qualquer uma das SEQ ID Nos: 6 a 9 ou 21 a 61.

14. Polipeptídeo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 13, caracterizado pelo fato de que consiste em ou inclui SEQ ID No: 16.

15. Polipeptídeo de acordo com qualquer uma das reivindica-

ções 1 a 14, caracterizado pelo fato de que compreende uma ou mais mutação(ões) que aumenta(m) a solubilidade do polipeptídeo em relação a um polipeptídeo correspondente que não tem as ditas mutações.

5 16. Polipeptídeo de acordo com a reivindicação 15, caracterizado pelo fato de que pelo menos um aminoácido hidrofóbico exposto a solvente é substituído por um aminoácido carregado.

17. Polipeptídeo de acordo com a reivindicação 15 ou 16, caracterizado pelo fato de que as ditas mutações estão dentro dos 6 aminoácidos C-terminais do polipeptídeo.

10 18. Polipeptídeo de acordo com qualquer uma das reivindicações 15 a 17, caracterizado pelo fato de que os aminoácidos que correspondem a 196L e/ou 198L de SEQ ID NO: 3 são mutados para 196D e 198D respectivamente.

15 19. Polipeptídeo de acordo com qualquer uma das reivindicações 15 a 18, caracterizado pelo fato de que compreende as mutações que correspondem a 19Q→M, 20G→D, 21S→Q, 83A→S, 84G→Q, 85R→W, 87E→A, 99A→V, 196L→D e 198L→D usando a numeração de SEQ ID NO: 3.

20 20. Polipeptídeo de acordo com qualquer uma das reivindicações 15 a 17, caracterizado pelo fato de que consiste em ou inclui qualquer uma de SEQ ID Nos: 63 a 80.

21. Polipeptídeo de acordo com qualquer uma das reivindicações 14 a 19, caracterizado pelo fato de que consiste em ou inclui SEQ ID Nos: 17 ou 62.

25 22. Polipeptídeo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 21, caracterizado pelo fato de que compreende um "sinalizador" na porção C-terminal desse.

23. Polipeptídeo de acordo com a reivindicação 22, caracterizado pelo fato de que o dito sinalizador é um resíduo de cisteína.

30 24. Polipeptídeo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 21, caracterizado pelo fato de que é rotulado com um rótulo detectável.

25. Polipeptídeo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 24, caracterizado pelo fato de que o polipeptídeo está associado com pelo menos uma cadeia de polialquileno glicol.

5 26. Polipeptídeo de acordo com a reivindicação 25, caracterizado pelo fato de que a(s) cadeia(s) de polialquileno glicol é/são ligadas covalentemente ao polipeptídeo.

27. Polipeptídeo de acordo com a reivindicação 25 ou 26, caracterizado pelo fato de que a(s) cadeia(s) de polialquileno glicol compreende(m) pelo menos duas unidades de repetição de polialquileno glicol.

10 28. Polipeptídeo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 27, caracterizado pelo fato de que é associado com um agente terapêutico.

15 29. Polipeptídeo de acordo com a reivindicação 28, caracterizado pelo fato de que o polipeptídeo é ligado covalentemente a um agente terapêutico.

30. Polipeptídeo de acordo com a reivindicação 29, caracterizado pelo fato de que o agente terapêutico é ligado covalentemente à terminação C do polipeptídeo.

20 31. Polipeptídeo de acordo com qualquer uma das reivindicações 28 a 30, caracterizado pelo fato de que o agente terapêutico é uma molécula imune efetora.

32. Polipeptídeo de acordo com a reivindicação 31, caracterizado pelo fato de que a molécula imune efetora é uma citocina.

25 33. Polipeptídeo de acordo com a reivindicação 32, caracterizado pelo fato de que a molécula imune efetora é IL-4, IL-10 ou IL-13.

30 34. Complexo multivalente, caracterizado pelo fato de que compreende pelo menos dois polipeptídeos como definidos em qualquer uma das reivindicações 1 a 33, o dito complexo multivalente apresentando um K_D para uma dada pMHC Classe I de menos do que ou igual a $1 \mu M$ e/ou "off rate" (k_{off}) para a dada pMHC Classe I de $2S^{-1}$ ou mais lento.

35. Complexo multivalente de acordo com a reivindicação 34, caracterizado pelo fato de que os polipeptídeos são ligados por uma cadeia

de polímero não-peptídica ou uma seqüência peptídica ligante.

36. Complexo multivalente de acordo com a reivindicação 34, caracterizado pelo fato de que a cadeia de polímero ou seqüência peptídica ligante se estende entre os resíduos de aminoácidos de cada polipeptídeo que não estão localizados no domínio de ligação de pMHC Classe I dos polipeptídeos.

37. Complexo multivalente de acordo com a reivindicação 35 ou 36, caracterizado pelo fato de que os polipeptídeos são ligados por uma cadeia de polialquileno glicol ou um ligante peptídico derivado de um domínio de multimerização humano.

38. Complexo multivalente de acordo com a reivindicação 37, caracterizado pelo fato de que um radical espaçador de alquileno divalente está localizado entre a cadeia de polialquileno glicol e seu ponto de ligação a um polipeptídeo do complexo.

39. Complexo multivalente de acordo com a reivindicação 37 ou 38, caracterizado pelo fato de que a cadeia de polialquileno glicol compreende pelo menos duas unidades de repetição de polietileno glicol.

40. Complexo multivalente de acordo com qualquer uma das reivindicações 34 a 39, caracterizado pelo fato de que é um dímero ou um tetrâmero.

41. Complexo multivalente de acordo com qualquer uma das reivindicações 34 a 40, caracterizado pelo fato de que é rotulado com um rótulo detectável.

42. Complexo multivalente, caracterizado pelo fato de que compreende pelo menos dois polipeptídeos como definidos em qualquer uma das reivindicações 34 a 40 em que (i) pelo menos um do dito polipeptídeo está associado com um agente terapêutico como definido em qualquer uma das reivindicações 16 a 21.

43. Polipeptídeo ou complexo multivalente de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 42, caracterizado pelo fato de que é solúvel.

44. Ácido nucléico isolado, caracterizado pelo fato de que codifi-

ca um polipeptídeo como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 33.

5 45. Ácido nucléico isolado, caracterizado pelo fato de que codifica como definido na reivindicação 44, que foi adaptado para alto nível de expressão em uma célula hospedeira.

46. Vetor, caracterizado pelo fato de que incorpora um ácido nucléico como definido na reivindicação 44 ou 45.

10 47. Célula isolada ou uma partícula, caracterizada pelo fato de que apresenta pelo menos um polipeptídeo como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 22.

15 48. Composição farmacêutica, caracterizada pelo fato de que compreende um polipeptídeo como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 27, ou um complexo multivalente como definido em qualquer uma das reivindicações 33 a 41, ou uma pluralidade de células ou partículas como definidas na reivindicação 47, junto com um veículo farmacêuticamente aceitável.

20 49. Uso de um polipeptídeo como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 27, ou um complexo multivalente como definido em qualquer uma das reivindicações 34 a 41, ou uma pluralidade de células ou partículas como definidas na reivindicação 47, uso este caracterizado pelo fato de que é na fabricação de um medicamento para o tratamento de doença auto-imune, o dito medicamento sendo adaptado para administração parenteral.

25 50. Uso terapêutico de um polipeptídeo, caracterizado pelo fato de que é como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 27, ou um complexo multivalente como definido em qualquer uma das reivindicações 34 a 41, ou uma pluralidade de células ou partículas como definidas na reivindicação 45.

30 51. Composição farmacêutica, caracterizada pelo fato de que compreende um polipeptídeo como definido em qualquer uma das reivindicações 28 a 33, ou um complexo multivalente como definido na reivindicação 42, junto com um veículo farmacêuticamente aceitável.

52. Uso de um polipeptídeo como definido em qualquer uma das reivindicações 28 a 33, ou um complexo multivalente como definido na reivindicação 42, uso este caracterizado pelo fato de que é na fabricação de um medicamento para o tratamento de doença auto-imune, o dito medicamento sendo adaptado para administração parenteral.

53. Uso terapêutico de um polipeptídeo, caracterizado pelo fato de que é como definido em qualquer uma das reivindicações 28 a 33, ou um complexo multivalente como definido na reivindicação 42.

54. Método de tratamento de doença auto-imune, caracterizado pelo fato de que compreende administrar a um indivíduo que sofre de tal doença auto-imune uma quantidade eficaz de um polipeptídeo como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 27, um complexo multivalente como definido em qualquer uma das reivindicações 34 a 41, ou uma pluralidade de células ou partículas como definidas na reivindicação 47.

55. Uso de um polipeptídeo como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 27, ou um complexo multivalente como definido nas reivindicações 34 a 41 ou uma pluralidade de células ou partículas como definidas na reivindicação 47, referido uso sendo caracterizado pelo fato de que é no preparo de uma composição para o tratamento de doença auto-imune.

56. Método de tratamento de doença auto-imune, caracterizado pelo fato de que compreende administrar a um indivíduo que sofre de tal doença auto-imune uma quantidade eficaz de um polipeptídeo como definido nas reivindicações 28 a 33 ou um complexo multivalente como definido na reivindicação 42.

57. Uso de um polipeptídeo como definido em qualquer uma das reivindicações 28 a 33, ou um complexo multivalente como definido na reivindicação 42, referido uso sendo caracterizado pelo fato de que é no preparo de uma composição para o tratamento de doença auto-imune.

58. Método para detectar moléculas-alvo pMHC caracterizado pelo fato de que compreende:

(i) contatar as moléculas de pMHC com um polipeptídeo como definido na reivindicação 24, ou um complexo multivalente do mesmo, como

definido na reivindicação 41 que se liga à molécula de pMHC; e

(ii) detectar referida ligação.

5 59. Método de identificar uma variante de alta afinidade de uma dada molécula de ILT que tem a propriedade de ligação a uma dada pMHC Classe I, caracterizado pelo fato de que o dito polipeptídeo tem um K_D para a dita pMHC Classe I de menos do que ou igual a $1\mu\text{M}$ e/ou tem "off rate" (k_{off}) para a dita molécula de pMHC Classe I de 2S^{-1} ou mais lento, e que o dito polipeptídeo tem pelo menos 45% de identidade e/ou 55% de similaridade com SEQ ID NO: 7 E o dito polipeptídeo inibe a ligação de CD8 a dada p-
10 MHC em um grau maior do que o polipeptídeo SEQ ID NO: 3, o dito método compreendendo:

(i) A produção de uma biblioteca de moléculas de ILT que compreendem uma ou mais mutações na sequência de aminoácido em comparação com a molécula de ILT selvagem correspondente; e

15 (ii) Colocar as ditas moléculas de ILT mutadas em contato com uma pMHC Classe I alvo sob condições adequadas para permitir a ligação da molécula de ILT mutada a pMHC Classe I alvo; e

(iii) Medir o K_D e/ou k_{off} das interações; e

(iv) Selecionar o(s) polipeptídeo(s) com as características de
20 ligação desejadas.

60. Método de produzir um polipeptídeo como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 23, caracterizado pelo fato de que compreende:

(i) transformar uma célula hospedeira com um vetor como definido na reivindicação 46; e
25

(ii) cultivar as células transformadas sob condições adequadas para a expressão do polipeptídeo como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 23; e

(iii) recuperar o polipeptídeo expresso.

30 61. Método de acordo com a reivindicação 60, caracterizado pelo fato de que as células hospedeiras são células de *E. coli*.

62. Método, de acordo com a reivindicação 60, caracterizado

pelo fato de que as células hospedeiras são células de levedura.

63. Método de acordo com a reivindicação 60, caracterizado pelo fato de que as células hospedeiras são células de *Pichia pastoris*.