



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 112020004389-3 A2



(22) Data do Depósito: 06/09/2018

(43) Data da Publicação Nacional: 08/09/2020

(54) Título: COMPOSIÇÃO, E, MÉTODO PARA TRATAR OU PREVENIR UMA DOENÇA OU DISTÚRBIO EM UM INDIVÍDUO EM NECESSIDADE DO MESMO.

(51) Int. Cl.: A61K 38/00; A61K 38/20; C07K 14/54; C12N 15/24.

(30) Prioridade Unionista: 03/04/2018 US 62/652,279; 06/09/2017 US 62/554,605.

(71) Depositante(es): YALE UNIVERSITY.

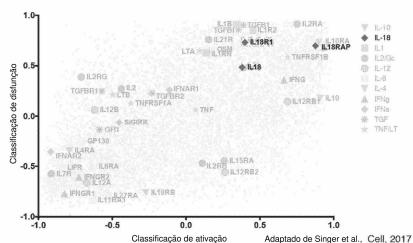
(72) Inventor(es): AARON RING; TING ZHOU; SUZANNE FISCHER.

(86) Pedido PCT: PCT US2018049648 de 06/09/2018

(87) Publicação PCT: WO 2019/051015 de 14/03/2019

(85) Data da Fase Nacional: 04/03/2020

(57) Resumo: A presente invenção provê composições e métodos compreendendo um ativador de atividade de IL-18 para uso em aplicações terapêuticas e não terapêuticas. O ativador provê sinalização da atividade de IL-18 mesmo na presença de uma molécula inibidora, tal como IL-18BP.



COMPOSIÇÃO, E, MÉTODO PARA TRATAR OU PREVENIR UMA DOENÇA OU DISTÚRBIO EM UM INDIVÍDUO EM NECESSIDADE DO MESMO

REFERÊNCIA CRUZADA

[001] Este pedido reivindica o benefício dos pedidos provisórios de patente U.S. 62/554.605, depositado em 6 de setembro de 2017, e 62/652.279, depositado em 3 de abril de 2018, cada um dos quais é aqui incorporado pela referência na sua íntegra.

INTRODUÇÃO

[002] Interleucina 18 (IL-18) é uma citocina pró-inflamatória que pode estimular células T, células NK e células mieloides. IL-18 foi proposta como um agente imunoterapêutico para o tratamento de câncer, em decorrência da sua capacidade de estimular células imunes antitumor. Entretanto, a eficiência clínica de IL-18 tem sido limitada.

[003] Assim, existe uma necessidade de composições e métodos que proveem sinalização da atividade de IL-18 eficiente para tratar e prevenir câncer e outras doenças e distúrbios. A presente invenção aborda essa necessidade não atendida.

SUMÁRIO

[004] Em um aspecto, a descrição se refere a uma composição que comprehende um polipeptídeo variante de IL-18. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 se liga especificamente ao receptor de IL-18 (IL-18R), e em que o polipeptídeo variante de IL-18 exibe ligação substancialmente reduzida à proteína de ligação de IL-18 (IL-18BP).

[005] Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 comprehende pelo menos uma mutação relacionada à IL-18 tipo selvagem (WT). Em algumas modalidades, a IL-18 WT é IL-18 de humano comprehendendo a sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 30. Em algumas modalidades, a IL-18 WT é IL-18 de murino comprehendendo a sequência de

aminoácido de SEQ ID NO: 31.

[006] Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 compreende pelo menos uma mutação selecionada a partir do grupo que consiste em Y1X, L5X, K8X, M51X, K53X, S55X, Q56X, P57X, G59X, M60X, E77X, Q103X, S105X, D110X, N111X, M113X, V153X, e N155X com relação à SEQ ID NO: 30.

[007] Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 compreende pelo menos uma mutação selecionada a partir do grupo que consiste em Y1H, Y1R, L5H, L5I, L5Y, K8Q, K8R, M51T, M51K, M51D, M51N, M51E, M51R, K53R, K53G, K53S, K53T, S55K, S55R, Q56E, Q56A, Q56R, Q56V, Q56G, Q56K, Q56L, P57L, P57G, P57A, P57K, G59T, G59A, M60K, M60Q, M60R, M60L, E77D, Q103E, Q103K, Q103P, Q103A, Q103R, S105R, S105D, S105K, S105N, S105A, D110H, D110K, D110N, D110Q, D110E, D110S, D110G, N111H, N111Y, N111D, N111R, N111S, N111G, M113V, M113R, M113T, M113K, V153I, V153T, V153A, N155K, e N155H com relação à SEQ ID NO: 30.

[008] Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 compreende as mutações M51X, M60X, S105X, D110X, e N111X com relação à SEQ ID NO: 30.

[009] Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 compreende as mutações M51X, K53X, Q56X, S105X, e N111X com relação à SEQ ID NO: 30.

[0010] Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 compreende a sequência de aminoácido apresentada em qualquer uma das SEQ ID NOs.: 34-59, 73-91, 191-193, ou um fragmento das mesmas.

[0011] Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 compreende pelo menos uma mutação selecionada a partir do grupo que consiste em N1X, M50X, Y51X, K52X, S54X, E55X, V56X, R57X, G58X, L59X, R104X, N109X, e L151X com relação à SEQ ID NO: 31.

[0012] Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 compreende pelo menos uma mutação selecionada a partir do grupo que consiste em N1H, N1Y, M50A, M50S, M50V, M50G, M50T, Y51R, K52V, K52S, K52T, K52G, K52A, S54R, S54K, S54G, S54N, E55R, E55H, E55N, E55D, E55G, V56L, V56M, V56R, V56A, V56S, V56Q, R57G, R57K, G58A, L59K, L59R, L59V, R104K, R104L, R104Q, R104S, N109D, e L151V com relação à SEQ ID NO: 31.

[0013] Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 compreende a sequência de aminoácido apresentada em qualquer uma das SEQ ID NOs.: 60-72, ou um fragmento das mesmas.

[0014] Em um aspecto, a descrição se refere a uma composição que compreende um ácido nucleico que codifica o polipeptídeo variante de IL-18.

[0015] Em algumas modalidades, a composição compreende adicionalmente um ou mais agentes selecionados a partir de: (i) um inibidor do ponto de controle imunológico; (ii) um agente que inibe uma ou mais proteínas selecionadas a partir de PD-L1, PD1, CTLA4, TIM3, TIGIT, LAG3, B7H3, B7H4, VISTA, ICOS, GITR, 41BB, OX40, e CD40; (iii) um agente de opsonização de células de câncer; e (iv) um agente que alveja um ou mais抗ígenos selecionados a partir de: CD19, CD20, CD22, CD24, CD25, CD30, CD33, CD37, CD38, CD44, CD45, CD47, CD51, CD52, CD56, CD62L, CD70, CD74, CD79, CD80, CD96, CD97, CD99, CD123, CD134, CD138, CD152 (CTLA-4), CD200, CD213A2, CD221, CD248, CD276 (B7-H3), B7-H4, CD279 (PD-1), CD274 (PD-L1), CD319, EGFR, EPCAM, 17-1A, HER1, HER2, HER3, CD117, C-Met, HGFR, PDGFRA, AXL, TWEAKR, PTHR2, HAVCR2 (TIM3), gangliosídeo GD2, MUC1, mucina CanAg, mesotelina, endoglolina, antígeno de Lewis-Y, CEA, CEACAM1, CEACAM5, CA-125, PSMA, BAFF, FGFR2, TAG-72, gelatinase B, glipicana 3, nectina-4, BCMA, CSF1R, SLAMF7, integrina $\alpha_v\beta_3$, TYRP1, GP NMB, CLDN18.2, FOLR1, CCR4, CXCR4, MICA, antígeno C242, DLL3, DLL4, EGFL7, vimentina,

domínio B extra de fibronectina, TROP-2, LRRC15, FAP, SLTRK6, NOTCH2, NOTCH3, Tenascin-3, STEAP1, e NRP1.

[0016] Em um aspecto, a descrição se refere a um método para tratar ou prevenir uma doença ou distúrbio em um indivíduo em necessidade do mesmo, compreendendo administrar ao indivíduo uma composição que compreende o polipeptídeo variante de IL-18 ou o ácido nucleico que codifica o polipeptídeo variante de IL-18.

[0017] Em algumas modalidades, a doença ou distúrbio é câncer. Em algumas modalidades, o câncer é um câncer que é resistente aos inibidores de ponto de controle imunológico (ICIs). Em algumas modalidades, o câncer é associado a um tumor que perdeu a expressão de MHC de classe I.

[0018] Em algumas modalidades, a doença ou distúrbio é uma doença ou distúrbio metabólico. Em algumas modalidades, a doença ou distúrbio é uma doença infecciosa.

[0019] Em algumas modalidades, o método compreende administrar ao indivíduo o polipeptídeo variante de IL-18 e pelo menos um outro agente. Em algumas modalidades, o pelo menos um outro agente compreende um inibidor do ponto de controle imunológico. Em algumas modalidades, o inibidor do ponto de controle imunológico é um agente que inibe PD-L1, PD1, CTLA4, TIM3, TIGIT, LAG3, B7H3, B7H4, VISTA, ICOS, GITR, 41BB, OX40, ou CD40, ou qualquer combinação dos mesmos. Em algumas modalidades, o pelo menos um outro agente compreende um agente de opsonização de células de câncer. Em algumas modalidades, o pelo menos um outro agente alveja um ou mais antígenos selecionados a partir de: CD19, CD20, CD22, CD24, CD25, CD30, CD33, CD37, CD38, CD44, CD45, CD47, CD51, CD52, CD56, CD62L, CD70, CD74, CD79, CD80, CD96, CD97, CD99, CD123, CD134, CD138, CD152 (CTLA-4), CD200, CD213A2, CD221, CD248, CD276 (B7-H3), B7-H4, CD279 (PD-1), CD274 (PD-L1), CD319, EGFR, EPCAM, 17-1A, HER1, HER2, HER3, CD117, C-

Met, HGFR, PDGFRA, AXL, TWEAKR, PTHR2, HAVCR2 (TIM3), gangliosídeo GD2, MUC1, mucina CanAg, mesotelina, endoglin, antígeno de Lewis-Y, CEA, CEACAM1, CEACAM5, CA-125, PSMA, BAFF, FGFR2, TAG-72, gelatinase B, glipicana 3, nectina-4, BCMA, CSF1R, SLAMF7, integrina $\alpha_v\beta_3$, TYRP1, GP NMB, CLDN18.2, FOLR1, CCR4, CXCR4, MICA, antígeno C242, DLL3, DLL4, EGFL7, vimentina, domínio extra de fibronectina B, TROP-2, LRRC15, FAP, SLITRK6, NOTCH2, NOTCH3, Tenascin-3, STEAP1, e NRP1. Em algumas modalidades, o pelo menos um outro agente é conjugado com o polipeptídeo variante de IL-18. Em algumas modalidades, o pelo menos um outro agente é uma célula T ou célula NK alterada. Em algumas modalidades, o pelo menos um outro agente é um vírus oncolítico.

[0020] Em um aspecto, a descrição se refere a uma composição que comprehende um inibidor da proteína de ligação de IL-18 (IL-18BP) ou antagonista de IL-18BP, em que o inibidor ou antagonista inibe a capacidade de IL-18BP de neutralizar IL-18 endógena. Em algumas modalidades, o inibidor ou antagonista comprehende pelo menos um selecionado a partir do grupo que consiste em: um composto químico, um polipeptídeo, um peptídeo, um peptidomimético, um anticorpo, uma ribozima, um composto químico de molécula pequena, e uma molécula de ácido nucleico anti-sentido.

[0021] Em algumas modalidades, a composição comprehende um polipeptídeo variante de IL-18, em que o polipeptídeo variante de IL-18 se liga especificamente a IL-18BP e em que o polipeptídeo variante de IL-18 exibe ligação substancialmente reduzida ao receptor de IL-18 (IL-18R).

[0022] Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 comprehende pelo menos uma mutação relacionada à IL-18 tipo selvagem (WT). Em algumas modalidades, a IL-18 WT é IL-18 de humano comprehendendo a sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 30. Em algumas modalidades, a IL-18 WT é IL-18 de murino comprehendendo a sequência de

aminoácido de SEQ ID NO: 31.

[0023] Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 compreende pelo menos uma mutação selecionada a partir do grupo que consiste em Y1X, L5X, D17X, E31X, T34X, D35X, S36X, D37X, D40X, N41X, M51X, Q56X, M60X, Q103X, H109X, M113X, e R131X com relação à SEQ ID NO: 30.

[0024] Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 compreende pelo menos uma mutação selecionada a partir do grupo que consiste em Y1D, Y1F, Y1H, Y1L, L5F, L5H, D17A, D17G, D17R, D17H, E31A, E31T, E31G, E31K, E31R, T34A, T34K T34E, D35S, D35A, D35Y, S36N, S36K, S36R, D37P, D37A, D37R, D37H, D37L, D37V, D40Y D40S, D40A, N41K, N41S, N41R, M51F, M51L, M51I, Q56H, M60L, M60F, M60I, Q103L, Q103I, H109A, H109P, H109D, M113L, M113I, M113F, e R131S com relação à SEQ ID NO: 30.

[0025] Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 compreende a sequência de aminoácido apresentada em qualquer uma das SEQ ID NOs.: 92-125, ou um fragmento das mesmas.

[0026] Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 compreende as mutações D17X, E30X, e Q103X com relação à SEQ ID NO: 30.

[0027] Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 compreende as mutações D17X, E30X, D35X, M51X, e Q103X com relação à SEQ ID NO: 30.

[0028] Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 compreende pelo menos uma mutação selecionada a partir do grupo que consiste em N1X, L5X, D17X, E30X, T33X, D34X, I35X, D36X, M50X, Q102X, R104, H108X, N109X, M111X, D129X, e D130X com relação à SEQ ID NO: 31.

[0029] Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18

compreende pelo menos uma mutação selecionada a partir do grupo que consiste em N1Y, N1D, N1H, N1L, N1F, N1V, N1I, L5Y, L5H, D17Q, D17G, D17A, D17E, D17S, D17N, E30A, E30R, E30K, E30T, E30G, T33G, T33A, T33E, T33R, T33K, D34Y, D34S, D34A, I35T, I35K, I35R, D36V, D36A, D36G, D36H, D36P, D36R, D36L, M50F, M50L, Q102L, Q102I, R104E, R104A, R104P, R104G, R104Q, R104H, H108D, H108A, N109R, N109S, N109T, N109I, M111L, M111I, D129A, D129F, D129V, D129Y, D129S, D130E, D130T, D130G, D130N, D130R, D130S, D130Q, e D130H com relação à SEQ ID NO: 31.

[0030] Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 compreende a sequência de aminoácido apresentada em qualquer uma das SEQ ID NOs.: 126-190, ou um fragmento das mesmas.

[0031] Em um aspecto, a descrição se refere a uma composição que compreende um ácido nucleico que codifica o polipeptídeo variante de IL-18.

[0032] Em um aspecto, a composição compreende adicionalmente um ou mais agentes selecionados a partir de: (i) um inibidor do ponto de controle imunológico; (ii) um agente que inibe uma ou mais proteínas selecionadas a partir de PD-L1, PD1, CTLA4, TIM3, TIGIT, LAG3, B7H3, B7H4, VISTA, ICOS, GITR, 41BB, OX40, e CD40; (iii) um agente de opsonização de células de câncer; e (iv) um agente que alveja um ou mais抗ígenos selecionados a partir de: CD19, CD20, CD22, CD24, CD25, CD30, CD33, CD37, CD38, CD44, CD45, CD47, CD51, CD52, CD56, CD62L, CD70, CD74, CD79, CD80, CD96, CD97, CD99, CD123, CD134, CD138, CD152 (CTLA-4), CD200, CD213A2, CD221, CD248, CD276 (B7-H3), B7-H4, CD279 (PD-1), CD274 (PD-L1), CD319, EGFR, EPCAM, 17-1A, HER1, HER2, HER3, CD117, C-Met, HGFR, PDGFRA, AXL, TWEAKR, PTHR2, HAVCR2 (TIM3), gangliosídeo GD2, MUC1, mucina CanAg, mesotelina, endoglina, antígeno de Lewis-Y, CEA, CEACAM1, CEACAM5, CA-125, PSMA, BAFF, FGFR2, TAG-72, gelatinase B, glipicana 3, nectina-4, BCMA,

CSF1R, SLAMF7, integrina $\alpha_v\beta_3$, TYRP1, GP NMB, CLDN18.2, FOLR1, CCR4, CXCR4, MICA, antígeno C242, DLL3, DLL4, EGFL7, vimentina, domínio extra de fibronectina B, TROP-2, LRRC15, FAP, SLTRK6, NOTCH2, NOTCH3, Tenascina-3, STEAP1, e NRP1.

[0033] Em um aspecto, a descrição se refere a um método para tratar ou prevenir uma doença ou distúrbio em um indivíduo em necessidade do mesmo, compreendendo administrar ao indivíduo uma composição que compreende o inibidor da proteína de ligação de IL-18 (IL-18BP) ou antagonista de IL-18BP.

[0034] Em algumas modalidades, a doença ou distúrbio é câncer. Em algumas modalidades, o câncer é um câncer que é resistente aos inibidores de ponto de controle imunológico (ICIs). Em algumas modalidades, o câncer é associado a um tumor que perdeu a expressão de MHC de classe I.

[0035] Em algumas modalidades, a doença ou distúrbio é uma doença ou distúrbio metabólico. Em algumas modalidades, a doença ou distúrbio é uma doença infecciosa.

[0036] Em algumas modalidades, o método compreende administrar ao indivíduo pelo menos um outro agente além do inibidor de IL-18BP ou antagonista de IL-18BP. Em algumas modalidades, o pelo menos um outro agente compreende um inibidor do ponto de controle imunológico. Em algumas modalidades, o inibidor do ponto de controle imunológico é um agente que inibe PD-L1, PD1, CTLA4, TIM3, TIGIT, LAG3, B7H3, B7H4, VISTA, ICOS, GITR, 41BB, OX40, ou CD40, ou qualquer combinação dos mesmos. Em algumas modalidades, o pelo menos um outro agente compreende um agente de opsonização de células de câncer. Em algumas modalidades, o pelo menos um outro agente alveja um ou mais抗ígenos selecionados a partir de: CD19, CD20, CD22, CD24, CD25, CD30, CD33, CD37, CD38, CD44, CD45, CD47, CD51, CD52, CD56, CD62L, CD70, CD74, CD79, CD80, CD96, CD97, CD99, CD123, CD134, CD138, CD152

(CTLA-4), CD200, CD213A2, CD221, CD248, CD276 (B7-H3), B7-H4, CD279 (PD-1), CD274 (PD-L1), CD319, EGFR, EPCAM, 17-1A, HER1, HER2, HER3, CD117, C-Met, HGFR, PDGFRA, AXL, TWEAKR, PTHR2, HAVCR2 (TIM3), gangliosídeo GD2, MUC1, mucina CanAg, mesotelina, endoglin, antígeno de Lewis-Y, CEA, CEACAM1, CEACAM5, CA-125, PSMA, BAFF, FGFR2, TAG-72, gelatinase B, glipicana 3, nectina-4, BCMA, CSF1R, SLAMF7, integrina $\alpha_v\beta_3$, TYRP1, GP NMB, CLDN18.2, FOLR1, CCR4, CXCR4, MICA, antígeno C242, DLL3, DLL4, EGFL7, vimentina, domínio extra de fibronectina B, TROP-2, LRRC15, FAP, SLTRK6, NOTCH2, NOTCH3, Tenascina-3, STEAP1, e NRP1. Em algumas modalidades, o inibidor ou antagonista é um polipeptídeo variante de IL-18, e o pelo menos um outro agente é conjugado com o polipeptídeo variante de IL-18. Em algumas modalidades, o pelo menos um outro agente é uma célula T ou célula NK alterada. Em algumas modalidades, o pelo menos um outro agente é um vírus oncolítico.

DESCRIÇÃO RESUMIDA DOS DESENHOS

[0037] A descrição detalhada a seguir de modalidades da invenção será melhor entendida quando lida em conjunto com os desenhos em anexo. Deve-se entender que a invenção não é limitada aos arranjos e instrumentalidades exatos das modalidades mostradas nos desenhos.

[0038] Figura 1A e Figura 1B representam resultados a partir de experimentos de exemplo, demonstrando que a via de IL-18 é um alvo para imunoterapia para tumor. (Figura 1A) A via de IL-18 (incluindo IL-18 e suas subunidades receptoras) é regulada de maneira crescente tanto nos programas de célula T tumoral ativados quanto disfuncionais, da maneira observada na análise de expressão de RNAseq para citocinas e receptores em CD8+ TILs. Os genes são denominados com classificação de “ativação” e “disfunção”, em comparação com células T naïve. Destaques em amarelo indicam citocina IL-18, IL-18R1 ($R\alpha$), e IL-18RAP ($R\beta$). Os dados são adaptados a partir de

Singer et al. (Singer, M. et al., 2016, Cell, 166:1500-1511, e1509). (Figura 1B) O receptor de subunidades de IL-18, IL-18R α e IL-18R β , é parte de um programa de expressão de gene associado à exposição crônica ao antígeno, de maneira observada após a infecção com LCMV (esquerda; CD4) ou VSV-OVA (direita; CD8). Os dados são a partir da base de dados de ImmGen.

[0039] Figura 2A até Figura 2C representam resultados a partir de experimentos de exemplo que demonstra que IL-18BP apresenta características de um “ponto de controle imunológico solúvel”. (Figura 2A) IL-18BP medeia resposta negativa direcionada ao Interferon- γ (IFN- γ) de IL-18, que faz lembrar do ponto de controle imunológico PD-L1. Um esquema do circuito de retorno IL-18/IFN- γ /IL-18BP é representado. As setas pretas indicam estímulo, circuitos vermelhos indicam inibição. (Figura 2B) IL-18BP é regulado de maneira crescente no câncer gástrico e de mama, da maneira observada nos dados a partir das bases de dado TCGA e Oncomina. (Figura 2C) A expressão de PD-1 e IL-18BP está muito relacionada às amostras volumosas de câncer de mama e gástrico (a partir da base de dados TCGA). R=0,78 e 0,65, respectivamente.

[0040] Figura 3A até a Figura 3C representam resultados a partir de experimentos de exemplo, demonstrando variantes geneticamente modificados de IL-18 de humano para independência em IL-18BP que usa exibição em levedura. (Figura 3A) Uma biblioteca guiada por estrutura para tornar aleatório resíduos na interface IL-18:IL-18BP foi determinada e introduzida em um sistema de exibição em levedura. Os clones de levedura foram selecionados usando seleção celular magnética e por fluorescência para se ligar à IL-18R α , e contra-selecionados contra IL-18BP. (Figura 3B) Sumário da evolução direcionada para gerar variantes de IL-18 resistentes à IL-18BP. O texto em azul indica condições de seleção positiva, texto vermelho mostra contra-seleção. (Figura 3C) Análise por citometria de fluxo de IL-18 WT exibida em leveduras (esquerda), ou variantes após a evolução

direcionada (direita). O eixo Y mostra a ligação de IL-18BP, o eixo x mostra a ligação de IL-18R α . Após 5 ciclos de avaliação direcionada, os clones restantes preferiram mais IL-18R α à IL-18BP.

[0041] Figura 4 representa resultados a partir de experimentos de exemplo, demonstrando um sumário de variantes das sequências de IL-18 de humano resistente a chamariz (“DR-IL-18”, também denominado “DR-18”). A posição de cada posição mutada e o resíduo correspondente na forma madura de IL-18 tipo selvagem de humano é indicada na parte superior da tabela. hC4 até hE12 representam sequências obtidas após a seleção com evolução direcionada. hCS1-hCS4 são sequências consensuais derivadas das sequências selecionadas. Os resíduos sombreados representam as cinco mutações mais observadas.

[0042] Figura 5A e Figura 5B representam resultados a partir de experimentos de exemplo, demonstrando caracterização biofísica de variantes de DR-IL-18 de humano. (Figura 5A) Variantes de DR-IL-18 exibidos em leveduras, hCS1-hCS4 e A8, são capazes de se ligar a hIL-18R α com isoterma de ligação comparável como WT IL-18 de humano (esquerda). Em contrapartida, muito pouca ligação é observada com os mesmos variantes e hIL-18BP (direita). (Figura 5B) Sensogramas representativos de ressonância plasmática de superfície entre hIL-18BP biotinilada imobilizada e os variantes de DR-IL-18. hIL-18 recombinante (esquerda) se liga à IL-18BP com afinidade primorosamente alta, $K_D=2,0$ pM, ao passo que hCS1 (direita) mostra ligação muito atenuada, com uma taxa de dissociação muito rápida e $K_D=15,2$ nM. Estes dados são sumarizados nas tabelas 6 e 7.

[0043] Figura 6A e Figura 6B representam resultados a partir de experimentos de exemplo, que demonstram variantes de DR-IL-18 de humano que não são inibidos por IL-18BP. (Figura 6A) IL-18BP recombinante inibe IL-18R α biotinilada a partir da ligação de IL-18 WT exibida em leveduras, mas não afeta os variantes de DR-IL-18, hCS1-4 e A8 (esquerda). Em

contrapartida, IL-18BP neutraliza eficientemente a IL-18 E42A, K89A e E42A/K89A previamente descrita (Kim et al., 2001, Proc. Natl. Acad. Sci., 98(6):3304-3309) (direita) [E42 e K89 de Kim et al. são E6 e K53 de SEQ ID NO: 30, respectivamente]. IL-18R α biotinilada foi mantida em uma concentração fixa de 100 nM para todas as amostras. (Figura 6B) IL-18 WT e hCS1, hCS3, e hCS4 estimulam células repórteres IL-18 HEK-Blue com potência e eficiência comparável (esquerda). IL-18 tipo selvagem é muito sensível à aplicação de IL-18BP recombinante neste ensaio (IC50=3 nM), ao passo que hCS1 e hCS3 não são inibidas por IL-18BP recombinante, mesmo em concentrações de IL-18BP de 1 μ M (direita). hIL-18 foi mantida em uma concentração fixa de 5 nM e hCS1 e hCS3 a 2,5 nM.

[0044] Figura 7A até Figura 7C representam resultados a partir de experimentos de exemplo que demonstra variantes de IL-18 adicionais geneticamente modificados de humano para a independência em IL-18BP (variantes versão 2) usando exibição em leveduras. (Figura 7A) Sumário das posições em IL-18 de humano tornadas aleatórias na biblioteca versão 2.0. Os códons degenerados e o conjunto de aminoácidos codificados são fornecidos para cada posição. (Figura 7B) Sumário de evolução direcionada para gerar a versão 2.0 de variantes de IL-18 resistentes a IL-18B. O texto em azul indica condições de seleção positiva, o texto em vermelho mostra contra-seleção. (Figura 7C) Análise por citometria de fluxo do progresso em criar variantes de DR-IL-18 versão 2.0. As leveduras obtidas após ciclos 1, 4, e 6 foram coradas simultaneamente com tetrâmeros de IL-18BP estreptavidina-PE 250 nM ou IL-18R α 100 nM, marcados diretamente com AlexaFluor647. O eixo Y mostra a ligação de IL-18BP, o eixo x mostra a ligação de IL-18R α . Após 6 ciclos de evolução direcionada, os clones restantes preferiram mais IL-18R α à IL-18BP.

[0045] Figura 8 representa resultados a partir de experimentos de exemplo, demonstrando um sumário das sequências de variantes de IL-18 de

humano versão 2.0 resistentes a chamariz (DR-IL-18). A posição de cada posição mutada e o resíduo correspondente na forma madura de IL-18 tipo selvagem de humano é indicada na parte superior da tabela. As linhas sombreadas indicam variantes de sequência recorrente obtidos tanto no ciclo 5 quanto no ciclo 6.

[0046] Figura 9 representa resultados a partir de experimentos de exemplo, demonstrando caracterização biofísica de variantes de DR-IL-18 de humano versão 2.0. (Figura 9A) Variantes de DR-IL-18 versão 2.0 exibidos em leveduras são capazes de se ligar a hIL-18R α com isotermas de ligação comparável à IL-18 WT de humano. (Figura 9B) Em contrapartida, muito pouca ligação é observada com os mesmos variantes e hIL-18BP. (Figura 9C) A estabilidade térmica dos variantes de DR-IL-18 versão 2.0 foi avaliada aquecendo os variantes exibidos em leveduras através de uma faixa de temperaturas por 15 minutos, seguido por coloração com hIL-18R α . Os variantes de DR-IL-18 versão 2.0 eram mais termoestáveis que IL-18 WT ($T_m = 47,6\text{ }^{\circ}\text{C}$) e as sequências consensuais de primeira geração ($T_m=50,9$ e 40,2 para hCS1 e hCS2, respectivamente). (Figura 9D) Sumário das propriedades de ligação do receptor e estabilidade térmica dos variantes de DR-IL-18 de segunda geração. NBD = nenhuma ligação detectada. N.D. = valor não determinado.

[0047] Figura 10A até Figura 10C representam resultados a partir de experimentos de exemplo, demonstrando variantes de IL-18 de murino geneticamente modificados para independência de IL-18BP usando exibição em leveduras. (Figura 10A) Sumário de evolução direcionada para gerar variantes de IL-18 de murino resistentes à IL-18BP. O texto em azul indica condições de seleção positiva, o texto em vermelho mostra contra-seleção. (Figura 10B) Análise por citometria de fluxo de variantes de IL-18 de murino exibidos em leveduras após 5 ciclos de evolução direcionada. O eixo Y exibe a ligação de IL-18BP, o eixo x mostra ligação à IL-18R α . (Figura 10C)

Sumário das sequências de variantes de IL-18 de murino resistente a chamariz (DR-IL-18). A posição de cada posição mutada e o resíduo correspondente na forma madura de IL-18 tipo selvagem de murino é indicada na parte superior da tabela. mC1 até mH3 representam sequências obtidas após a seleção com evolução direcionada. mCS1 e mCS2 são sequências consensuais derivadas das sequências selecionadas. Os resíduos sombreados representam as cinco mutações mais observadas.

[0048] Figura 11A e Figura 11B representam resultados a partir de experimentos de exemplo, demonstrando caracterização biofísica de variantes de DR-IL-18 de murino. (Figura 11A) Variantes de DR-IL-18 exibidos em leveduras mA7, mB1, mC1, mE8, mCS1, e mCS2 são capazes de se ligar a mIL-18R α com isoterma de ligação comparável como WT IL-18 de murino (esquerda). Em contrapartida, muito pouca ligação é observada com os mesmos variantes e mIL-18BP (direita). (Figura 11B) Sensogramas representativos de ressonância plasmática de superfície entre mIL-18BP biotinilada imobilizada e os variantes de DR-IL-18 de murino. mIL-18 recombinante (esquerda) se liga à mIL-18BP com muita afinidade, $K_D=0,8$ pM, ao passo que mCS2 (direita) mostra ligação muito diminuída com um valor de K_D maior que 10 μ M. Estes dados são sumarizados nas tabelas 8 e 9.

[0049] Figura 12A até Figura 12D representam resultados a partir de experimentos de exemplo, demonstrando farmacodinâmica de DR-IL-18 administrada aos camundongos. (Figura 12A) Esquema do desenho do estudo. Os camundongos foram administrados com veículos (PBS), mIL-18 (1 mg/kg), ou o variante de DR-IL-18 mCS2 (1 mg/kg) uma vez por dia, por um total de sete doses (representadas como seringas). As amostras de sangue foram obtidas cinco horas após a injeção, dois dias antes do experimento, e nos dias 0, 3, e 6. (Figura 12B) Contagens de célula de sangue periférico para células CD4, CD8, NK e monócitos no dia 0, dia 3, e dia 6. Tanto IL-18 quanto mCS2 expandiram células NK e monócitos em um grau similar no dia

3. Para cada período de tempo (dia), a barra à esquerda é PBS, a barra média é IL-18, e a barra à direita é mCS2. (Figura 12C) Expressão de CD69 em células periféricas CD4, CD8, e NK. mCS2, mas não IL-18, estimulou a expressão de CD69 em células CD4 e CD. Tanto IL-18 quanto mCS2 aumentaram CD69 em células NK, mas o tratamento com mCS2 causou a expressão contínua de CD69 evidente no dia 6, em comparação com IL-18, que reverteu aos níveis da linha de base de CD69. Para cada período de tempo (dia), a barra à esquerda é PBS, a barra ao meio é IL-18, e a barra à direita é mCS2. (Figura 12D) Níveis séricos de citocina para interferon- γ (IFN- γ), MIP-1b, e G-CSF. O tratamento com mCS2 rendeu maiores níveis de IFN- γ , MIP-1b, e G-CSF do que o tratamento com mIL-18.

[0050] Figura 13 representa resultados a partir de experimentos de exemplo, demonstrando que o tratamento com DR-IL-18 diminui a composição de gordura corporal em camundongos. A composição de gordura corporal e massa magra foram medidas em camundongos tratados com 0,01, 0,1, ou 1 mg/kg do variante de DR-IL-18 mCS2 ou 1 mg/kg de mIL-18 WT a cada três dias. O tratamento com mCS2 produziu uma diminuição significativa na gordura corporal como um percentual total de massa corporal (painel superior). Isto foi manifestado por massa gorda menor ou estável (painel à esquerda), com aumento harmonioso na massa magra (painel à direita). Os camundongos tratados com veículo e tratados com mIL-18 mostraram aumento na massa de gordura corporal e massa magra estável com relação ao mesmo período de tratamento.

[0051] Figura 14A até 14B representam resultados a partir de experimentos de exemplo, demonstrando que DR-IL-18 é um imunoterapêutico eficiente em um modelo de melanoma. (Figura 14A) Gráficos de radar com crescimento de tumor para camundongos que carregam tumores de melanoma Yummer1.7 tratados com salina (controle), IL-18 WT (0,32 mg/kg), o variante de DR-IL-18 mCS2 (0,32 mg/kg), anti-PD1 (8

mg/kg), IL-18 + anti-PD1, ou mCS2 + anti-PD-1 duas vezes por semana. (Figura 14B) Curvas de sobrevivência a partir dos mesmos grupos como em (Figura 11A). mCS2 foi eficiente como uma monoterapia e sinergizado em combinação com anti-PD1 neste modelo.

[0052] Figura 15A e Figura 15B representam resultados a partir de experimentos de exemplo que demonstram que a eficiência de DR-IL-18 no modelo de melanoma da Figura 14 é dependente de linfócitos CD4 e CD8 e interferon gama. (Figura 15A) Gráficos de radar com crescimento de tumor para camundongos que carregam tumores de melanoma Yummer1.7 tratados com salina (controle), ou o variante de DR-IL-18 mCS2 (0,32 mg/kg) sozinho, ou em combinação com anticorpos esgotados contra CD8, CD4, interferon gama, ou NK1.1. (Figura 15B) Curvas de sobrevivência a partir dos mesmos grupos como em (Figura 15A).

[0053] Figura 16 representa resultados a partir de experimentos de exemplo, demonstrando eficiência dose-dependente de DR-IL-18 no modelo de tumor MC38. Gráficos de radar com crescimento de tumor a partir de camundongos que carregam tumores de câncer de cólon MC38 tratados com PBS (controle), 1,0 mg/kg de IL-18 WT, 1,0 mg/kg de mCS2, 0,1 mg/kg de mCS2, ou 0,01 mg/kg de mCS2 a cada três dias. IL-18 WT não foi eficiente em 1 mg/kg, ao passo que mCS2 mostrou eficiência parcial em 0,1 mg/kg e eficiência máxima em 1,0 mg/kg.

[0054] Figura 17 representa resultados a partir de experimentos de exemplo que demonstram a eficiência de DR-IL-18 sozinha, em combinação com o inibidor do ponto de controle imunológico anti-PD1 no modelo de tumor MC38. Gráficos de radar com crescimento de tumor são mostrados a partir de camundongos que carregam tumores de câncer de cólon de câncer MC38 tratados com PBS (controle), 0,32 mg/kg de IL-18 WT, 0,32 mg/kg do variante de DR-IL-18 mCS2, 5mg/kg de anti-PD1, as combinações de anti-PD1 com IL-18 WT, ou a combinação de anti-PD1 com mCS2. Todos os

agentes foram dosados intraperitonealmente duas vezes por semana, por até 6 doses no total.

[0055] Figura 18A e Figura 18B representam resultados a partir de experimentos de exemplo que investigam o mecanismo antitumor de DR-IL-18 em camundongos que carregam tumores MC38. (Figura 18A) Experimentos de imunofenotipagem de tumor a partir de camundongos tratados duas vezes por semana com quatro doses com salina, IL-18 WT, ou o variante de DR-IL-18 mCS2. O tratamento com DR-IL-18 resultou em maiores números de células CD8 e NK por mg de tumor (dois painéis superiores à esquerda), e mais expressão de marcadores de ativação granzima B e KLRG1 em células CD8 e NK (dois painéis superiores à direita). O tratamento com DR-IL-18 não melhorou a razão CD8:Treg comparado ao tratamento com salina, ao passo que IL-18 WT proporcionou a ratio menos favorável. Entretanto, o tratamento com DR-IL-18 aumentou a razão de células CD8 em populações mieloides inibitórias, incluindo macrófagos associados ao tumor (TAM), e células supressoras derivadas mieloide monocítico e granulocítico (mMDSCs e gMDSCs). (Figura 18B) Medições de citocina sérica por Luminex a partir dos mesmos camundongos na (Figura 18A) foram obtidas 24 horas após a 4^a dose do tratamento. DR-IL-18 mostrou um perfil de liberação de citocina secundária muito alterado a partir do tratamento com IL-18 WT, aumentando notavelmente os níveis de Interferon-gama, IL-7, e IL-15 em mais de 100 vezes.

[0056] Figura 19A até Figura 19C representa resultados a partir de experimentos de exemplo que demonstram a capacidade de DR-IL-18 tratar eficientemente tumores que são refratários aos inibidores de ponto de controle imunológico, por meio da perda da expressão de MHC de classe I de superfície. (Figura 19A) Gráficos de radar com crescimento de tumor a partir de camundongos que carregam tumores Yummer1.7 deficientes em B2m, tratados com salina, anti-PD1 + anti-CTLA4, o variante de DR-IL-18 mCS2,

ou mCS2 com depleção de células NK com anticorpos anti-NK1.1. DR-IL-18 demonstrou muita eficiência em termos de crescimento de tumor e sobrevivência (Figura 19B), cura de 60% dos camundongos tratados neste modelo que é completamente resistente ao mesmo tratamento de combinação com anti-CTLA4 + anti-PD1. Esta eficiência é dependente da célula NK uma vez que a administração de anti-NK1.1 anula o efeito do tratamento com mCS2. (Figura 19C) Células NK isoladas a partir de Yummer1.7 deficiente em B2m são disfuncionais e mostram menor proliferação (coloração com Ki67staining) e função (secreção com interferon-gama). Entretanto, tratamento com DR-IL-18 reverte seu fenótipo para possibilitar a proliferação robusta e secreção de citocina.

[0057] Figura 20A até Figura 20C representam experimentos de exemplo demonstrando variantes de IL-18 de humano geneticamente modificados como antagonistas de IL-18BP (ou “chamariz-para-o-chamariz”, D2D) usando exibição em leveduras. Estes variantes se ligam à IL-18BP, mas não sinalizam, antagonizando por meio disso o efeito de IL-18BP em IL-18 endógena. (Figura 20A) Sumário das posições em IL-18 de humano tornadas aleatórias na biblioteca D2D. Códons degenerados e o conjunto de aminoácidos codificados são fornecidos para cada posição. (Figura 20B) Sumário de evolução direcionada para gerar variantes de D2D IL-18 que se ligam e neutralizam IL-18BP, mas não sinalizam através da IL-18R. O texto em azul indica condições de seleção positiva, o texto em vermelho mostra contra-seleção. (Figura 20C) Análise por citometria de fluxo do progresso em criar variantes de D2D hIL-18. As leveduras obtidas após ciclos 1-4 foram coradas com 1 nM de IL-18BP de camundongo (painele à esquerda), 1 nM de IL-18BP de humano (painele médio), ou 1 μ M de IL18R α e 1 μ M IL18R β . Os variantes selecionados mostram melhor ligação de IL-18BP através dos ciclos de seleção sem aumentar aumento na ligação de IL18R α ou de IL18R β .

[0058] Figura 21 representa resultados a partir de experimentos de

exemplo demonstrando um sumário das sequências de variantes de D2D IL-18 de humano. A posição de cada posição mutada e o resíduo correspondente na forma madura de IL-18 tipo selvagem de humano é indicada na parte superior da tabela.

[0059] Figura 22A até Figura 22C representam resultados a partir de experimentos de exemplo demonstrando caracterização biofísica dos variantes de chamariz-para-o-chamariz (D2D) IL-28. (Figura 22A) Variantes de D2D IL-8 exibidos em levedura, 5-B02, 5-E08, 5-F10, 5-F02, 5-F01, hD2D-CS1, hD2D-CS2 e hD2D-CS3, são capazes de se ligar a hIL-18RBP com isotermas de ligação comparável à IL-18 de WT de humano. (Figura 22b) Em contrapartida, muito pouca ligação é observada com os mesmos variantes e hIL-18Ra. (Figura 11C) Sumário das propriedades de ligação do receptor dos variantes de D2D IL-18. NBD = sem ligação detectada.

[0060] Figura 23 representa resultados a partir de experimentos de exemplo demonstrando um sumário das sequências de variantes de D2D IL-18 de murino. A posição de cada posição mutada e o resíduo correspondente na forma madura de IL-18 tipo selvagem de murino é indicada na parte superior da tabela.

[0061] Figura 24 representa resultados a partir de medições de afinidade biofísica (sensogramas) dos variantes de segunda geração de DR-IL-18 para se ligar à IL-18Ra e IL-18BP, usando ressonância plasmática de superfície (SPR). Linha superior: sensogramas representativos dos variantes de IL-18 indicados (analitos solúveis) para hIL-18Ra (ligantes immobilizados). Linha inferior: sensogramas representativos dos variantes de IL-18 para humano (hIL-18BP). O eixo x é tempo em segundos e o eixo y é unidades de resposta (RU). As curvas são os dados observados em relação ao tempo para diferentes concentrações (diluição de 2 vezes iniciando em 1 nM), sobrepostas com curvas de melhor ajuste assumindo um modelo de ligação de Langmuir 1:1.

[0062] Figura 25A e 25B representam dados que demonstram eficiência de DR-IL-18 no modelo de tumor colorretal CT26. 250.000 células CT26 foram implantadas subcutaneamente e o tratamento iniciou no dia 7, uma vez que os tumores apresentaram ~60 mm³ em média. IL-18 WT e mCS2 foram dosados em 0,32mg/kg duas vezes por semana por um total de 5 doses. Anti-PD1 foi fornecido em 10mg/kg no mesmo esquema. (A) A sobreposição de gráficos de radar que mostram o crescimento de tumor de animais tratados com salina (PBS) em linhas pretas (círculos), IL-18 WT em linhas azuis (quadrados), e DR-IL-18 (mCS2) em rosa (triângulos). Apenas o tratamento com DR-IL-18, mas não IL-18 WT, resultou na inibição do crescimento do tumor e eliminação do tumor em um subconjunto de animais. (B) Curvas de sobrevivência para camundongos tratados com anti-PD-1, IL-18 WT, e DR-IL-18 (mCS2). Números de respostas completas são indicados em parênteses. DR-IL-18, mas não IL-18 WT resultou em sobrevivência prolongada e eliminação do tumor em 40% dos camundongos, uma melhoria com relação ao inibidor do ponto de controle anti-PD-1.

[0063] Figura 26A e 26B representam dados que demonstram eficiência de DR-IL-18 no modelo de câncer de mama 4T1 e modelo de melanoma B16-F10. (A) As curvas de crescimento de tumor de tumores 4T1 enxertados em camundongos BALB/C após tratamento com salina (PBS; preto), IL-18 WT (azul), ou o variante de DR-IL-18 CS2 (rosa). (B) As curvas de crescimento de tumor dos tumores B16-F10 enxertados em camundongos C57BL/6 após o tratamento com salina (PBS; preto), IL-18 WT (azul), ou o variante de DR-IL-18 CS2 (rosa). Em ambos os modelos, apenas DR-IL-18, mas não IL-18 WT, resultou em inibição do crescimento do tumor. Os tratamentos foram administrados após os tumores excederem um volume médio de 50 mm³, da maneira indicada pelas caixas marcadas com “t”.

[0064] Figura 27A e 27B representam dados que estendem os dados da Figura 19A até 19C. São representados dados que demonstram eficiência

de DR-IL-18 no tratamento de modelos de tumor deficiente de MHC de classe I adicional, que são resistentes aos inibidores de ponto de controle imunológico. (A) Células MC38 deficientes em B2m foram preparadas usando eliminação mediada por CRISPR/Cas9, da maneira descrita para células YUMMER deficientes em B2m. Células MC38 B2m-/ foram implantadas subcutaneamente e tratamento iniciou no dia 7, uma vez que os tumores estavam com ~65 mm³ em média. mCS2 foi dosada em 0,32mg/kg duas vezes por semana por 5 doses. Anti-PD1 e anti-CTLA4 foram fornecidos em 8 mg/kg no mesmo esquema. (B) RMA/S é um variante da linhagem de linfoma RMA que contém uma mutação espontânea em Tapasina. O resultado é um defeito na carga de antígeno e, portanto, menor expressão de MHC de classe I de superfície. É congênito para C57BL/6 e refratário aos inibidores de ponto de controle imunológico. Os camundongos foram implantados com 1.000.000 células RMA/S subcutaneamente e o tratamento iniciou no dia 7. mCS2 foram dosadas em 0,32mg/kg duas vezes por semana. Anti-PD1 foi fornecido em 8mg/kg no mesmo esquema. Em ambos os estudos, apenas o tratamento com o variante de DR-18 mCS2 exibiu eficiência antitumor na forma de inibição do crescimento de tumor (B2m^{-/-} MC38) ou eliminação do tumor (RMA/S).

[0065] Figura 28 representa dados que demonstram a eficiência de DR-IL-18 para melhorar a citotoxicidade mediada por célula dependente de anticorpo antitumor (ADCC). Estudos de citotoxicidade *ex vivo* usaram células Raji marcadas com CFSE (linfoma de célula B) e isolaram células mononucleares do sangue periférico humano (PBMCs). PBMCs e células Raji marcadas foram incubadas juntas em uma razão efetor:alvo (E:T) de 1:10 por 25 horas. O variante de DR-IL-18 hCS-1 de humano (1uM), rituximabe (10 ug/mL), ou a combinação de ambos os agentes foram aplicados nas amostras da maneira indicada. A citotoxicidade foi medida por citometria de fluxo e calculada como a fração de células CFSE que se torna, positivas para DAPI.

DR-18 estimulou significativamente a morte de célula tumoral como um agente simples, e aumentou significativamente a morte pelo anticorpo terapêutico rituximabe. * p<0,05 por ANOVA dois fatores, com a correção de Tukey para comparações múltiplas.

[0066] Figura 29A e 29B representam dados que demonstram eficiência anti-viral de variantes de DR-18 mCS2 para o tratamento de infecções virais (por exemplo, neste caso, no tratamento de infecção sistêmica de vírus vaccínia). (A) Esquema de desenho experimental. Camundongos C57BL/6 foram infectados com 10^6 PFU de vírus Vaccínia (VACV) intraperitonealmente (IP) e administrados 1 mg/kg de mIL-18 WT ou mCS2 IP. Os camundongos foram sacrificados e as titulações virais foram medidas no sangue e ovários, por RT-PCR, no dia 3 após a infecção. (B) Quantificação de cópias virais de VACV em ovários e sangue de camundongos tratados no dia 3 após a infecção. O tratamento com CS2 mostrou uma redução significativa de titulações virais, ao passo que IL-18 WT não foi eficiente. * p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001.

[0067] Figura 30A representa dados que demonstram que os variantes de segunda geração de DR-IL-18 de humano são ativos. (Figura 30A) IL-18 WT e h6-12, h6-27, h6-29, e h6-31 estimulam células repórteres IL-18 HEK-Blue. h6-12, h6-27, e h6-29 mostram melhor potência comparadas à hIL-18 WT, ao passo que h6-31 apresenta potência equivalente à hIL-18 WT. Os dados demonstram, portanto, que todos os variantes de segunda geração de DR-IL-18 de humano testados sinalizamativamente através de IL-18R.

DESCRIÇÃO DETALHADA

[0068] A presente invenção se refere aos variantes de IL-18 para induzir ou melhorar a sinalização de IL-18. Em um aspecto, a invenção se refere aos variantes de IL-18 que podem ser ligar ao receptor de IL-18 (IL-18R), mas não se ligam à proteína de ligação de IL-18 (IL-18BP), provendo por meio disso sinalização da atividade de IL-18, não sendo capazes de ser

inibidos ao mesmo tempo por IL-18BP. Em um aspecto, a invenção se refere aos variantes de IL-18 que se ligam à IL-18BP, reduzindo ou prevenindo por meio disso IL-18BP de se ligar a e inibir IL-18 endógena, e provendo por meio disso sinalização da atividade de IL-18. Assim, a invenção provê composições e métodos para prover sinalização da atividade de IL-18 mesmo na presença de IL-18BP.

[0069] Em várias modalidades, a invenção é um polipeptídeo variante de IL-18, ou um fragmento do mesmo, que se liga especificamente a IL-18R, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP. Em algumas modalidades, um polipeptídeo variante de IL-18, ou um fragmento do mesmo, que se liga à IL-18R, mas não se liga substancialmente à IL-18BP, é usado para prover sinalização da atividade de IL-18 que é inibida pela presença e atividade de IL-18BP. Em várias modalidades, a invenção se refere ao polipeptídeo variante de IL-18, ou fragmento do mesmo, que se liga especificamente à IL-18BP e reduzir ou prevenir IL-18BP a partir da inibição de IL-18 endógena. Em algumas modalidades, um polipeptídeo variante de IL-18, ou um fragmento do mesmo, que se liga à IL-18BP, é usado para inibir atividade de IL-18BP, induzindo, melhorando ou promovendo por meio disso a sinalização da atividade de IL-18.

[0070] Em algumas modalidades, os polipeptídeos variantes de IL-18 são usados para o tratamento e prevenção de uma doença ou distúrbio. Em várias modalidades, a doença ou distúrbio é câncer ou uma doença infecciosa, tal como poxvírus que codificam um ortólogo de IL-18BP, uma doença ou distúrbio metabólico (incluindo obesidade e diabetes), ou degeneração macular (por exemplo, degeneração macular úmida, por exemplo, degeneração macular úmida relacionada à idade, por exemplo, o variante de IL-18 pode ser usado como um anti-angiogênico -como um exemplo ilustrativo, em alguns casos, um polipeptídeo variante de IL-18 em questão pode atenuar a neovascularização Coroidal). Assim, em algumas

modalidades, a invenção é uma composição que compreende pelo menos um polipeptídeo variante de IL-18, ou um fragmento do mesmo. Em outras modalidades, a invenção é um método para administrar pelo menos um polipeptídeo variante de IL-18, ou um fragmento do mesmo, para tratar ou prevenir uma doença ou distúrbio tal como, mas sem limitação, câncer, ou doença infecciosa, uma doença ou distúrbio metabólico, ou degeneração macular (por exemplo, degeneração macular úmida tal como degeneração macular úmida relacionada à idade).

[0071] Em várias modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 compreende uma mutação relacionada a um polipeptídeo de IL-18 tipo selvagem (WT). Em algumas modalidades, o polipeptídeo de IL-18 WT compreende a sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 30. Em outras modalidades, o polipeptídeo de IL-18 WT compreende a sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 31.

[0072] Em algumas modalidades, os polipeptídeos variantes de IL-18 da invenção exibem menor afinidade de ligação à IL-18BP, de maneira comparada ao polipeptídeo de IL-18 WT. Em algumas modalidades, os polipeptídeos variantes de IL-18 da invenção exibem maior afinidade de ligação à IL-18BP, de maneira comparada ao polipeptídeo de IL-18 WT. Em algumas modalidades, os polipeptídeos variantes de IL-18 da invenção exibem afinidade de ligação similar à IL-18BP, de maneira comparada ao polipeptídeo de IL-18 WT.

[0073] Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 exibe maior afinidade de ligação com IL-18R, de maneira comparada ao polipeptídeo de IL-18 WT. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 exibe afinidade de ligação similar com IL-18R, de maneira comparada ao polipeptídeo de IL-18 WT. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 exibe menor afinidade de ligação com IL-18R, de maneira comparada ao polipeptídeo de IL-18 WT.

[0074] Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 é um polipeptídeo variante de IL-18 de mamífero. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 é um polipeptídeo variante de IL-18 de humano. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 é um polipeptídeo variante de IL-18 de murino.

[0075] Em várias modalidades, as composições e métodos da invenção incluem composições e métodos para tratar e prevenir doenças e distúrbios tais como câncer, doença infecciosa e doenças e distúrbios metabólicos. Em algumas modalidades, um método compreende administrar a um indivíduo em necessidade do mesmo uma composição que compreende pelo menos um polipeptídeo variante de IL-18. Em algumas modalidades, um método compreende administrar a um indivíduo em necessidade do mesmo uma composição que compreende pelo menos um polipeptídeo variante de IL-18, e administrar ao indivíduo uma composição que compreende um agente adicional.

[0076] Em uma modalidade como esta, o agente adicional compreende um agente imunoterapêutico compreendendo pelo menos um selecionado a partir do grupo que inclui, mas sem limitação, uma célula T alterada, uma célula T receptora de antígeno quimérico (CAR-T), uma célula T-CAR blindada, um vírus, um antígeno, uma vacina, um anticorpo, um inibidor do ponto de controle imunológico, uma molécula pequena, um agente quimioterapêutico, e uma célula tronco. Em algumas modalidades, uma composição que compreende pelo menos um polipeptídeo variante de IL-18 é usada em um método para aumentar a atividade do sistema imune antes, durante ou após infecção por uma bactéria, vírus, ou outro patógeno. Em algumas modalidades, uma composição que compreende pelo menos um polipeptídeo variante de IL-18 é usada em um método para aumentar o número e/ou atividade de células imunes *in vitro*, *in vivo* ou *ex vivo*, tal como o número e/ou atividade de células T, células NK, e/ou células mieloides.

Definições

[0077] A menos que de outra forma definida, todos os termos técnicos e científicos aqui usados apresentam o mesmo significado comumente entendido pelos versados na técnica, aos quais a invenção se refere. Na descrição e reivindicação da presente invenção, a terminologia a seguir será usada.

[0078] É também entendido que a terminologia aqui usada é com o propósito de descrever modalidades particulares apenas, e não pretende-se que sejam limitantes.

[0079] Os artigos “um” e “uma” são aqui usados para se referir a um ou mais de um (isto é, a pelo menos um) do objeto gramatical do artigo. A título de exemplo, “um elemento” significa um elemento ou mais de um elemento.

[0080] “Cerca de”, da maneira aqui usada, se referindo ao mesmo tempo a um valor mensurável tal como uma quantidade, uma duração temporal e similares, significa que inclui variações não limitantes de $\pm 40\%$ ou $\pm 20\%$ ou $\pm 10\%$, $\pm 5\%$, $\pm 1\%$, ou $\pm 0,1\%$ do valor especificado, uma vez que tais variações são apropriadas.

[0081] O termo “anormal” quando usado no contexto de organismos, tecidos, células ou componentes dos mesmos, se refere àqueles organismos, tecidos, células ou componentes dos mesmos que diferem em pelo menos uma característica observável ou detectável (por exemplo, idade, tratamento, período do dia etc.) a partir daqueles organismos, tecidos, células ou componentes dos mesmos que exibem a respectiva característica “normal” (esperada). As características que são normais ou esperadas para um tipo de célula ou tecido podem ser anormais para um tipo diferente de célula ou tecido.

[0082] O termo “anticorpo”, da maneira aqui usada, se refere a uma molécula de imunoglobulina que é capaz de se ligar especificamente a um

epítopo específico em um antígeno. Os anticorpos podem ser imunoglobulinas intactas derivadas a partir de fontes naturais ou a partir de fontes recombinantes, e podem ser porções imunorreativas de imunoglobulinas intactas. Os anticorpos na presente invenção podem existir em uma variedade de formas incluindo, por exemplo, anticorpos policlonais, anticorpos monoclonais, anticorpos intracelulares (“intracorpos”), Fv, Fab e F(ab)2, contanto que os anticorpos de cadeia simples (scFv), anticorpos de cadeia pesada, tais como anticorpos de camelídeo, anticorpos sintéticos, anticorpos quiméricos, e anticorpos humanizados (Harlow et al., 1999, Using Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, NY; Harlow et al., 1989, Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, Nova Iorque; Houston et al., 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883; Bird et al., 1988, Science 242:423-426).

[0083] Uma “cadeia pesada de anticorpo”, da maneira aqui usada, se refere à maior dos dois tipos de cadeias de polipeptídeo presentes em todas as moléculas de anticorpo em suas conformações de ocorrência natural.

[0084] Uma “cadeia leve de anticorpo”, da maneira aqui usada, se refere à menor dos dois tipos de cadeias de polipeptídeo presentes em todas as moléculas de anticorpo em suas conformações de ocorrência natural. Cadeias leves κ e λ se referem aos dois principais isotipos de cadeia leve de anticorpo.

[0085] O termo “anticorpo sintético”, da maneira aqui usada, significa um anticorpo que é gerado usando a tecnologia do DNA recombinante tal como, por exemplo, um anticorpo expresso por um bacteriófago da maneira aqui descrita. O termo também pode ser interpretado para significar um anticorpo que foi gerado pela síntese de uma molécula de DNA que codifica o anticorpo, e cuja molécula de DNA expressa uma proteína de anticorpo, ou uma sequência de aminoácido que especifica o anticorpo, em que a sequência de DNA ou de aminoácido foi obtida usando tecnologia de sequência sintética de DNA ou de aminoácido que é disponível e bem conhecida na técnica.

[0086] Da maneira aqui usada, um “imunoensaio” se refere a qualquer ensaio de ligação que usa um anticorpo capaz de se ligar especificamente a uma molécula alvo para detectar e quantificar a molécula alvo.

[0087] O termo “se liga especificamente”, da maneira aqui usada com relação a um polipeptídeo variante de IL-18, significa um polipeptídeo variante de IL-18 que reconhece e se liga a um receptor específico, tal como IL-18R, ou à IL-18BP. Em alguns exemplos, o polipeptídeo variante de IL-18 reduziu substancialmente a ligação à IL-18BP. Por exemplo, um polipeptídeo variante de IL-18 que se liga especificamente a um receptor a partir de uma espécie também pode se ligar àquele receptor a partir de uma ou mais espécies. Mas, tal reatividade de espécie cruzada não altera ela mesma a classificação de um polipeptídeo variante de IL-18 como específico. Em um outro exemplo, um polipeptídeo variante de IL-18 que se liga especificamente a um receptor também pode se ligar às formas alélicas diferentes do receptor. Entretanto, tal reatividade cruzada não altera ela mesma a classificação de um polipeptídeo variante de IL-18 como específica. Em alguns exemplos, os termos “ligação específica” ou “ligação de maneira específica” podem ser usados em referência à interação de um anticorpo, uma proteína, ou um peptídeo com uma segunda espécie química, para significar que a interação é dependente da presença de uma estrutura particular (por exemplo, um determinante ou epítopo antigênico) na espécie química; por exemplo, um polipeptídeo variante de IL-18 reconhece e se liga a uma estrutura de proteína específica, sem ser em geral às proteínas.

[0088] O termo “aplicador”, da maneira que o termo é aqui usado, significa qualquer dispositivo incluindo, mas sem limitação, uma seringa hipodérmica, uma pipeta, um dispositivo de iontopforese, um adesivo e similares, para administrar as composições da invenção a um indivíduo.

[0089] “Câncer”, da maneira aqui usada, se refere ao crescimento anormal ou divisão de células. Em geral, o crescimento e/ou vida útil de uma

célula de câncer excede, e não é coordenado com aqueles de das células e tecidos normais ao redor. Os cânceres podem ser benignos, pré-malignos ou malignos. Câncer ocorre em uma variedade de células e tecidos, incluindo a cavidade oral (por exemplo, boca, língua, faringe etc.), sistema digestivo (por exemplo, esôfago, estômago, intestino delgado, cólon, reto, fígado, ducto biliar, vesícula biliar, pâncreas etc.), sistema respiratório (por exemplo, laringe, pulmão, brônquio etc.), ossos, articulações, pele (por exemplo, célula basal, célula escamosa, meningioma etc.), mama, sistema genital, (por exemplo, útero, ovário, próstata, testículo etc.), sistema urinário (por exemplo, bexiga, rim, ureter etc.), olho, sistema nervoso (por exemplo, cérebro etc.), sistema endócrino (por exemplo, tireoide etc.), e sistema hematopoiético (por exemplo, linfoma, mieloma, leucemia, leucemia linfocítica aguda, leucemia linfocítica crônica, leucemia mieloide aguda, leucemia mieloide crônica etc.).

[0090] O termo “sequência codificante”, da maneira aqui usada, significa uma sequência de um ácido nucleico ou seu complemento, ou uma parte do mesmo, que pode ser transcrita e/ou traduzida para produzir o RNAm, e/ou o polipeptídeo ou um fragmento das mesmas. Sequências codificantes incluem exons em um DNA genômico ou transcrições de RNA primárias imaturas, que são unidos pela maquinaria bioquímica da célula para prover um RNAm maduro. A fita anti-sentido é o complemento de um ácido nucleico como este, e a sequência codificante pode ser deduzida a partir da mesma. Em contrapartida, o termo “sequência não codificante”, da maneira aqui usada, significa uma sequência de um ácido nucleico ou seu complemento, ou uma parte do mesmo, que não é traduzido em aminoácido *in vivo*, ou onde RNAt não interage para colocar ou tentar colocar um aminoácido. Sequências não codificantes incluem tanto sequências intron no DNA genômico ou transcrições de RNA primárias imaturas, quanto sequências associadas ao gene tais como promotores, melhoradores, silenciadores e similares.

[0091] Da maneira aqui usada, os termos “complementar” ou “complementaridade” são usados em referência aos polinucleotídeos (isto é, uma sequência de nucleotídeos) relacionados pelas regras do pareamento de base. Por exemplo, a sequência “A-G-T,” é complementar à sequência “T-C-A”. Complementaridade pode ser “parcial”, em que apenas algumas das bases de ácidos nucleicos são combinadas, de acordo com as regras de pareamento de bases. Ou, podem ser complementaridade “completa” ou “total” entre os ácidos nucleicos. O grau de complementaridade entre as fitas de ácido nucleico apresenta efeitos significativos na eficiência e concentração de hibridização entre fitas de ácido nucleico. Isto é de particular importância nas reações de amplificação, bem como os métodos de detecção que dependem da ligação entre ácidos nucleicos.

[0092] Uma “doença” é um estado de saúde de um animal, em que o animal não consegue manter a homeostase, e em que se a doença não melhorar, então a saúde do animal continua a piorar. Em contrapartida, um “distúrbio” em um animal é um estado de saúde no qual o animal é capaz de manter a homeostase, mas no qual o estado de saúde do animal é menos favorável do que seria na ausência do distúrbio. Não tratado, um distúrbio não causa necessariamente uma diminuição adicional no estado de saúde do animal.

[0093] Uma “quantidade eficiente”, da maneira aqui usada, significa uma quantidade que provê um benefício terapêutico, profilático ou outro desejado.

[0094] “Codificar” se refere à propriedade inerente de sequências específicas de nucleotídeos em um polinucleotídeo, tal como um gene, um DNAc, ou um RNAm, para funcionar como moldes para a síntese de outros polímeros e macromoléculas em processos biológicos, tanto com uma sequência definida de nucleotídeos (isto é, RNAr, RNAt e RNAm) quanto uma sequência definida de aminoácidos, e as propriedades biológicas que

resultam das mesmas. Assim, um gene codifica uma proteína se a transcrição e tradução de RNAm que corresponde a este gene produzir a proteína em uma célula ou outro sistema biológico. Tanto a fita codificante, a sequência de nucleotídeo a partir da qual é idêntica à sequência de RNAM e é em geral provida em listagens de sequência, quanto a fita não codificante, usada como o molde para a transcrição de um gene ou DNAc, podem ser referidas como codificando a proteína ou outro produto deste gene ou DNAc.

[0095] Da maneira aqui usada, o termo “fragmento”, aplicado a um ácido nucleico, se refere a uma subsequência de um ácido nucleico maior. Um “fragmento” de um ácido nucleico pode apresentar pelo menos cerca de 15 nucleotídeos em tamanho; por exemplo, pelo menos cerca de 50 nucleotídeos a cerca de 100 nucleotídeos; pelo menos cerca de 100 a cerca de 500 nucleotídeos, pelo menos cerca de 500 a cerca de 1000 nucleotídeos; pelo menos cerca de 1000 nucleotídeos a cerca de 1500 nucleotídeos; cerca de 1500 nucleotídeos a cerca de 2500 nucleotídeos; ou cerca de 2500 nucleotídeos (e qualquer valor de número inteiro entre estes). Da maneira aqui usada, o termo “fragmento”, aplicado a uma proteína, polipeptídeo ou peptídeo, se refere a uma subsequência de uma proteína, polipeptídeo ou peptídeo maior. Um “fragmento” de uma proteína, polipeptídeo, ou peptídeo pode apresentar pelo menos cerca de 5 aminoácidos em tamanho; por exemplo, pelo menos cerca de 10 aminoácidos em tamanho; pelo menos cerca de 20 aminoácidos em tamanho; pelo menos cerca de 50 aminoácidos em tamanho; pelo menos cerca de 100 aminoácidos em tamanho; pelo menos cerca de 200 aminoácidos em tamanho; ou pelo menos cerca de 300 aminoácidos em tamanho (e qualquer valor de número inteiro entre estes).

[0096] O termo “gene” se refere a uma sequência de ácido nucleico (por exemplo, DNA) que inclui sequências codificantes necessárias para a produção de um polipeptídeo, precursor, ou RNA (por exemplo, RNAm). O polipeptídeo pode ser codificado por uma sequência codificante de tamanho

completo ou por qualquer porção da sequência codificante, contanto que a atividade ou propriedade funcional desejada (por exemplo, atividade enzimática, ligação ao receptor, transdução de sinal, imunogenicidade etc.) do tamanho completo ou fragmento seja mantida. O termo também inclui a região codificante de um gene estrutural e as sequências localizadas adjacentes à região codificante tanto na extremidade 5' quanto 3', por uma distância de cerca de 2 kb ou mais em cada extremidade, de maneira tal que o gene corresponda ao tamanho do RNAm de tamanho completo e às sequências regulatórias 5' que influenciam as propriedades transcricionais do gene. As sequências localizadas 5' da região codificante e presentes no RNAm são referidas como as sequências 5' não traduzidas. As sequências 5' não traduzidas contêm em geral as sequências regulatórias. Sequências localizadas 3' ou à jusante da região codificante e presentes no RNAm são referidas como sequências 3' não traduzidas. O termo “gene” inclui tanto DNAc quanto as formas genômicas de um gene. Uma forma genômica ou clone de um gene contém a região codificante interrompida com sequências não codificantes, denominadas “introns”, ou “regiões de intervenção” ou “sequências de intervenção”. Introns são segmentos de um gene que são transcritos em RNA nuclear (RNAhn); introns podem conter elementos regulatórios tais como melhoradores. Introns são removidos ou “emendados” a partir da transcrição nuclear ou primária; portanto, os introns estão ausentes na transcrição do RNA mensageiro (RNAm). O RNAm funciona durante a tradução para especificar a sequência ou ordem dos aminoácidos em um polipeptídeo nascente.

[0097] “Homólogo”, “idêntico” ou “identidade”, da maneira aqui usada no contexto de duas ou mais sequências de ácidos nucleicos ou polipeptídeo, significa que a sequência apresenta um percentual específico de resíduos que são os mesmos em relação a uma região específica. O percentual pode ser calculado alinhando de maneira ideal as duas sequências,

comparando as duas sequências com relação à região especificada, determinando o número de posições nas quais o resíduo idêntico ocorre em ambas as sequências para render o número de posições combinadas, dividindo o número de posições combinadas pelo número total de posições na região especificada, e multiplicando o resultado por 100 para render o percentual de identidade de sequência. Em casos onde as duas sequências são de tamanhos diferentes ou o alinhamento produz uma ou mais extremidades escalonadas e a região especificada de comparação inclui apenas uma sequência simples, os resíduos da sequência simples são incluídos no denominador, mas não o numerador do cálculo. Durante a comparação de DNA e RNA, timina (T) e uracila (U) podem ser consideradas equivalentes. A identidade pode ser realizada manualmente ou usando um algoritmo de sequência de computador, tal como BLAST ou BLAST 2.0.

[0098] “Material de instrução”, da maneira como o termo é aqui usado, inclui uma publicação, um registro, um diagrama, ou qualquer outro meio de expressão que pode ser usado para comunicar a utilização do ácido nucleico, peptídeo, polipeptídeo, e/ou composto da invenção no kit para identificar, ou aliviar ou tratar as várias doenças ou distúrbios aqui citados. Opcionalmente, ou alternativamente, o material de instrução pode descrever um ou mais métodos de identificar ou aliviar as doenças ou distúrbios em uma célula ou um tecido de um indivíduo. O material de instrução do kit, por exemplo, pode ser fixado em um recipiente que contém o ácido nucleico, polipeptídeo, e/ou composto da invenção, ou ser enviado junto com um recipiente que contém o ácido nucleico, polipeptídeo, e/ou composto. Alternativamente, o material de instrução pode ser enviado separadamente do recipiente com a intenção de que o receptor use o material de instrução e o composto cooperativamente.

[0099] “Isolado” significa alterado ou removido do estado natural. Por exemplo, um ácido nucleico ou um polipeptídeo naturalmente presente em um

animal vivo não é “isolado”, mas o mesmo ácido nucleico ou polipeptídeo parcialmente ou completamente separado dos materiais coexistentes de seu estado natural é “isolado”. Um ácido nucleico ou proteína isolada pode existir na forma substancialmente purificada, ou pode existir em um ambiente não natural tal como, por exemplo, uma célula hospedeira.

[00100] Um “ácido nucleico isolado” se refere a um segmento ou fragmento de ácido nucleico que foi separado das sequências que o flanqueiam em um estado de ocorrência natural, por exemplo, um fragmento de DNA que foi removido das sequências que são normalmente adjacentes ao fragmento, por exemplo, as sequências adjacentes ao fragmento em um genoma no qual ocorre naturalmente. O termo também se aplica aos ácidos nucleicos que foram substancialmente purificados a partir de outros componentes que acompanham naturalmente o ácido nucleico, por exemplo, RNA, ou DNA ou proteínas, que o acompanham naturalmente na célula. Portanto, o termo inclui, por exemplo, um DNA recombinante que é incorporado em um vetor, em um plasmídeo ou vírus que se replica de maneira autônoma, ou no DNA genômico de um procarioto ou eucarioto, ou que existe como uma molécula separada (por exemplo, como um DNAc ou um fragmento genômico ou de DNAc produzido por PCR ou digestão com enzima de restrição) independente de outras sequências. Também inclui um DNA recombinante que é parte de um gene híbrido que codifica sequência de polipeptídeo adicional.

[00101] O termo “marcação”, quando aqui usado, se refere a um composto ou composição detectável que é conjugado diretamente ou indiretamente com uma sonda para gerar uma sonda “marcada”. A marcação pode ser detectável por ela mesma (por exemplo, marcações com radioisótopo ou marcações fluorescentes) ou, no caso de uma marcação enzimática, pode catalisar alteração química de um composto ou composição de substrato que é detectável (por exemplo, avidina-biotina). Em alguns exemplos, os

oligonucleotídeos iniciadores podem ser marcados para detectar um produto de PCR.

[00102] O termo “modular”, da maneira aqui usada, significa mediar um aumento ou diminuição detectável na atividade e/ou nível de um RNAm, polipeptídeo, ou uma resposta em um indivíduo, comparado com a atividade e/ou nível de um RNAm, polipeptídeo ou uma resposta em um indivíduo na ausência de um tratamento ou composto, e/ou comparado com a atividade e/ou nível de um RNAm, polipeptídeo, ou uma resposta em um indivíduo de outra forma idêntico, mas não tratado. O termo inclui ativar, inibir e/ou de outra forma afetar um sinal ou resposta natural, mediando por meio disso uma resposta terapêutica, profilática benéfica, ou outra desejada em um indivíduo, por exemplo, um humano.

[00103] Uma “mutação”, “mutante” ou “variante”, da maneira aqui usada, se refere a uma alteração na sequência de ácido nucleico ou polipeptídeo com relação a uma sequência de referência (que pode ser uma sequência de ocorrência natural normal ou a “tipo selvagem”), e inclui translocações, eliminações, inserções e mutações por substituições/pontuais. Um “mutante” ou “variante”, da maneira aqui usada, se refere tanto a um ácido nucleico quanto proteína compreendendo uma mutação.

[00104] Um “ácido nucleico” se refere a um polinucleotídeo e inclui polirribonucleotídeos e polidesoxirribonucleotídeos. Ácidos nucleicos, de acordo com a presente invenção, podem incluir qualquer polímero ou oligômero de bases pirimídicas e púricas, preferivelmente citosina, timina e uracila, e adenina e guanina, respectivamente. (Vide Albert L. Lehninger, Principles of Biochemistry, em 793-800 (Worth Pub. 1982), que é aqui incorporado na sua íntegra para todos os propósitos). De fato, a presente invenção contempla qualquer desoxirribonucleotídeo, ribonucleotídeo ou componente de ácido nucleico peptídico, e quaisquer variantes químicas dos mesmos, tais como formas metiladas, hidroximetiladas ou glicosiladas destas

bases, e similares. Os polímeros ou oligômeros podem ser heterogêneos ou homogêneos em composição, e podem ser isolados a partir de fontes de ocorrência natural, ou podem ser artificialmente ou sinteticamente produzidos. Além disso, os ácidos nucléicos podem ser DNA ou RNA, ou uma mistura do mesmo, e podem existir permanentemente ou transicionalmente na forma de fita simple ou fita dupla, incluindo homoduplex, heteroduplex, e estado híbrido.

[00105] Um “oligonucleotídeo” ou “polinucleotídeo” é um ácido nucleico que varia de pelo menos 2, preferivelmente pelo menos 8, 15 ou 25 nucleotídeos em tamanho, mas pode apresentar até 50, 100, 1000, ou 5000 nucleotídeos em tamanho, ou um composto que hibridiza especificamente em um polinucleotídeo. Polinucleotídeos incluem sequências de ácido desoxirribonucleico (DNA) ou ácido ribonucleico (RNA), ou miméticos dos mesmos, que podem ser isolados de fontes naturais, produzidos de maneira recombinante ou sintetizados artificialmente. Um exemplo adicional de um polinucleotídeo da presente invenção pode ser um ácido nucleico peptídico (PNA). (Vide patente U.S. 6.156.501, que é aqui incorporada pela referência na sua íntegra). A invenção também inclui situações na qual existe um pareamento de bases não tradicional, tal como pareamento de bases de Hoogsteen, que foi identificado em certas moléculas de RNAt e postulado a existir em hélice tripla. “Polinucleotídeo” e “oligonucleotídeo” são usados indiferentemente nesta descrição. Será entendido que, quando uma sequência de nucleotídeo é aqui representada por uma sequência de DNA (por exemplo, A, T, G, e C), isto também inclui a sequência correspondente de RNA (por exemplo, A, U, G, C), em que “U” substitui “T”.

[00106] Os termos “paciente”, “indivíduo”, “sujeito” e similares são usados indiferentemente aqui, e se referem a qualquer animal, ou células dos mesmos, quer *in vivo*, *in vitro* ou *in situ*, favorável aos métodos aqui descritos. Em certas modalidades não limitantes, o paciente, indivíduo ou

sujeito é um humano.

[00107] Da maneira aqui usada, os termos “peptídeo”, “polipeptídeo” e “proteína” são usados indiferentemente, e se referem a um composto compreendido de resíduos de aminoácido covalentemente ligados por ligações peptídicas. Uma proteína ou peptídeo deve conter pelo menos dois aminoácidos, e nenhuma limitação é colocada no número máximo de aminoácidos que pode compreender uma sequência de proteína ou de peptídeo. Os polipeptídeos incluem qualquer peptídeo ou proteína compreendendo dois ou mais aminoácidos unidos um ao outro por ligações peptídicas. Da maneira aqui usada, o termo se refere tanto às cadeias curtas, que também são comumente referidas na técnica como peptídeos, oligopeptídeos e oligômeros, por exemplo, quanto às cadeias mais longas, que geralmente são referidas na técnica como proteínas, das quais existem muitos tipos. “Polipeptídeos” incluem, por exemplo, fragmentos biologicamente ativos, polipeptídeos substancialmente homólogos, oligopeptídeos, homodímeros, heterodímeros, variantes de polipeptídeos, polipeptídeos modificados, derivados, análogos, proteínas de fusão, entre outros. Os polipeptídeos incluem peptídeos naturais, peptídeos recombinantes, peptídeos sintéticos, polipeptídeos mutantes, variantes de polipeptídeo, ou uma combinação dos mesmos.

[00108] Da maneira aqui usada, “polinucleotídeo” inclui DNAc, RNA, híbrido de DNA/RNA, RNA anti-sentido, ribozima, DNA genômico, formas sintéticas e polímeros mistos, tanto fitas sentido quanto anti-sentido, e podem ser quimicamente ou bioquimicamente modificados para exibir bases de nucleotídeo não naturais ou derivadas, sintéticas ou semi-sintéticas. Igualmente, são contempladas alterações de um gene tipo selvagem ou sintético incluindo, mas sem limitação, eliminação, inserção, substituição de um ou mais nucleotídeos, ou fusão a outras sequências de polinucleotídeo.

[00109] Para “prevenir” uma doença ou distúrbio, como o termo é aqui

usado, significa reduzir a gravidade ou frequência de pelo menos um sinal ou sintoma de uma doença ou distúrbio que está sendo experimentada por um indivíduo.

[00110] “Amostra” ou “amostra biológica”, da maneira aqui usada, significa um material biológico isolado de um indivíduo. A amostra biológica pode conter qualquer material biológico adequado para detectar um RNAm, polipeptídeo ou outro marcador de um processo fisiológico ou patológico em um indivíduo, e pode compreender fluido, tecido, material celular e/ou não celular obtido do indivíduo.

[00111] Da maneira aqui usada, “substancialmente purificado” se refere a ser essencialmente livre de outros componentes. Por exemplo, um polipeptídeo substancialmente purificado é um polipeptídeo que foi separado de outros componentes, com os quais é normalmente associado em seu estado de ocorrência natural.

[00112] Da maneira aqui usada, os termos “terapia” ou “regime terapêutico” se referem àquelas atividades obtidas para prevenir, tratar ou alterar uma doença ou distúrbio, por exemplo, um curso de tratamento pretendido para reduzir ou eliminar pelo menos um sinal ou sintoma de uma doença ou distúrbio que usa técnicas farmacológicas, cirúrgicas, de dieta e/ou outras. Um regime terapêutico pode incluir uma dosage prescrita de um ou mais compostos ou cirurgia. As terapias serão mais frequentemente benéficas, e reduzem ou eliminam pelo menos um sinal ou sintoma do distúrbio ou estado da doença, mas em alguns exemplos o efeito de uma terapia apresentará efeitos colaterais ou não desejáveis. O efeito da terapia também será impactado pelo estado fisiológico do indivíduo, por exemplo, idade, gênero, genética, peso, outras condições de doença etc.

[00113] O termo “quantidade terapeuticamente eficiente” se refere à quantidade do composto ou composição particular que elicitará a resposta biológica, fisiológica, clínica ou médica de uma célula, tecido, órgão, sistema

ou indivíduo que está sendo procurado pelo pesquisador, veterinário, médico especialista ou outro clínico. O termo “quantidade terapeuticamente eficiente” inclui aquela quantidade de um composto ou composição que, quando administrada, é suficiente para prevenir o desenvolvimento de, ou tratar em alguma extensão, um ou mais dos sinais ou sintomas do distúrbio ou doença que está sendo tratada. A quantidade terapeuticamente eficiente variará, dependendo do composto ou composição, da doença e sua gravidade e da idade, peso etc., do indivíduo a ser tratado.

[00114] Para “tratar” uma doença ou distúrbio, da maneira que o termo é aqui usado, significa reduzir a frequência ou gravidade de pelo menos um sinal ou sintoma de uma doença ou distúrbio experimentado por um indivíduo. Os termos "tratamento", "tratando", "tratar" e similares são aqui usados para se referir em geral à obtenção de um efeito farmacológico e/ou fisiológico desejado. O efeito pode ser profilático em termos de prever completamente ou parcialmente uma doença ou sintoma(s) da mesma, e/ou pode ser terapêutico em termos de uma estabilização parcial ou completa, ou cura para uma doença e/ou efeito adverso atribuível à doença. O termo “tratamento” inclui qualquer tratamento de uma doença em um mamífero, particularmente um humano, e inclui: (a) prevenir a doença e/ou sintoma(s) de ocorrer em um indivíduo que pode ser predisposto à doença ou sintoma, mas ainda não foi diagnosticado como apresentando a mesma; (b) inibir a doença e/ou sintoma(s), por exemplo, retardando ou controlando seu desenvolvimento (por exemplo, parando o crescimento de tumores, retardando a taxa de crescimento de tumor, parando a taxa de proliferação de célula de câncer, e similares); ou (c) aliviar o(s) sintoma(s) da doença, isto é, causar a regressão da doença e/ou sintoma(s) (por exemplo, causar a diminuição no tamanho do tumor, reduzir o número de células de presentes, e similares). Aqueles que precisam de tratamento incluem aqueles já afetados (por exemplo, aqueles com câncer, aqueles com uma infecção, aqueles com

um distúrbio metabólico, aqueles com degeneração macular etc.), bem como aqueles nos quais a prevenção é desejada (por exemplo, aqueles com maior susceptibilidade ao câncer, aqueles com uma maior probabilidade de infecção, aqueles suspeitos de apresentar câncer, aqueles suspeitos de carregar uma infecção, aqueles com maior susceptibilidade para doença metabólica, aqueles com maior susceptibilidade para degeneração macular etc.).

[00115] Da maneira aqui usada, o termo “tipo selvagem” se refere a um gene ou produto de gene isolado de uma fonte de ocorrência natural. Um gene tipo selvagem é aquele que é mais frequentemente observado em uma população e é, assim, determinado de maneira arbitrária como a forma “normal” ou “tipo selvagem” do gene. Em contrapartida, o termo “modificado”, “variante” ou “mutante” se refere a um gene ou produto de gene que possui modificações nas propriedades de sequência e/ou funcional (isto é, características alteradas), quando comparado ao gene ou produto de gene tipo selvagem.

[00116] Faixas: Em toda esta descrição, vários aspectos da invenção podem ser apresentados em um formato de faixa. Pode-se entender que a descrição no formato de faixa é meramente para conveniência e brevidade, e não deve ser interpretada como uma limitação inflexível no escopo da invenção. Dessa maneira, a descrição de uma faixa deve ser considerada para apresentar especificamente todas as subfaixas possíveis descritas, bem como os valores numéricos individuais nesta faixa. Por exemplo, a descrição de uma faixa tal como a partir de 1 a 6 pode ser considerada para apresentar subfaixas especificamente descritas tal como de 1 a 3, a partir de 1 a 4, a partir de 1 a 5, a partir de 2 a 4, a partir de 2 a 6, a partir de 3 a 6 etc., bem como números individuais nesta faixa, por exemplo, 1, 2, 2,7, 3, 4, 5, 5,3 e 6. Isto se aplica independentemente da amplitude da faixa.

Descrição

[00117] Em algumas modalidades, as composições e métodos da

invenção compreendem um ativador de atividade de IL-18, tal como atividade de sinalização através de IL-18R. Em algumas modalidades, o ativador é um polipeptídeo variante de IL-18. Em algumas modalidades, o ativador é uma molécula que é capaz de se ligar e sinalizar por meio da IL-18R. Em algumas modalidades, o ativador é uma molécula que inibe IL-18BP, promovendo por meio disso sinalização de IL-18.

[00118] Em algumas modalidades, a invenção é um polipeptídeo variante de IL-18, ou um fragmento do mesmo, que se liga especificamente à IL-18R, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP. Em algumas modalidades, um polipeptídeo variante de IL-18, ou um fragmento do mesmo, que se liga à IL-18R, mas não se liga substancialmente à IL-18BP, é usado para prover sinalização da atividade de IL-18 que é inibida pela presença e atividade de IL-18BP.

[00119] Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 é resistente a ou independente de regulação negativa pelo polipeptídeo de IL-18BP. Em algumas modalidades, polipeptídeo de IL-18BP é incapaz de se ligar substancialmente ao polipeptídeo variante de IL-18. O polipeptídeos variantes de IL-18 da invenção exibem menor afinidade de ligação à IL-18BP, de maneira comparada ao polipeptídeo de IL-18 WT. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 exibe maior afinidade de ligação com IL-18R, de maneira comparada ao polipeptídeo de IL-18 WT. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 exibe afinidade de ligação similar com IL-18R, de maneira comparada ao polipeptídeo de IL-18 WT. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 exibe menor afinidade de ligação com IL-18R, de maneira comparada ao polipeptídeo de IL-18 WT.

[00120] Em algumas modalidades, a invenção provê uma composição que compreende um inibidor de IL-18BP, em que o inibidor inibe ou reduz a expressão de IL-18BP, atividade, ou ambas. Inibidores de IL-18BP

exemplares incluem, mas sem limitação, um composto químico, uma proteína, um peptidomimético, um anticorpo, uma ribozima, e uma molécula de ácido nucleico anti-sentido. Em certas modalidades, o inibidor de IL-18BP comprehende um variante de IL-18 que se liga a IL-18BP, reduzindo ou prevenindo por meio disso IL-18BP de inibir IL-18 e sinalizar IL-18.

[00121] Em algumas modalidades, os polipeptídeos variantes de IL-18 são usados para o tratamento ou prevenção de uma doença ou distúrbio. Em várias modalidades, a doença ou distúrbio é câncer ou uma doença ou distúrbio metabólico, incluindo obesidade e diabetes (por exemplo, um método particular pode causar uma diminuição na gordura corporal). Assim, em algumas modalidades, a invenção é uma composição que comprehende pelo menos um polipeptídeo variante de IL-18, ou um fragmento do mesmo. Em outras modalidades, a invenção é um método para administrar pelo menos um polipeptídeo variante de IL-18, ou um fragmento do mesmo, para tratar ou prevenir uma doença ou distúrbio, tal como, mas sem limitação, câncer ou uma doença ou distúrbio metabólico.

[00122] Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 se liga à IL-18R e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18R, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP, se liga à IL-18BP com uma afinidade de ligação que é cerca de 0,000000000001% a cerca de 95% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18BP.

[00123] Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18R, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP, se liga à IL-18BP com uma afinidade de ligação que é cerca de 95% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18BP. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18R, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP, se liga à IL-18BP com uma afinidade de ligação que é cerca de 90% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem

à IL-18BP. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18R, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP, se liga à IL-18BP com uma afinidade de ligação que é cerca de 85% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18BP. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18R, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP, se liga à IL-18BP com uma afinidade de ligação que é cerca de 80% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18BP. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18R, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP, se liga à IL-18BP com uma afinidade de ligação que é cerca de 75% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18BP. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18R, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP, se liga à IL-18BP com uma afinidade de ligação que é cerca de 70% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18BP. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18R, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP, se liga à IL-18BP com uma afinidade de ligação que é cerca de 65% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18BP. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18R, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP, se liga à IL-18BP com uma afinidade de ligação que é cerca de 60% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18BP. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18R, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP, se liga à IL-18BP com uma afinidade de ligação que é cerca de 55% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18BP. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18R, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP, se liga à IL-18BP com uma afinidade de ligação que é cerca de 50% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18BP. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se

liga à IL-18R, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP, se liga à IL-18BP com uma afinidade de ligação que é cerca de 45% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18BP. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18R, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP, se liga à IL-18BP com uma afinidade de ligação que é cerca de 40% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18BP. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18R, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP, se liga à IL-18BP com uma afinidade de ligação que é cerca de 35% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18BP. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18R, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP, se liga à IL-18BP com uma afinidade de ligação que é cerca de 30% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18BP. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18R, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP, se liga à IL-18BP com uma afinidade de ligação que é cerca de 25% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18BP. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18R, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP, se liga à IL-18BP com uma afinidade de ligação que é cerca de 20% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18BP. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18R, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP, se liga à IL-18BP com uma afinidade de ligação que é cerca de 15% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18BP. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18R, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP, se liga à IL-18BP com uma afinidade de ligação que é cerca de 10% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18BP.

[00124] Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18

que se liga à IL-18R, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP, se liga à IL-18BP com uma afinidade de ligação que é cerca de 5% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18BP. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18R, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP, se liga à IL-18BP com uma afinidade de ligação que é cerca de 4% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18BP. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18R, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP, se liga à IL-18BP com uma afinidade de ligação que é cerca de 3% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18BP. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18R, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP, se liga à IL-18BP com uma afinidade de ligação que é cerca de 2% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18BP. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18R, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP, se liga à IL-18BP com uma afinidade de ligação que é cerca de 1% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18BP.

[00125] Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18R, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP, se liga à IL-18BP com uma afinidade de ligação que é cerca de 0,1% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18BP. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18R, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP, se liga à IL-18BP com uma afinidade de ligação que é cerca de 0,01% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18BP. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18R, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP, se liga à IL-18BP com uma afinidade de ligação que é cerca de 0,001% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18BP. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18R,

e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP, se liga à IL-18BP com uma afinidade de ligação que é cerca de 0,0001% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18BP. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18R, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP, se liga à IL-18BP com uma afinidade de ligação que é cerca de 0,00001% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18BP. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18R, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP, se liga à IL-18BP com uma afinidade de ligação que é cerca de 0,000001% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18BP. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18R, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP, se liga à IL-18BP com uma afinidade de ligação que é cerca de 0,0000001% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18BP. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18R, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP, se liga à IL-18BP com uma afinidade de ligação que é cerca de 0,00000001% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18BP. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18R, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP, se liga à IL-18BP com uma afinidade de ligação que é cerca de 0,000000001% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18BP. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18R, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP, se liga à IL-18BP com uma afinidade de ligação que é cerca de 0,0000000001% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18BP. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18R, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP, se liga à IL-18BP com uma afinidade de ligação que é cerca de 0,00000000001% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18BP. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18R, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP, se liga à IL-18BP com uma afinidade de ligação que é cerca de 0,000000000001% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18BP. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18R, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP, se liga à IL-18BP com uma afinidade de ligação que é cerca de 0,0000000000001% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18BP.

18R, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP, se liga à IL-18BP com uma afinidade de ligação que é cerca de 0,000000000001% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18BP.

[00126] Em algumas modalidades, um polipeptídeo variante de IL-18 particular (um DR-IL-18) que se liga à IL-18R, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP, apresenta uma K_D para IL-18BP que é 10 nM ou mais (maior K_D significa menor afinidade de ligação). Em algumas modalidades, um polipeptídeo variante de DR-IL-18 particular apresenta uma K_D para IL-18BP que é 20 nM ou mais (por exemplo, 50 nM ou mais, 100 nM ou mais, 500 nM ou mais, ou 1 μ M ou mais).

[00127] Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 se liga à IL-18R e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante que se liga à IL-18R e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP apresenta uma razão de constante de dissociação de IL-18BP/IL-18R que é cerca de pelo menos 2 vezes mais que a razão de constante de dissociação IL-18BP/IL-18R de IL-18 tipo selvagem (observe que um aumento na razão de constante de dissociação implica em uma diminuição relativa em ligação de IL-18BP relacionada à ligação de IL-18R). Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante que se liga à IL-18R e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP apresenta uma razão de constante de dissociação de IL-18BP/IL-18R que é cerca de pelo menos 20 vezes mais que a razão de constante de dissociação IL-18BP/IL-18R de IL-18 tipo selvagem. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante que se liga à IL-18R e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP apresenta uma razão de constante de dissociação de IL-18BP/IL-18R que é cerca de pelo menos 200 vezes mais que a razão de constante de dissociação IL-18BP/IL-18R de IL-18 tipo selvagem. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante que se liga à IL-18R e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP apresenta uma razão de

constante de dissociação de IL-18BP/IL-18R que é cerca de pelo menos 2.000 vezes mais que a razão de constante de dissociação IL-18BP/IL-18R de IL-18 tipo selvagem. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante que se liga à IL-18R e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP apresenta uma razão de constante de dissociação de IL-18BP/IL-18R que é cerca de pelo menos 20.000 vezes mais que a razão de constante de dissociação IL-18BP/IL-18R de IL-18 tipo selvagem. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante que se liga à IL-18R e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP apresenta uma razão de constante de dissociação de IL-18BP/IL-18R que é cerca de pelo menos 200.000 vezes mais que a razão de constante de dissociação IL-18BP/IL-18R de IL-18 tipo selvagem. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante que se liga à IL-18R e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP apresenta uma razão de constante de dissociação de IL-18BP/IL-18R que é cerca de pelo menos 2.000.000 vezes mais que a razão de constante de dissociação IL-18BP/IL-18R de IL-18 tipo selvagem. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante que se liga à IL-18R e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP apresenta uma razão de constante de dissociação de IL-18BP/IL-18R que é cerca de pelo menos 20.000.000 vezes mais que a razão de constante de dissociação IL-18BP/IL-18R de IL-18 tipo selvagem.

[00128] Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 se liga à IL-18R e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante que se liga à IL-18R e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP apresenta uma razão de constante de dissociação de IL-18BP/IL-18R que é cerca de pelo menos 3 vezes mais que a razão de constante de dissociação IL-18BP/IL-18R de IL-18 tipo selvagem. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante que se liga à IL-18R e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP apresenta uma razão de constante de dissociação de IL-18BP/IL-18R que é cerca de pelo

menos 30 vezes mais que a razão de constante de dissociação IL-18BP/IL-18R de IL-18 tipo selvagem. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante que se liga à IL-18R e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP apresenta uma razão de constante de dissociação de IL-18BP/IL-18R que é cerca de pelo menos 300 vezes mais que a razão de constante de dissociação IL-18BP/IL-18R de IL-18 tipo selvagem. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante que se liga à IL-18R e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP apresenta uma razão de constante de dissociação de IL-18BP/IL-18R que é cerca de pelo menos 3.000 vezes mais que a razão de constante de dissociação IL-18BP/IL-18R de IL-18 tipo selvagem. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante que se liga à IL-18R e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP apresenta uma razão de constante de dissociação de IL-18BP/IL-18R que é cerca de pelo menos 30.000 vezes mais que a razão de constante de dissociação IL-18BP/IL-18R de IL-18 tipo selvagem. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante que se liga à IL-18R e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP apresenta uma razão de constante de dissociação de IL-18BP/IL-18R que é cerca de pelo menos 300.000 vezes mais que a razão de constante de dissociação IL-18BP/IL-18R de IL-18 tipo selvagem. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante que se liga à IL-18R e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP apresenta uma razão de constante de dissociação de IL-18BP/IL-18R que é cerca de pelo menos 3.000.000 vezes mais que a razão de constante de dissociação IL-18BP/IL-18R de IL-18 tipo selvagem. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante que se liga à IL-18R e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP apresenta uma razão de constante de dissociação de IL-18BP/IL-18R que é cerca de pelo menos 30.000.000 vezes mais que a razão de constante de dissociação IL-18BP/IL-18R de IL-18 tipo selvagem.

[00129] Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 se

liga à IL-18R e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante que se liga à IL-18R e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP apresenta uma razão de constante de dissociação de IL-18BP/IL-18R que é cerca de pelo menos 5 vezes mais que a razão de constante de dissociação IL-18BP/IL-18R de IL-18 tipo selvagem. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante que se liga à IL-18R e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP apresenta uma razão de constante de dissociação de IL-18BP/IL-18R que é cerca de pelo menos 50 vezes mais que a razão de constante de dissociação IL-18BP/IL-18R de IL-18 tipo selvagem. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante que se liga à IL-18R e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP apresenta uma razão de constante de dissociação de IL-18BP/IL-18R que é cerca de pelo menos 500 vezes mais que a razão de constante de dissociação IL-18BP/IL-18R de IL-18 tipo selvagem. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante que se liga à IL-18R e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP apresenta uma razão de constante de dissociação de IL-18BP/IL-18R que é cerca de pelo menos 5.000 vezes mais que a razão de constante de dissociação IL-18BP/IL-18R de IL-18 tipo selvagem. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante que se liga à IL-18R e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP apresenta uma razão de constante de dissociação de IL-18BP/IL-18R que é cerca de pelo menos 50.000 vezes mais que a razão de constante de dissociação IL-18BP/IL-18R de IL-18 tipo selvagem. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante que se liga à IL-18R e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP apresenta uma razão de constante de dissociação de IL-18BP/IL-18R que é cerca de pelo menos 500.000 vezes mais que a razão de constante de dissociação IL-18BP/IL-18R de IL-18 tipo selvagem. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante que se liga à IL-18R e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP apresenta uma razão de

constante de dissociação de IL-18BP/IL-18R que é cerca de pelo menos 5.000.000 vezes mais que a razão de constante de dissociação IL-18BP/IL-18R de IL-18 tipo selvagem. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante que se liga à IL-18R e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP apresenta uma razão de constante de dissociação de IL-18BP/IL-18R que é cerca de pelo menos 50.000.000 vezes mais que a razão de constante de dissociação IL-18BP/IL-18R de IL-18 tipo selvagem.

[00130] Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 se liga à IL-18R e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante que se liga à IL-18R e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP apresenta uma razão de constante de dissociação de IL-18BP/IL-18R que é cerca de pelo menos 10 vezes mais que a razão de constante de dissociação IL-18BP/IL-18R de IL-18 tipo selvagem. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante que se liga à IL-18R e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP apresenta uma razão de constante de dissociação de IL-18BP/IL-18R que é cerca de pelo menos 100 vezes mais que a razão de constante de dissociação IL-18BP/IL-18R de IL-18 tipo selvagem. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante que se liga à IL-18R e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP apresenta uma razão de constante de dissociação de IL-18BP/IL-18R que é cerca de pelo menos 1.000 vezes mais que a razão de constante de dissociação IL-18BP/IL-18R de IL-18 tipo selvagem. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante que se liga à IL-18R e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP apresenta uma razão de constante de dissociação de IL-18BP/IL-18R que é cerca de pelo menos 10.000 vezes mais que a razão de constante de dissociação IL-18BP/IL-18R de IL-18 tipo selvagem. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante que se liga à IL-18R e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP apresenta uma razão de constante de dissociação de IL-18BP/IL-18R que é cerca de pelo

menos 100.000 vezes mais que a razão de constante de dissociação IL-18BP/IL-18R de IL-18 tipo selvagem. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante que se liga à IL-18R e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP apresenta uma razão de constante de dissociação de IL-18BP/IL-18R que é cerca de pelo menos 1.000.000 vezes mais que a razão de constante de dissociação IL-18BP/IL-18R de IL-18 tipo selvagem. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante que se liga à IL-18R e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP apresenta uma razão de constante de dissociação de IL-18BP/IL-18R que é cerca de pelo menos 10.000.000 vezes mais que a razão de constante de dissociação IL-18BP/IL-18R de IL-18 tipo selvagem. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante que se liga à IL-18R e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP apresenta uma razão de constante de dissociação de IL-18BP/IL-18R que é cerca de pelo menos 100.000.000 vezes mais que a razão de constante de dissociação IL-18BP/IL-18R de IL-18 tipo selvagem.

[00131] Em algumas modalidades, um polipeptídeo variante de IL-18 particular (um DR-IL-18) que se liga à IL-18R e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP apresenta uma constante inibidora (Ki) para IL-18BP que é maior que 3 nM (por exemplo, 5 nM ou mais, 10 nM ou mais, 50 nM ou mais, 100 nM ou mais, 500 nM ou mais, 750 nM ou mais, ou 1 μ M ou mais). Em algumas modalidades, um polipeptídeo variante de DR-IL-18 particular apresenta uma Ki para IL-18BP que é 500 nM ou mais. Em algumas modalidades, um polipeptídeo variante de DR-IL-18 particular apresenta uma Ki para IL-18BP que é 1 μ M ou mais.

[00132] Em algumas modalidades, um polipeptídeo variante de IL-18 particular (um DR-IL-18) que se liga à IL-18R, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP, apresenta uma Ki para IL-18BP que é maior que 200 nM (por exemplo, 500 nM ou mais, 750 nM ou mais, ou 1 μ M ou mais). Em algumas modalidades, um polipeptídeo variante de DR-IL-18

particular apresenta uma Ki para IL-18BP que é 1 μ M ou mais.

[00133] Em algumas modalidades, um polipeptídeo variante de IL-18 particular (um DR-IL-18) que se liga à IL-18R e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP apresenta uma constante inibidora (Ki) para IL-18BP que é pelo menos 2 vezes maior que a Ki de IL-18 tipo selvagem para IL-18BP (isto é, a Ki do polipeptídeo variante de IL-18 particular para IL-18BP é pelo menos 2 vezes em relação à Ki de IL-18 WT para IL-18BP). Por exemplo, em alguns casos um polipeptídeo variante de DR-IL-18 particular apresenta uma Ki para IL-18BP que é pelo menos 5 vezes mais (por exemplo, pelo menos 10 vezes, pelo menos 50 vezes, pelo menos 100 vezes, pelo menos 200 vezes, pelo menos 500 vezes, ou pelo menos 1000 vezes mais) que a Ki de IL-18 tipo selvagem para IL-18BP.

[00134] Em algumas modalidades, um polipeptídeo variante de IL-18 particular (um DR-IL-18) que se liga à IL-18R e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18BP apresenta um EC₅₀ para IL-18BP que é pelo menos 2 vezes maior que a EC₅₀ de IL-18 tipo selvagem para IL-18BP (isto é, a EC₅₀ do polipeptídeo variante de IL-18 particular para IL-18BP é pelo menos 2 vezes em relação à EC₅₀ de IL-18 WT para IL-18BP). Por exemplo, em alguns casos um polipeptídeo variante de DR-IL-18 particular apresenta uma EC₅₀ para IL-18BP que é pelo menos 5 vezes mais (por exemplo, pelo menos 10 vezes, pelo menos 50 vezes, pelo menos 100 vezes, pelo menos 200 vezes, pelo menos 500 vezes, ou pelo menos 1000 vezes mais) que a EC₅₀ de IL-18 tipo selvagem para IL-18BP.

[00135] Em várias modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 comprehende uma mutação relacionada a um polipeptídeo de IL-18 tipo selvagem (WT). Em algumas modalidades, o polipeptídeo de IL-18 WT comprehende a sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 30. Em outras modalidades, o polipeptídeo de IL-18 WT comprehende a sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 31. A menos que de outra forma especificada, o

termo “X” é usado a seguir para representar qualquer aminoácido.

[00136] Em várias modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 de humano, ou fragmento do mesmo, compreende pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, pelo menos 4, pelo menos 5, ou pelo menos 6 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em Y1X, L5X, K8X, M51X, K53X, S55X, Q56X, P57X, G59X, M60X, E77X, Q103X, S105X, D110X, N111X, M113X, V153X, e N155X, em que X indica qualquer aminoácido. Em várias modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 de humano, ou fragmento do mesmo, compreende pelo menos 4 mutações selecionadas a partir do grupo que consiste em Y1X, L5X, K8X, M51X, K53X, S55X, Q56X, P57X, G59X, M60X, E77X, Q103X, S105X, D110X, N111X, M113X, V153X, e N155X. Em várias modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 de humano, ou fragmento do mesmo, compreende pelo menos 6 mutações selecionadas a partir do grupo que consiste em Y1X, L5X, K8X, M51X, K53X, S55X, Q56X, P57X, G59X, M60X, E77X, Q103X, S105X, D110X, N111X, M113X, V153X, e N155X. Em várias modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 de humano, ou fragmento do mesmo, compreende pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, pelo menos 4, pelo menos 5, ou pelo menos 6 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em Y1X, L5X, K8X, S55X, Q56X, P57X, G59X, M60X, E77X, Q103X, S105X, D110X, N111X, M113X, V153X, e N155X. Em algumas modalidades, um polipeptídeo variante de IL-18 de humano, ou fragmento do mesmo, compreende pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, pelo menos 4, pelo menos 5, ou pelo menos 6 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em Y1H, Y1R, L5H, L5I, L5Y, K8Q, K8R, M51T, M51K, M51D, M51N, M51E, M51R, K53R, K53G, K53S, K53T, S55K, S55R, Q56E, Q56A, Q56R, Q56V, Q56G, Q56K, Q56L, P57L, P57G, P57A, P57K, G59T, G59A, M60K, M60Q, M60R, M60L, E77D, Q103E, Q103K, Q103P, Q103A, Q103R, S105R, S105D,

S105K, S105N, S105A, D110H, D110K, D110N, D110Q, D110E, D110S, D110G, N111H, N111Y, N111D, N111R, N111S, N111G, M113V, M113R, M113T, M113K, V153I, V153T, V153A, N155K, e N155H. Em algumas modalidades, um polipeptídeo variante de IL-18 de humano compreende pelo menos um polipeptídeo variante de IL-18, ou fragmento do mesmo, selecionado a partir do grupo que consiste em hCS1 (SEQ ID NO: 34), hCS2 (SEQ ID NO: 35), hCS3 (SEQ ID NO: 36), hCS4 (SEQ ID NO: 37), hC4 (SEQ ID NO: 38), hA8 (SEQ ID NO: 39), hD6 (SEQ ID NO: 40), hH12 (SEQ ID NO: 41), hB11 (SEQ ID NO: 42), hC3 (SEQ ID NO: 43), hC2 (SEQ ID NO: 44), hG10 (SEQ ID NO: 45), hG1 (SEQ ID NO: 46), hF1 (SEQ ID NO: 47), hD2 (SEQ ID NO: 48), hA1 (SEQ ID NO: 49), hB3 (SEQ ID NO: 50), hB4 (SEQ ID NO: 51), hH3 (SEQ ID NO: 52), hH5 (SEQ ID NO: 53), hH4 (SEQ ID NO: 54), hE1 (SEQ ID NO: 55), hG2 (SEQ ID NO: 56), hB9 (SEQ ID NO: 57), hE12 (SEQ ID NO: 58), hC5 (SEQ ID NO: 59), 5-18 (SEQ ID NO: 73), 5-29 (SEQ ID NO: 74), 5-8 (SEQ ID NO: 75), 5-6 (SEQ ID NO: 76), 5-27 (SEQ ID NO: 77), 5-20 (SEQ ID NO: 78), 5-2 (SEQ ID NO: 79), 5-9 (SEQ ID NO: 80), 5-42 (SEQ ID NO: 81), 5-13 (SEQ ID NO: 82), 5-12 (SEQ ID NO: 83), 5-1 (SEQ ID NO: 84), 5-33 (SEQ ID NO: 85), 5-21 (SEQ ID NO: 86), 6-31 (SEQ ID NO: 87), 6-20 (SEQ ID NO: 88), 6-12 (SEQ ID NO: 89), 6-27 (SEQ ID NO: 90), 6-29 (SEQ ID NO: 91), 5-26 (SEQ ID NO: 191), 5-17 (SEQ ID NO: 192), 5-41 (SEQ ID NO: 193), ou um fragmento dos mesmos.

[00137] Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, inclui pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, ou pelo menos 4 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em M51X, M60X, S105X, D110X, e N111X com relação à SEQ ID NO: 30. Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, inclui pelo menos 3 mutações selecionadas a partir do grupo que consiste em M51X, M60X, S105X, D110X, e N111X com relação

à SEQ ID NO: 30. Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, inclui pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, ou pelo menos 4 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em M51X₁, M60X₂, S105X₃, D110X₄, e N111X₅ com relação à SEQ ID NO: 30, onde X₁ é T, K, D, E, R, ou N; X₂ é K, Q, L, ou R; X₃ é R, D, K, A, ou N; X₄ é H, K, N, Q, E, N, S, ou G; e X₅ é H, D, Y, R, S, ou G. Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, inclui pelo menos 3 mutações (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, ou pelo menos 4 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em M51X₁, M60X₂, S105X₃, D110X₄, e N111X₅ com relação à SEQ ID NO: 30, onde X₁ é T, K, D, E, R, ou N; X₂ é K, Q, L, ou R; X₃ é R, D, K, A, ou N; X₄ é H, K, N, Q, E, N, S, ou G; e X₅ é H, D, Y, R, S, ou G. Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, inclui pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, ou pelo menos 4 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em M51X₁, M60X₂, S105X₃, D110X₄, e N111X₅ com relação à SEQ ID NO: 30, onde X₁ é T ou K; X₂ é K ou L; X₃ é D, N, ou A; X₄ é K, N, S, ou G; e X₅ é H, Y, G, ou R.

[00138] Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, inclui as mutações M51X, M60X, S105X, D110X, e N111X com relação à SEQ ID NO: 30. Por exemplo, em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, inclui as mutações M51X₁, M60X₂, S105X₃, D110X₄, e N111X₅ com relação à SEQ ID NO: 30, onde X₁ é T, K, D, E, R, ou N; X₂ é K, Q, L, ou R; X₃ é R, D, K, A, ou N; X₄ é H, K, N, Q, E, N, S, ou G; e X₅ é H, D, Y, R, S, ou G. Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, inclui as mutações M51X₁, M60X₂, S105X₃, D110X₄, e N111X₅ com relação à SEQ ID NO: 30, onde X₁ é T ou K; X₂ é K ou L; X₃ é D, N, ou A; X₄ é K, N, S, ou G; e X₅ é H, Y, G, ou R. Em outras palavras, em alguns casos, um variante de DR-IL-18

particular, ou fragmento do mesmo, inclui as mutações {M51T ou M51K}; {M60K ou M60L}; {S105D, S105N, S105A}; {D110K, D110N, D110S, ou D110G}; e {N111H, N111Y, N111R, ou N111G} com relação à SEQ ID NO: 30.

[00139] Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, inclui pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, ou pelo menos 4 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em M51X, K53X, Q56X, S105X, e N111X com relação à SEQ ID NO: 30. Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, inclui pelo menos 3 mutações selecionadas a partir do grupo que consiste em M51X, K53X, Q56X, S105X, e N111X com relação à SEQ ID NO: 30. Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, inclui pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, ou pelo menos 4 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em M51X₁, K53X₂, Q56X₃, S105X₄, e N111X₅ com relação à SEQ ID NO: 30, onde X₁ é E, R, ou K; X₂ é G, S, ou T; X₃ é E, A, R, V, G, K, ou L; X₄ é N, S, K, ou G; e X₅ é R, S, G, ou D. Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, inclui pelo menos 3 mutações selecionadas a partir do grupo que consiste em M51X₁, K53X₂, Q56X₃, S105X₄, e N111X₅ com relação à SEQ ID NO: 30, onde X₁ é E, R, ou K; X₂ é G, S, ou T; X₃ é E, A, R, V, G, K, ou L; X₄ é N, S, K, ou G; e X₅ é R, S, G, ou D. Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, inclui pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, ou pelo menos 4 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em M51X₁, K53X₂, Q56X₃, S105X₄, e N111X₅ com relação à SEQ ID NO: 30, onde X₁ é K; X₂ é G ou S; X₃ é G, R, ou L; X₄ é S, N, ou G; e X₅ é G ou R.

[00140] Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, inclui as mutações M51X, K53X, Q56X, S105X, e

N111X com relação à SEQ ID NO: 30. Por exemplo, em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, inclui as mutações M51X₁, K53X₂, Q56X₃, S105X₄, e N111X₅ com relação à SEQ ID NO: 30, onde X₁ é E, R, ou K; X₂ é G, S, ou T; X₃ é E, A, R, V, G, K, ou L; X₄ é N, S, K, ou G; e X₅ é R, S, G, ou D. Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, inclui as mutações M51X₁, K53X₂, Q56X₃, S105X₄, e N111X₅ com relação à SEQ ID NO: 30, onde X₁ é K; X₂ é G ou S; X₃ é G, R, ou L; X₄ é S, N, ou G; e X₅ é G ou R. Em outras palavras, em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, inclui as mutações {M51K}; {K53G ou K53S}; {Q56G, Q56R, ou Q56L}; {D110S, D110N, ou D110G}; e {N111R, ou N111G} com relação à SEQ ID NO: 30.

[00141] Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido com 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30. Assim como em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, pelo menos 4, pelo menos 5, ou pelo menos 6 mutações) com relação à IL-18 tipo selvagem (por exemplo, IL-18 de humano).

[00142] Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou

fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido com 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido apresentada em qualquer uma das SEQ ID NOs: 34-59, 73-91, e 191-193. Assim como em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido apresentada em qualquer uma das SEQ ID NOs: 34-59, 73-91, e 191-193; e (ii) inclui pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, pelo menos 4, pelo menos 5, ou pelo menos 6 mutações) com relação à IL-18 tipo selvagem (por exemplo, IL-18 de humano).

[00143] Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, pelo menos 4, pelo menos 5, ou pelo menos 6 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em Y1X, L5X, K8X, M51X, K53X, S55X, Q56X, P57X, G59X, M60X, E77X, Q103X, S105X, D110X, N111X, M113X, V153X, e N155X com relação à SEQ ID NO: 30. Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais,

93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui pelo menos 4 mutações selecionadas a partir do grupo que consiste em Y1X, L5X, K8X, M51X, K53X, S55X, Q56X, P57X, G59X, M60X, E77X, Q103X, S105X, D110X, N111X, M113X, V153X, e N155X com relação à SEQ ID NO: 30. Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui pelo menos 6 mutações selecionadas a partir do grupo que consiste em Y1X, L5X, K8X, M51X, K53X, S55X, Q56X, P57X, G59X, M60X, E77X, Q103X, S105X, D110X, N111X, M113X, V153X, e N155X com relação à SEQ ID NO: 30. Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, pelo menos 4, pelo menos 5, ou pelo menos 6 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em Y1X, L5X, K8X, S55X, Q56X, P57X, G59X, E77X, Q103X, S105X, D110X, N111X, M113X, V153X, e N155X com relação à SEQ ID NO: 30.

[00144] Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i)

apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, ou pelo menos 4 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em M51X, M60X, S105X, D110X, e N111X com relação à SEQ ID NO: 30. Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui pelo menos 3 mutações selecionadas a partir do grupo que consiste em M51X, M60X, S105X, D110X, e N111X com relação à SEQ ID NO: 30. Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, ou pelo menos 4 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em M51X₁, M60X₂, S105X₃, D110X₄, e N111X₅ com relação à SEQ ID NO: 30, onde X₁ é T, K, D, E, R, ou N; X₂ é K, Q, L, ou R; X₃ é R, D, K, A, ou N; X₄ é H, K, N, Q, E, N, S, ou G; e X₅ é H, D, Y, R, S, ou G. Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de

sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais, 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui pelo menos 3 mutações selecionadas a partir do grupo que consiste em M51X₁, M60X₂, S105X₃, D110X₄, e N111X₅ com relação à SEQ ID NO: 30, onde X₁ é T, K, D, E, R, ou N; X₂ é K, Q, L, ou R; X₃ é R, D, K, A, ou N; X₄ é H, K, N, Q, E, N, S, ou G; e X₅ é H, D, Y, R, S, ou G. Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais, 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, ou pelo menos 4 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em M51X₁, M60X₂, S105X₃, D110X₄, e N111X₅ com relação à SEQ ID NO: 30, onde X₁ é T ou K; X₂ é K ou L; X₃ é D, N, ou A; X₄ é K, N, S, ou G; e X₅ é H, Y, G, ou R.

[00145] Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais, 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui as mutações M51X, M60X, S105X, D110X, e N111X com relação à SEQ ID NO: 30. Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de

sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui as mutações M51X₁, M60X₂, S105X₃, D110X₄, e N111X₅ com relação à SEQ ID NO: 30, onde X₁ é T, K, D, E, R, ou N; X₂ é K, Q, L, ou R; X₃ é R, D, K, A, ou N; X₄ é H, K, N, Q, E, N, S, ou G; e X₅ é H, D, Y, R, S, ou G. Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui as mutações M51X₁, M60X₂, S105X₃, D110X₄, e N111X₅ com relação à SEQ ID NO: 30, onde X₁ é T ou K; X₂ é K ou L; X₃ é D, N, ou A; X₄ é K, N, S, ou G; e X₅ é H, Y, G, ou R.

[00146] Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, ou pelo menos 4 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em M51X, K53X, Q56X, S105X, e N111X com relação à SEQ ID NO: 30. Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou

97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, ou pelo menos 4 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em M51X₁, K53X₂, Q56X₃, S105X₄, e N111X₅ com relação à SEQ ID NO: 30, onde X₁ é K; X₂ é G ou S; X₃ é G, R, ou L; X₄ é S, N, ou G; e X₅ é G ou R.

[00147] Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui as mutações M51X, K53X, Q56X, S105X, e N111X com relação à SEQ ID NO: 30. Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui as mutações M51X₁, K53X₂, Q56X₃, S105X₄, e N111X₅ com relação à SEQ ID NO: 30, onde X₁ é E, R, ou K; X₂ é G, S, ou T; X₃ é E, A, R, V, G, K, ou L; X₄ é N, S, K, ou G; e X₅ é R, S, G, ou D. Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo

selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui as mutações M51X₁, K53X₂, Q56X₃, S105X₄, e N111X₅ com relação à SEQ ID NO: 30, onde X₁ é K; X₂ é G ou S; X₃ é G, R, ou L; X₄ é S, N, ou G; e X₅ é G ou R.

[00148] Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 de murino compreende pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, pelo menos 4, pelo menos 5, ou pelo menos 6 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em N1X, M50X, Y51X, K52X, S54X, E55X, V56X, R57X, G58X, L59X, R104X, N109X, e L151X, em que X indica qualquer aminoácido. Em algumas modalidades, um polipeptídeo variante de IL-18 de murino, ou fragmento do mesmo, compreende pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, pelo menos 4, pelo menos 5, ou pelo menos 6 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em N1H, N1Y, M50A, M50S, M50V, M50G, M50T, Y51R, K52V, K52S, K52T, K52G, K52A, S54R, S54K, S54G, S54N, E55R, E55H, E55N, E55D, E55G, V56L, V56M, V56R, V56A, V56S, V56Q, R57G, R57K, G58A, L59K, L59R, L59V, R104K, R104L, R104Q, R104S, N109D, e L151V. Em algumas modalidades, um polipeptídeo variante de IL-18 de murino compreende pelo menos um variante selecionado a partir do grupo que consiste em mCS1 (SEQ ID NO: 60), mCS2 (SEQ ID NO: 61), mC1 (SEQ ID NO: 62), mA12 (SEQ ID NO: 63), mE8 (SEQ ID NO: 64), mC10 (SEQ ID NO: 65), mB7 (SEQ ID NO: 66), mB1 (SEQ ID NO: 67), mD1 (SEQ ID NO: 68), mH7 (SEQ ID NO: 69), mA7 (SEQ ID NO: 70), mE1 (SEQ ID NO: 71), e mH3 (SEQ ID NO: 72), ou um fragmento dos mesmos.

[00149] Em algumas modalidades, a invenção é um ácido nucleico (por exemplo, DNA, DNAc, RNAm etc.) que codifica pelo menos um polipeptídeo variante de IL-18.

Composições e métodos inibidores terapêuticos

[00150] Em várias modalidades, a presente invenção inclui

composições e métodos inibidores de IL-18BP para tratar ou prevenir uma doença ou distúrbio onde uma atividade ou nível diminuído de IL-18BP é desejado. As indicações para um agente como este estão incluídas pelas indicações elaboradas para um variante de DR-IL-18 anterior. Exemplos não limitantes de doenças ou distúrbios onde uma atividade ou nível diminuído de IL-18BP é desejado, que podem ser tratadas ou prevenidas com as composições e métodos da invenção, incluem câncer, doença infecciosa, doenças ou distúrbios metabólicos e degeneração macular. Em várias modalidades, as composições e métodos inibidores de IL-18BP de tratamento ou prevenção da invenção diminuem a quantidade de polipeptídeo de IL-18BP, a quantidade de IL-18BP RNAm, a quantidade de atividade enzimática de IL-18BP, a quantidade de atividade de ligação ao substrato de IL-18BP, ou uma combinação dos mesmos.

[00151] Será bem entendido pelos versados na técnica, com base na descrição aqui provida, que uma diminuição no nível de IL-18BP inclui uma diminuição na expressão de IL-18BP, incluindo transcrição, tradução ou ambos. Os versados na técnica também entenderão, uma vez munidos dos preceitos da presente invenção, que uma diminuição no nível de IL-18BP inclui uma diminuição na atividade de IL-18BP (por exemplo, atividade enzimática, atividade de ligação ao substrato etc.). Assim, diminuir o nível ou atividade de IL-18BP inclui, mas sem limitação, diminuir a transcrição, tradução, ou ambas, de um ácido nucleico que codifica IL-18BP; e também inclui diminuir qualquer atividade de um polipeptídeo de IL-18BP igualmente. As composições e métodos inibidores de IL-18BP da invenção podem inibir seletivamente IL-18BP, ou podem inibir tanto IL-18BP quanto uma outra molécula.

[00152] A inibição de IL-18BP pode ser avaliada usando uma ampla variedade de métodos, incluindo aqueles aqui descritos, bem como métodos conhecidos na técnica ou que serão desenvolvidos no futuro. Isto é, os

versados poderiam compreender, com base na descrição aqui provida, que diminuir o nível ou atividade de IL-18BP pode ser facilmente avaliado usando métodos que avaliam o nível de um ácido nucleico que codifica IL-18BP (por exemplo, RNAm), o nível de um polipeptídeo de IL-18BP presente em uma amostra biológica, o nível de atividade de IL-18BP (por exemplo, atividade enzimática, atividade de ligação ao substrato etc.), ou combinações dos mesmos.

[00153] Os versados na técnica, com base na descrição aqui provida, entenderiam que a invenção é usada no tratamento ou prevenção de uma doença ou distúrbio em um indivíduo em necessidade do mesmo, quer o indivíduo esteja sendo tratado ou não com uma outra medicação ou terapia. Adicionalmente, os versados na técnica compreenderão, com base nos preceitos aqui providos, que a doença ou distúrbio tratável pelas composições e métodos aqui descritos inclui qualquer doença ou distúrbio onde IL-18BP desempenha um papel, e onde o nível ou atividade diminuída de IL-18BP promove um resultado terapêutico positivo.

[00154] As composições e métodos inibidores de IL-18BP da invenção que aumentam o nível ou atividade (por exemplo, atividade enzimática, atividade de ligação de ligante etc.) de IL-18BP incluem, mas não devem ser interpretadas como limitantes, um composto químico, um polipeptídeo, um peptídeo, um peptidomimético, um anticorpo, uma ribozima, um composto químico de molécula pequena, uma molécula de ácido nucleico anti-sentido (por exemplo, RNAsi, RNAmi etc.), ou combinações dos mesmos. Os versados na técnica entenderão facilmente, com base na descrição aqui provida, que uma composição inibidora de IL-18BP inclui um composto químico que diminui o nível ou atividade de IL-18BP. Adicionalmente, uma composição inibidora de IL-18BP inclui um composto quimicamene modificado, e derivados, como é bem conhecido pelos versados na técnica de química.

[00155] As composições e métodos inibidores de IL-18BP da invenção, que diminuem o nível ou atividade (por exemplo, atividade enzimática, atividade de ligação de ligante etc.) de IL-18BP, incluem anticorpos. Os anticorpos da invenção incluem uma variedade de formas de anticorpos incluindo, por exemplo, anticorpos policlonais, anticorpos monoclonais, anticorpos intracelulares (“intracorpos”), Fv, Fab e F(ab)2, anticorpos de cadeia simples (scFv), anticorpos de cadeia pesada (tais como anticorpos camelídeos), anticorpos sintéticos, anticorpos quiméricos, e anticorpos humanizados. Em algumas modalidades, o anticorpo da invenção é um anticorpo que se liga especificamente à IL-18BP.

[00156] Em algumas modalidades, o inibidor de IL-18BP compreende um variante de IL-18 geneticamente modificado que é determinado para se ligar à IL-18BP, mas não se liga substancialmente ou interage com a IL-18R (por exemplo, IL-18R α e IL-18R β). Este variante, um “chamariz-para-o-chamariz” (D2D), funciona para se ligar à IL-18BP e previne assim IL-18BP de inibir IL-18 produzida de maneira endógena ou introduzida de maneira terapêutica. O “chamariz-para-o-chamariz” pode ser geneticamente modificado usando aproximadamente as mesmas estratégias de seleção de exibição de levedura aqui descritas em outra parte, mas em vez de selecionar positivamente para ligação de IL-18BP, e contra-selecionar substancialmente contra ligação à IL-18R α .

[00157] Em várias modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga e inibe IL-18BP, compreende uma mutação relacionada a um polipeptídeo de IL-18 tipo selvagem (WT). Em algumas modalidades, o polipeptídeo de IL-18 WT compreende a sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 30. Em outras modalidades, o polipeptídeo de IL-18 WT compreende a sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 31.

[00158] Em várias modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga e inibe IL-18BP compreende um polipeptídeo variante de IL-18 de

humano, ou fragmento do mesmo, compreendendo pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, pelo menos 4, pelo menos 5, ou pelo menos 6 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em Y1X, L5X, D17X, E31X, T34X, D35X, S36X, D37X, D40X, N41X, M51X, Q56X, M60X, Q103X, H109X, M113X, e R131X, em que X indica aa. aminoácido. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga e inibe IL-18BP compreende um polipeptídeo variante de IL-18 de humano, ou fragmento do mesmo, compreendendo pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, pelo menos 4, pelo menos 5, ou pelo menos 6 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em Y1D, Y1F, Y1H, Y1L, L5F, L5H, D17A, D17G, D17R, D17H, E31A, E31T, E31G, E31K, E31R, T34A, T34K T34E, D35S, D35A, D35Y, S36N, S36K, S36R, D37P, D37A, D37R, D37H, D37L, D37V, D40Y D40S, D40A, N41K, N41S, N41R, M51F, M51L, M51I, Q56H, M60L, M60F, M60I, Q103L, Q103I, H109A, H109P, H109D, M113L, M113I, M113F, e R131S. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga e inibe IL-18BP compreende um polipeptídeo variante de IL-18 de humano, ou fragmento do mesmo, selecionado a partir do grupo que consiste em hD2D-5F12 (SEQ ID NO: 92), hD2D-5F11 (SEQ ID NO: 93), hD2D-5F10 (SEQ ID NO: 94), hD2D-5F08 (SEQ ID NO: 95), hD2D-5F06 (SEQ ID NO: 96), hD2D-5F04 (SEQ ID NO: 97), hD2D-5F02 (SEQ ID NO: 98), hD2D-5F01 (SEQ ID NO: 99), hD2D-5E10 (SEQ ID NO: 100), hD2D-5E08 (SEQ ID NO: 101), hD2D-5E03 (SEQ ID NO: 102), hD2D-5E02 (SEQ ID NO: 103), hD2D-5D10 (SEQ ID NO: 104), hD2D-5D08 (SEQ ID NO: 105), hD2D-5D06 (SEQ ID NO: 106), hD2D-5D05 (SEQ ID NO: 107), hD2D-5D03 (SEQ ID NO: 108), hD2D-5D02 (SEQ ID NO: 109), hD2D-5C10 (SEQ ID NO: 110), hD2D-5C09 (SEQ ID NO: 111), hD2D-5C08 (SEQ ID NO: 112), hD2D-5C05 (SEQ ID NO: 113), hD2D-5C04 (SEQ ID NO: 114), hD2D-5C03 (SEQ ID NO: 115), hD2D-5B11 (SEQ ID NO: 116), hD2D-5B10 (SEQ ID NO: 117),

hD2D-5B06 (SEQ ID NO: 118), hD2D-5B05 (SEQ ID NO: 119), hD2D-5B02 (SEQ ID NO: 120), hD2D-5A09 (SEQ ID NO: 121), hD2D-5A02 (SEQ ID NO: 122), hD2D-CS1 (SEQ ID NO: 123), hD2D-CS2 (SEQ ID NO: 124), hD2D-CS3 (SEQ ID NO: 125), ou um fragmento dos mesmos.

[00159] Em alguns casos, um variante de D2D-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, inclui pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, ou pelo menos 4 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em D17X, E30X, e Q103X com relação à SEQ ID NO: 30. Em alguns casos, um variante de D2D-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, inclui pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, ou pelo menos 4 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em D17X₁, E30X₂, e Q103X₃ com relação à SEQ ID NO: 30, onde X₁ é G, H, R, ou A; X₂ é A, T, G, K, ou R; e X₃ é I ou L. Em alguns casos, um variante de D2D-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, inclui pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, ou pelo menos 4 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em D17G, E30A, e (Q103L ou Q103I).

[00160] Em alguns casos, um variante de D2D-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, inclui as mutações D17X, E30X, e Q103X com relação à SEQ ID NO: 30. Por exemplo, em alguns casos, um variante de D2D-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, inclui as mutações D17X₁, E30X₂, e Q103X₃ com relação à SEQ ID NO: 30, onde X₁ é G, H, R, ou A; X₂ é A, T, G, K, ou R; e X₃ é I ou L. Em alguns casos, um variante de D2D-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, inclui as mutações D17G, E30A, e (Q103L ou Q103I).

[00161] Em alguns casos, um variante de D2D-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, inclui pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, ou pelo menos 4 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em D17X, E30X, D35X, M51X, e Q103X com relação à

SEQ ID NO: 30. Em alguns casos, um variante de D2D-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, inclui pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, ou pelo menos 4 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em D17X₁, E30X₂, D35X₃, M51X₄, e Q103X₃ com relação à SEQ ID NO: 30, onde X₁ é G, H, R, ou A; X₂ é A, T, G, K, ou R; X₃ é S, A, ou Y; X₄ é F, I, ou L; e X₅ é I ou L. Em alguns casos, um variante de D2D-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, inclui pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, ou pelo menos 4 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em D17G, E30A, D35S, M51F, e (Q103L ou Q103I) com relação à SEQ ID NO: 30.

[00162] Em alguns casos, um variante de D2D-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, inclui as mutações D17X, E30X, D35X, M51X, e Q103X com relação à SEQ ID NO: 30. Por exemplo, em alguns casos, um variante de D2D-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, inclui as mutações D17X₁, E30X₂, D35X₃, M51X₄, e Q103X₃ com relação à SEQ ID NO: 30, onde X₁ é G, H, R, ou A; X₂ é A, T, G, K, ou R; X₃ é S, A, ou Y; X₄ é F, I, ou L; e X₅ é I ou L. Em alguns casos, um variante de D2D-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, inclui as mutações D17G, E30A, D35S, M51F, e (Q103L ou Q103I) com relação à SEQ ID NO: 30.

[00163] Em alguns casos, um variante de D2D-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido com 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30. Assim como em alguns casos, um variante de D2D-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais ,

97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, pelo menos 4, pelo menos 5, ou pelo menos 6 mutações) com relação à IL-18 tipo selvagem (por exemplo, IL-18 de humano).

[00164] Em alguns casos, um variante de D2D-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido com 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido apresentada em qualquer uma das SEQ ID NOs: 126-190. Assim como em alguns casos, um variante de D2D-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido apresentada em qualquer uma das SEQ ID NOs: 126-190; e (ii) inclui pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, pelo menos 4, pelo menos 5, ou pelo menos 6 mutações) com relação à IL-18 tipo selvagem (por exemplo, IL-18 de humano).

[00165] Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, pelo menos 4, pelo menos 5, ou pelo menos 6

mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em Y1X, L5X, D17X, E31X, T34X, D35X, S36X, D37X, D40X, N41X, M51X, Q56X, M60X, Q103X, H109X, M113X, e R131X.

[00166] Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, pelo menos 4, pelo menos 5, ou pelo menos 6 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em D17X, E30X, e Q103X com relação à SEQ ID NO: 30. Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, pelo menos 4, pelo menos 5, ou pelo menos 6 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em D17X₁, E30X₂, e Q103X₃ com relação à SEQ ID NO: 30, onde X₁ é G, H, R, ou A; X₂ é A, T. Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui pelo

menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, pelo menos 4, pelo menos 5, ou pelo menos 6 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em D17G, E30A, e (Q103L ou Q103I).

[00167] Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui as mutações D17X, E30X, e Q103X com relação à SEQ ID NO: 30. Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui as mutações D17X₁, E30X₂, e Q103X₃ com relação à SEQ ID NO: 30, onde X₁ é G, H, R, ou A; X₂ é A, T. Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui as mutações D17G, E30A, e (Q103L ou Q103I).

[00168] Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou

mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, pelo menos 4, pelo menos 5, ou pelo menos 6 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em D17X, E30X, D35X, M51X, e Q103X com relação à SEQ ID NO: 30. Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, pelo menos 4, pelo menos 5, ou pelo menos 6 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em D17X₁, E30X₂, D35X₃, M51X₄, e Q103X₅ com relação à SEQ ID NO: 30, onde X₁ é G, H, R, ou A; X₂ é A, T, G, K, ou R; X₃ é S, A, ou Y; X₄ é F, I, ou L; e X₅ é I ou L. Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, pelo menos 4, pelo menos 5, ou pelo menos 6 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em D17G, E30A, D35S, M51F, e (Q103L ou Q103I) com relação à SEQ ID NO: 30.

[00169] Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou

fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui as mutações D17X, E30X, D35X, M51X, e Q103X com relação à SEQ ID NO: 30. Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui as mutações D17X₁, E30X₂, D35X₃, M51X₄, e Q103X₃ com relação à SEQ ID NO: 30, onde X₁ é G, H, R, ou A; X₂ é A, T, G, K, ou R; X₃ é S, A, ou Y; X₄ é F, I, ou L; e X₅ é I ou L. Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui as mutações D17G, E30A, D35S, M51F, e (Q103L ou Q103I) com relação à SEQ ID NO: 30.

[00170] Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga e inibe IL-18BP compreende um polipeptídeo variante de IL-18 de murino compreendendo pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, pelo menos 4, pelo menos 5, ou pelo menos 6 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em N1X, L5X, D17X, E30X,

T33X, D34X, I35X, D36X, M50X, Q102X, R104, H108X, N109X, M111X, D129X, e D130X, em que X indica qualquer aminoácido. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga e inibe IL-18BP compreende um polipeptídeo variante de IL-18 de murino, ou fragmento do mesmo, compreendendo pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, pelo menos 4, pelo menos 5, ou pelo menos 6 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em N1Y, N1D, N1H, N1L, N1F, N1V, N1I, L5Y, L5H, D17Q, D17G, D17A, D17E, D17S, D17N, E30A, E30R, E30K, E30T, E30G, T33G, T33A, T33E, T33R, T33K, D34Y, D34S, D34A, I35T, I35K, I35R, D36V, D36A, D36G, D36H, D36P, D36R, D36L, M50F, M50L, Q102L, Q102I, R104E, R104A, R104P, R104G, R104Q, R104H, H108D, H108A, N109R, N109S, N109T, N109I, M111L, M111I, D129A, D129F, D129V, D129Y, D129S, D130E, D130T, D130G, D130N, D130R, D130S, D130Q, e D130H. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga e inibe IL-18BP compreende um polipeptídeo variante de IL-18 de murino, ou fragmento do mesmo, selecionado a partir do grupo que consiste em mD2D-A5 (SEQ ID NO: 126), mD2D-A6 (SEQ ID NO: 127), mD2D-A7 (SEQ ID NO: 128), mD2D-A8 (SEQ ID NO: 129), mD2D-A9 (SEQ ID NO: 130), mD2D-A11 (SEQ ID NO: 131), mD2D-A12 (SEQ ID NO: 132), mD2D-B4 (SEQ ID NO: 133), mD2D-B7 (SEQ ID NO: 134), mD2D-B11 (SEQ ID NO: 135), mD2D-B12 (SEQ ID NO: 136), mD2D-C1 (SEQ ID NO: 137), mD2D-C3 (SEQ ID NO: 138), mD2D-C5 (SEQ ID NO: 139), mD2D-C6 (SEQ ID NO: 140), mD2D-C9 (SEQ ID NO: 141), mD2D-C10 (SEQ ID NO: 142), mD2D-C11 (SEQ ID NO: 143), mD2D-D1 (SEQ ID NO: 144), mD2D-D9 (SEQ ID NO: 145), mD2D-D12 (SEQ ID NO: 146), mD2D-E3 (SEQ ID NO: 147), mD2D-E4 (SEQ ID NO: 148), mD2D-E5 (SEQ ID NO: 149), mD2D-E7 (SEQ ID NO: 150), mD2D-E8 (SEQ ID NO: 151), mD2D-E9 (SEQ ID NO: 152), mD2D-E10 (SEQ ID NO: 153), mD2D-E11 (SEQ ID NO: 154), mD2D-E12 (SEQ ID NO: 155),

mD2D-F3 (SEQ ID NO: 156), mD2D-F4 (SEQ ID NO: 157), mD2D-F5 (SEQ ID NO: 158), mD2D-F7 (SEQ ID NO: 159), mD2D-F8 (SEQ ID NO: 160), mD2D-F9 (SEQ ID NO: 161), mD2D-G1 (SEQ ID NO: 162), mD2D-G7 (SEQ ID NO: 163), mD2D-G9 (SEQ ID NO: 164), mD2D-H7 (SEQ ID NO: 165), mD2D-E1 (SEQ ID NO: 166), mD2D-G8 (SEQ ID NO: 167), mD2D-H3 (SEQ ID NO: 168), mD2D-A10 (SEQ ID NO: 169), mD2D-H1 (SEQ ID NO: 170), mD2D-F12 (SEQ ID NO: 171), mD2D-G10 (SEQ ID NO: 172), mD2D-G12 (SEQ ID NO: 173), mD2D-E2 (SEQ ID NO: 174), mD2D-G11 (SEQ ID NO: 175), mD2D-C4 (SEQ ID NO: 176), mD2D-F11 (SEQ ID NO: 177), mD2D-C2 (SEQ ID NO: 178), mD2D-F10 (SEQ ID NO: 179), mD2D-A2 (SEQ ID NO: 180), mD2D-F6 (SEQ ID NO: 181), mD2D-A1 (SEQ ID NO: 182), mD2D-E6 (SEQ ID NO: 183), mD2D-D4 (SEQ ID NO: 184), mD2D-D6 (SEQ ID NO: 185), mD2D-A3 (SEQ ID NO: 186), mD2D-A4 (SEQ ID NO: 187), mD2D-B10 (SEQ ID NO: 188) , mD2D-B8 (SEQ ID NO: 189), mD2D-B9 (SEQ ID NO: 190), ou um fragmento dos mesmos.

[00171] Em algumas modalidades, a invenção é um ácido nucleico (por exemplo, DNA, DNAc, RNAm etc.) que codifica pelo menos um polipeptídeo variante de IL-18.

[00172] Em algumas modalidades, o inibidor de IL-18BP é um polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18BP e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18R. Em algumas modalidades, inibidor de IL-18BP que se liga à IL-18BP e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18R se liga à IL-18R com uma afinidade de ligação que é cerca de 0,00000000001% a cerca de 95% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18R.

[00173] Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18BP, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18R, se liga à IL-18R com uma afinidade de ligação que é cerca de 95% da afinidade

de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18R. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18BP, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18R, se liga à IL-18R com uma afinidade de ligação que é cerca de 90% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18R. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18BP, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18R, se liga à IL-18R com uma afinidade de ligação que é cerca de 85% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18R. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18BP, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18R, se liga à IL-18R com uma afinidade de ligação que é cerca de 80% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18R. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18BP, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18R, se liga à IL-18R com uma afinidade de ligação que é cerca de 75% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18R. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18BP, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18R, se liga à IL-18R com uma afinidade de ligação que é cerca de 70% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18R. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18BP, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18R, se liga à IL-18R com uma afinidade de ligação que é cerca de 65% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18R. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18BP, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18R, se liga à IL-18R com uma afinidade de ligação que é cerca de 60% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18R. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18BP, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18R, se liga à IL-18R com uma afinidade de ligação que é cerca de 55% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18R. Em algumas modalidades, o

polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18BP, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18R, se liga à IL-18R com uma afinidade de ligação que é cerca de 50% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18R. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18BP, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18R, se liga à IL-18R com uma afinidade de ligação que é cerca de 45% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18R. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18BP, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18R, se liga à IL-18R com uma afinidade de ligação que é cerca de 40% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18R. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18BP, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18R, se liga à IL-18R com uma afinidade de ligação que é cerca de 35% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18R. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18BP, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18R, se liga à IL-18R com uma afinidade de ligação que é cerca de 30% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18R. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18BP, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18R, se liga à IL-18R com uma afinidade de ligação que é cerca de 25% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18R. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18BP, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18R, se liga à IL-18R com uma afinidade de ligação que é cerca de 20% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18R. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18BP, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18R, se liga à IL-18R com uma afinidade de ligação que é cerca de 15% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18R. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18BP, e exibe ligação

substancialmente reduzida à IL-18R, se liga à IL-18R com uma afinidade de ligação que é cerca de 10% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18R.

[00174] Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18BP, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18R, se liga à IL-18R com uma afinidade de ligação que é cerca de 5% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18R. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18BP, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18R, se liga à IL-18R com uma afinidade de ligação que é cerca de 4% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18R. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18BP, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18R, se liga à IL-18R com uma afinidade de ligação que é cerca de 3% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18R. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18BP, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18R, se liga à IL-18R com uma afinidade de ligação que é cerca de 2% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18R. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18BP, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18R, se liga à IL-18R com uma afinidade de ligação que é cerca de 1% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18R.

[00175] Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18BP, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18R, se liga à IL-18R com uma afinidade de ligação que é cerca de 0,1% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18R. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18BP, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18R, se liga à IL-18R com uma afinidade de ligação que é cerca de 0,01% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18R. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se

liga à IL-18BP, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18R, se liga à IL-18R com uma afinidade de ligação que é cerca de 0,001% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18R. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18BP, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18R, se liga à IL-18R com uma afinidade de ligação que é cerca de 0,0001% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18R. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18BP, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18R, se liga à IL-18R com uma afinidade de ligação que é cerca de 0,00001% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18R. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18BP, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18R, se liga à IL-18R com uma afinidade de ligação que é cerca de 0,000001% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18R. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18BP, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18R, se liga à IL-18R com uma afinidade de ligação que é cerca de 0,0000001% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18R. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18BP, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18R, se liga à IL-18R com uma afinidade de ligação que é cerca de 0,00000001% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18R. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18BP, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18R, se liga à IL-18R com uma afinidade de ligação que é cerca de 0,000000001% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18R. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18BP, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18R, se liga à IL-18R com uma afinidade de ligação que é cerca de 0,0000000001% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18R. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18BP, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18R, se liga à IL-18R com uma afinidade de ligação que é cerca de 0,00000000001% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18R. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18BP, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18R, se liga à IL-18R com uma afinidade de ligação que é cerca de 0,000000000001% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18R.

substancialmente reduzida à IL-18R, se liga à IL-18R com uma afinidade de ligação que é cerca de 0,0000000001% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18R. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga à IL-18BP, e exibe ligação substancialmente reduzida à IL-18R, se liga à IL-18R com uma afinidade de ligação que é cerca de 0,0000000001% da afinidade de ligação de IL-18 tipo selvagem à IL-18R.

[00176] Adicionalmente, os versados na técnica, quando munidos com esta descrição e os métodos aqui exemplificados, entenderão que uma composição inibidora de IL-18BP inclui tais inibidores da maneira descoberta no futuro, uma vez que podem ser identificados pelos critérios bem conhecidos na técnica de farmacologia, tais como os resultados fisiológicos da inibição de IL-18BP aqui descritos em detalhes, e/ou conhecidos na técnica. Portanto, a presente invenção não é limitada de nenhuma maneira por nenhuma composição inibidora de IL-18BP particular, da maneira aqui exemplificada ou descrita; adicionalmente, a invenção inclui aquelas composições inibidoras que seriam entendidas como rotineiras para serem usadas, uma vez que são conhecidas na técnica e serão descritas no futuro.

[00177] Métodos adicionais para identificar e produzir composições inibidoras de IL-18BP são bem conhecidos pelos versados na técnica incluindo, mas sem limitação, obter um inibidor a partir de uma fonte de ocorrência natural (por exemplo, *Streptomyces* sp., *Pseudomonas* sp., *Stylotella aurantium* etc.). Alternativamente, um inibidor de IL-18BP pode ser sintetizado quimicamente. Adicionalmente, os versados poderiam compreender, com base nos preceitos aqui providos, que uma composição inibidora de IL-18BP pode ser obtida a partir de um organismo recombinante. As composições e métodos para sintetizar quimicamente inibidores de IL-18BP, e para obter os mesmos a partir de fontes naturais, são bem conhecidos na técnica e são descritos na técnica.

[00178] Os versados na técnica compreenderão que um inibidor pode

ser administrado como uma molécula química pequena, uma proteína, um anticorpo, uma construção de ácido nucleico que codifica uma proteína, um ácido nucleico anti-sentido, uma construção de ácido nucleico que codifica um ácido nucleico anti-sentido, ou combinações dos mesmos. Vários vetores e outras composições e métodos são bem conhecidos para administrar uma proteína ou uma construção de ácido nucleico que codifica uma proteína para células ou tecidos. Portanto, a invenção inclui um método para administrar uma proteína ou um ácido nucleico que codifica uma proteína que é um inibidor de IL-18BP. (Sambrook et al., 2012, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Nova Iorque; Ausubel et al., 1997, Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, Nova Iorque).

[00179] Os versados na técnica entenderão que diminuir a quantidade ou atividade de uma molécula, que aumenta ela mesma a quantidade ou atividade de IL-18BP, pode funcionar nas composições e métodos da presente invenção para diminuir a quantidade ou atividade de IL-18BP.

[00180] Oligonucleotídeos anti-sentido são moléculas de DNA ou RNA que são complementares à alguma porção de uma molécula de RNA. Quando presente em uma célula, oligonucleotídeos anti-sentido hibridizam em uma molécula de RNA existente e inibem a tradução em um produto de gene. Inibir a expressão de um gene usando um oligonucleotídeo anti-sentido é bem conhecido na técnica (Marcus-Sekura, 1988, Anal. Biochem. 172:289), uma vez que são métodos para expressar um oligonucleotídeo anti-sentido em uma célula (Inoue, patente U.S. 5.190.931). Os métodos da invenção incluem o uso de um oligonucleotídeo anti-sentido para diminuir a quantidade de IL-18BP, ou para diminuir a quantidade de uma molécula que causa um aumento na quantidade ou atividade de IL-18BP, diminuindo por meio disso a quantidade ou atividade de IL-18BP.

[00181] São contemplados na presente invenção oligonucleotídeos

anti-sentido que são sintetizados e providos para a célula por meio de métodos bem conhecidos pelos versados na técnica. Como um exemplo, um oligonucleotídeo anti-sentido pode ser sintetizado para estar entre cerca de 10 e cerca de 100, de maneira mais exemplar entre cerca de 15 e cerca de 50 nucleotídeos em tamanho. A síntese de moléculas de ácido nucleico é bem conhecida na tpecnica, uma vez que é a síntese de oligonucleotídeos anti-sentido modificados para melhorar a atividade biológica, em comparação com oligonucleotídeos anti-sentido não modificados (Tullis, 1991, patente U.S. 5.023.243).

[00182] De maneira similar, a expressão de um gene pode ser inibida pela hibridização de uma molécula anti-sentido em um promotor ou outro elemento regulatório de um gene, afetando por meio disso a transcrição do gene. Métodos para a identificação de um promotor ou outro elemento regulatório que interage com um gene de interesse são bem conhecidos na técnica, e incluem tais métodos como o sistema duplo-híbrido de levedura (Bartel and Fields, eds., Em: The Yeast Two Hybrid System, Oxford University Press, Cary, N.C.).

[00183] Alternativamente, a inibição de um gene que expressa IL-18BP, ou de um gene que expressa uma proteína que aumenta o nível ou atividade de IL-18BP, pode ser realizada através do uso de uma ribozima. Usar ribozimas para inibir a expressão de gene expressão bem conhecido pelos versados na técnica (vide, por exemplo, Cech et al., 1992, J. Biol. Chem. 267:17479; Hampel et al., 1989, Biochemistry 28: 4929; Altman et al., patente U.S. 5.168.053). Ribozimas são moléculas de RNA catalíticas com a capacidade de clivar outras moléculas de RNA de fita única. As ribozimas são conhecidas por apresentar sequência específica e, portanto, podem ser modificadas para reconhecer uma sequência específica de nucleotídeo (Cech, 1988, J. Amer. Med. Assn. 260:3030), permitindo a clivagem seletiva de moléculas de RNAm específicas. Dada a sequência de nucleotídeos da

molécula, os versados na técnica poderão sintetizar um oligonucleotídeo anti-sentido ou ribozima sem experimentação indevida, provida com a descrição e referências aqui incorporadas.

[00184] Os versados na técnica entenderão que os inibidores de IL-18BP podem ser administrados de maneira aguda (por exemplo, em relação a um período curto de tempo, tal como um dia, uma semana ou um mês) ou de maneira crônica (por exemplo, por um longo período de tempo, tal como vários meses ou um ano ou mais). Os versados na técnica entenderão que os inibidores de IL-18BP podem ser administrados isoladamente ou em qualquer combinação com outros agentes. Adicionalmente, inibidores de IL-18BP podem ser administrados isoladamente ou em qualquer combinação em um sentido temporal, de maneira que possam ser administrados ao mesmo tempo, e/ou antes, e/ou após o outro. Os versados na técnica entenderão, com base na descrição aqui provida, que as composições inibidoras de IL-18BP podem ser usadas para tratar ou prevenir uma doença ou distúrbio em um indivíduo em necessidade do mesmo, e que uma composição inibidora pode ser usada sozinha ou em qualquer combinação com um outro agente para atingir um resultado terapêutico.

[00185] Em várias modalidades, qualquer um dos inibidores de IL-18BP da invenção aqui descritos pode ser administrado sozinho ou em combinação com outros inibidores de outras moléculas, associados a uma doença ou distúrbio aqui descrito ou conhecido na técnica.

[00186] Será entendido pelos versados na técnica, quando munidos com a presente descrição, incluindo os métodos aqui detalhados, que a invenção não é limitada ao tratamento de uma doença ou distúrbio que já está estabelecido. Particularmente, a doença ou distúrbio não precisa ter se manifestado a ponto de prejudicar o indivíduo; de fato, a doença ou distúrbio não precisa ser detectado em um indivíduo antes do tratamento ser administrado. Isto é, doença ou distúrbio significativo não precisa ocorrer

antes da presente invenção poder fornecer benefício. Portanto, a presente invenção inclui um método para prevenir uma doença ou distúrbio em um indivíduo, no qual uma composição inibidora de IL-18BP, da maneira previamente aqui discutida em outra parte, pode ser administrada a um indivíduo antes do início da doença ou distúrbio, prevenindo dessa forma a doença ou distúrbio de se desenvolver. Os métodos preventivos aqui descritos também incluem o tratamento de um indivíduo que está em remissão para a prevenção de uma recorrência de uma doença ou distúrbio.

[00187] Os versados na técnica, quando munidos aqui com a descrição, entenderão que a prevenção de uma doença ou distúrbio inclui administrar a um indivíduo uma composição inibidora de IL-18BP como uma medida preventiva contra a doença ou distúrbio. Como discutido mais detalhadamente aqui em outra parte, os métodos para diminuir o nível ou atividade de IL-18BP incluem uma ampla abundância de técnicas para diminuir não apenas a atividade de IL-18BP, mas também para diminuir a expressão de um ácido nucleico que codifica IL-18BP, incluindo tanto uma diminuição na transcrição, uma diminuição na tradução, quanto em ambas.

[00188] Adicionalmente, da maneira aqui descrita em outra parte, os versados na técnica entenderão, uma vez munidos com os preceitos aqui providos, que a presente invenção inclui um método para prevenir uma ampla variedade de doenças, distúrbios e patologias onde uma diminuição na expressão e/ou atividade de IL-18BP media, trata ou previne a doença, distúrbio ou patologia. Métodos para avaliar se uma doença se refere aos níveis ou atividade de IL-18BP são conhecidos na técnica. Adicionalmente, a invenção inclui tratamento ou prevenção de tais doenças descobertas no futuro.

[00189] A invenção inclui a administração de um inibidor de IL-18BP para realizar os métodos da invenção; os versados na técnica entenderão, com base na descrição aqui provida, como formular e administrar o inibidor

apropriado de IL-18BP em um indivíduo. Entretanto, a presente invenção não é limitada a nenhum método particular de administração ou regime de tratamento.

Inibidores de Citocina

[00190] Em algumas modalidades, a composição da presente invenção compreende um inibidor de uma ou mais citocinas. Em algumas modalidades, o inibidor de uma ou mais citocinas compreende um composto químico, uma proteína, um peptídeo, um peptidomimético, um anticorpo, uma ribozima, um composto químico de molécula pequena, ou uma molécula de ácido nucleico anti-sentido (por exemplo, RNAsi, RNAmi etc.) que inibe a expressão, atividade, ou ambas de uma ou mais citocinas. Em algumas modalidades, o inibidor inibe a expressão, atividade, ou ambas de IL-17, IL-5, ou IL-3. Em algumas modalidades, o inibidor de citocina diminui a toxicidade. Em algumas modalidades, o inibidor de citocina aumenta a eficiência de um polipeptídeo variante de IL-18 administrado, ou inibidor de IL-18BP.

Composições e Métodos de Tratamento e Prevenção

[00191] Em várias modalidades, a presente invenção inclui composições compreendendo um ativador de atividade de IL-18, tal como atividade de sinalização por meio de pelo menos uma IL-18R, e métodos para aumentar a atividade de IL-18, tal como sinalização por meio de pelo menos uma IL-18R, em uma célula, tecido, órgão, sistema, ou indivíduo que precisa da mesma. Em várias modalidades, as composições ativadoras de atividade de IL-18, e métodos de tratamento da invenção, aumentam a quantidade de sinalização de IL-18R, a quantidade de atividade de célula imune, ou ambas. Em várias modalidades, as doenças e distúrbios nos quais um aumento na sinalização de IL-18R pode melhorar resultados terapêuticos incluem, mas sem limitação, câncer, doença infecciosa, degeneração macular, e doenças ou distúrbios metabólicos.

[00192] A seguir, estão exemplos não limitantes de cânceres que

podem ser tratados ou prevenidos pelos métodos e composições da invenção: leucemia linfoblástica aguda, leucemia mieloide aguda, carcinoma adrenocortical, câncer de apêndice, carcinoma de célula basal, câncer do duto biliar, câncer de bexiga, câncer ósseo, tumores cerebrais e da medula espinhal, glioma do tronco cerebral, tumor cerebral, câncer de mama, tumores brônquicos, linfoma de Burkitt, tumor carcinoide, tumor teratoide/rabdoide atípico do sistema nervoso central, tumores embrionários do sistema nervoso central, linfoma do sistema nervoso central, astrocitoma cerebelar, astrocitoma cerebral/ glioma maligno, astrocitotna cerebral/ glioma maligno, câncer cervical, tumor da via visual da infância, cordoma, leucemia linfocítica crônica, leucemia mielogênica crônica, distúrbios mieloproliferativos crônicos, câncer de colón, câncer colorretal, craniofaringioma, câncer cutâneo, linfoma de célula T cutâneo, câncer endometrial, ependimoblastoma, ependimoma, câncer esofágico, família Ewing de tumores, câncer extracraniano, tumor de célula germinal extragonadal, câncer de duto biliar extra-hepático, câncer extra-hepático, câncer ocular, fungoides, câncer de vesícula biliar, câncer gástrico (estômago), câncer gastrointestinal, tumor carcinoide gastrointestinal, tumor estromal gastrointestinal (gist), tumor de célula germinal, câncer gestacional, tumor trofoblástico gestacional, glioblastoma, glioma, leucemia de célula pilosa, câncer de cabeça e pescoço, câncer hepatocelular (fígado), histiocitose, linfoma de Hodgkin, câncer hipofaringeano, glioma da via hipotalâmica e visual, tumor hipotalâmico, câncer intraocular (olho), melanoma intraocular, tumores de células de ilhotas, sarcoma de kaposi, câncer renal (célula renal), câncer de célula de langerhans, histiocitose de célula de langerhans, câncer de laringe, leucemia, câncer dos lábios e cavidade oral, câncer hepático, câncer de pulmão, linfoma, macroglobulinemia, histiocitoma fibroso maligno de osso e osteossarcoma, meduloblastoma, medulóepitelioma, melanoma, carcinoma de célula de Merkel, mesotelioma, câncer de pescoço escamoso metastásico com oclusão

primária, câncer de boca, síndroma de neoplasia endócrina múltipla, mieloma múltiplo, micose, síndrome mielodisplásicas, doenças mielodisplásicas/mieloproliferativas, leucemia mielogenosa, leucemia mieloide, mieloma, distúrbios mieloproliferativos, câncer de cavidade nasal e sino paranasal, câncer nasofaringeano, neuroblastoma, linfoma não Hodgkin, câncer de pulmão de célula não pequena, câncer oral, câncer de cavidade oral, câncer orofaringeano, osteosarcoma e histiocitoma fibroso maligno, osteosarcoma e histiocitoma fibroso maligno de osso, ovariano, câncer ovariano, câncer epitelial ovariano, tumor de célula germinal ovariana, tumor ovariano de baixo potencial maligno, câncer pancreático, papilomatose, paraganglioma, câncer de paratireoide, câncer peniano, câncer de faringe, feocromocitoma, tumores parenquimais pineais de diferenciação intermediária, pineoblastoma e tumores neuroectodérmicos primitivos supratentoriais, tumor pituitário, neoplasma de célula plasmática, neoplasma de célula plasmática/mieloma múltiplo, blastoma pleuropulmonar, câncer do sistema nervoso central primário, linfoma do sistema nervoso central primário, câncer de próstata, câncer retal, câncer de célula renal (rim), câncer de pelve renal e ureter, carcinoma do trato respiratório envolvendo o gene nut no cromossomo 15, retinoblastoma, rabdomiossarcoma, câncer de glândula salivar, sarcoma, síndrome de Sezary, câncer de pele (melanoma), câncer de pele(não melanoma), carcinoma de pele, câncer de pulmão de célula pequena, câncer de intestino delgado, câncer de tecidos moles, sarcoma de tecidos moles, carcinoma de célula escamosa, câncer escamoso de pescoço, câncer de estômago (gástrico), tumores neuroectodérmicos primitivos supratentoriais, tumores neuroectodérmicos primitivos supratentoriais e pineoblastoma, linfoma de célula T, câncer testicular, câncer de garganta, timoma e carcinoma tímico, câncer de tireoide, câncer de célula transicional, câncer de célula transicional da pelve renal e ureter, tumor trofoblásico, câncer de uretra, câncer uterino, sarcoma uterino, câncer vaginal, glioma da via visual e

hipotalâmico, câncer vulvar, macroglobulinemia de Waldenstrom e tumores de Wilms.

[00193] Assim, exemplos não limitantes de cânceres que podem ser tratados ou prevenidos pelos métodos e composições da descrição incluem cânceres de tumor sólido, cânceres líquidos, cânceres de sangue, teratomas, sarcomas, e carcinomas.

[00194] Em algumas modalidades, o método da presente invenção é usado para tratar ou prevenir um tumor ou câncer que é resistente aos inibidores de ponto de controle imunológico (ICIs). Inibidores de ponto de controle imunológico exemplares incluem, mas sem limitação, anti-PD1 (por exemplo, nivolumabe), anti-CTLA4 (por exemplo, ipilimumabe), anti-TIM3, anti-TIGIT, anti-LAG3, anti-B7H3, anti-B7H4, anti-VISTA, anti-ICOS, anti-GITR, anti-41BB, anti-OX40, e anti-CD40. Exemplos de alvos de inibidores de ponto de controle imunológico incluem, mas sem limitação: PD-L1, PD1, CTLA4, TIM3, TIGIT, LAG3, B7H3, B7H4, VISTA, ICOS, GITR, 41BB, OX40, e CD40. Assim, exemplos de inibidores de ponto de controle imunológico incluem agentes que inibem proteínas tais como: PD-L1, PD1, CTLA4, TIM3, TIGIT, LAG3, B7H3, B7H4, VISTA, ICOS, GITR, 41BB, OX40, ou CD40. Em alguns casos, um polipeptídeo variante de IL-18 particular (por exemplo, um variante de DR-IL-18, um variante de D2D-IL-18) é co-administrado com um inibidor do ponto de controle imunológico (por exemplo, um agente que inibe PD-L1, PD1, CTLA4, TIM3, TIGIT, LAG3, B7H3, B7H4, VISTA, ICOS, GITR, 41BB, OX40, ou CD40, ou qualquer combinação dos mesmos).

Fusões/conjugações

[00195] Em algumas modalidades, um polipeptídeo variante de IL-18 da presente descrição é fundido a uma outra proteína, isto é, um polipeptídeo variante de IL-18 ou um fragmento do mesmo pode ser fundido em alinhamento com um segundo polipeptídeo (um parceiro de fusão). Em

algumas modalidades, o segundo polipeptídeo (o parceiro de fusão) é capaz de aumentar o tamanho completo da proteína de fusão, por exemplo, de maneira tal que a proteína de fusão não seja eliminada da circulação rapidamente. Em alguns casos, um polipeptídeo variante de IL-18 ou um fragmento do mesmo não é fundido a um segundo polipeptídeo.

[00196] Em algumas modalidades, o segundo polipeptídeo (o parceiro de fusão para um polipeptídeo variante de IL-18 ou um fragmento do mesmo) é parte ou o total de uma região Fc de imunoglobulina Fc (isto é, uma sequência Fc de anticorpo). Em outras modalidades, o segundo polipeptídeo é qualquer polipeptídeo adequado que é substancialmente similar a Fc, por exemplo, provendo maior aumento de tamanho, domínios de multimerização, e/ou ligação ou interação adicional com moléculas Ig. Em algumas modalidades, o segundo polipeptídeo é parte ou o total da albumina sérica humana (HSA). Em algumas modalidades, o segundo polipeptídeo é parte ou o total de um anticorpo, fragmento de anticorpo, anticorpo camelídeo ou “nanocorpo”, ou outro reagente de afinidade que se liga ou interage com HSA. Estas proteínas de fusão podem facilitar a purificação, multimerização, e exibem uma maior meia-vida *in vivo*. As proteínas de fusão com estruturas multiméricas ligadas ao dissulfeto também podem ser, em alguns casos, mais eficientes em se ligar e neutralizar outras moléculas.

[00197] Quando fundida a um polipeptídeo heterólogo, a porção que corresponde ao polipeptídeo variante de IL-18 ou um fragmento do mesmo pode ser referida como a “porção de polipeptídeo variante de IL-18” de um polipeptídeo variante de IL-18 particular. Em alguns casos, a “porção de polipeptídeo variante de IL-18” pode apresentar 100 aminoácidos ou mais em tamanho (por exemplo, 110 aminoácidos ou mais, 125 aminoácidos ou mais, 150 aminoácidos ou mais, 90 aminoácidos ou mais, 95 aminoácidos ou mais, 100 aminoácidos ou mais, 105 aminoácidos ou mais, 110 aminoácidos ou mais, 115 aminoácidos ou mais, 120 aminoácidos ou mais, 125 aminoácidos

ou mais, 130 aminoácidos ou mais, 140 aminoácidos ou mais, ou 150 aminoácidos ou mais), até IL-18 de tamanho completo, e podem ser adicionalmente fundidos a um polipeptídeo heterólogo.

[00198] Em alguns casos, porção de polipeptídeo variante de IL-18 de um polipeptídeo variante de IL-18 apresenta um tamanho em uma faixa de 100 aminoácidos a 157 aminoácidos (por exemplo, de 100 aminoácidos a 150 aminoácidos, de 100 aminoácidos a 140 aminoácidos, de 140 aminoácidos a 157 aminoácidos, de 140 aminoácidos a 150 aminoácidos, de 145 aminoácidos a 157 aminoácidos, ou de 150 aminoácidos a 157 aminoácidos).

[00199] Em alguns casos, o segundo polipeptídeo é uma sequência marcadora (por exemplo, uma marcação de afinidade), tal como um peptídeo que facilita a purificação do polipeptídeo fundido. Por exemplo, a sequência marcadora de aminoácido pode ser um peptídeo hexa-histidina, tal como a marcação provida em um vetor pQE (QIAGEN, Inc., 9259 Eton Avenue, Chatsworth, Calif., 91311), entre outros, muitos dos quais são comercialmente disponíveis. Da maneira descrita em *Gentz et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86: 821-824, 1989, por exemplo, hexa-histidina provê purificação conveniente da proteína de fusão. Uma outra marcação de peptídeo usada para purificação, a marcação "HA", corresponde a um epítopo derivado da proteína hemaglutinina de influenza. *Wilson et al.*, Cell 37: 767, 1984. A adição de frações de peptídeo para facilitar o manuseio de polipeptídeos são técnicas familiares e rotineiras na tecnologia.

[00200] Um polipeptídeo variante de IL-18 particular pode ser modificado, por exemplo, unido/conjugado a uma ampla variedade de outros oligopeptídeos, proteínas, e/ou frações não proteicas com uma variedade de propósitos. Por exemplo, modificado pós-traducionalmente, por exemplo por prenilação, acetilação, amidação, carboxilação, glicosilação, PEGylation (anexação covalente de cadeias de polímero de polietileno glicol (PEG)) etc. Tais modificações também podem incluir modificações de glicosilação, por

exemplo, aquelas realizadas modificando os padrões de glicosilação de um polipeptídeo durante sua síntese e processamento, ou em etapas de processamento adicional; por exemplo, expondo o polipeptídeo às enzimas que afetam a glicosilação, tais como enzimas de glicosilação ou desglicosilação de mamífero. Em algumas modalidades, um polipeptídeo variante de IL-18 particular apresenta um ou mais resíduos fosforilados de aminoácidos, por exemplo, fosfotirosina, fosfoserina ou fosfotreonina.

[00201] Em some outras modalidades, polipeptídeos variantes de IL-18 da descrição incluem reagentes modificados adicionalmente para melhorar sua resistência à degradação proteolítica, ou para otimizar as propriedades de solubilidade, ou para torná-los mais adequados como um agente terapêutico. Por exemplo, variantes da presente descrição incluem adicionalmente análogos contendo resíduos sem ser L-aminoácidos de ocorrência natural, por exemplo, D-aminoácidos ou aminoácidos sintéticos de ocorrência não natural. D-aminoácidos podem ser substituídos por alguns ou todos os resíduos de aminoácido.

Co-administração e Polipeptídeos variantes de IL-18 multiespecíficos

[00202] Da maneira observada em outra parte nesta descrição, em alguns casos, um polipeptídeo variante de IL-18 particular é administrado com um agente adicional. Os termos "co-administração", "co-administrar", e "em combinação com" incluem a administração de dois ou mais agentes terapêuticos (por exemplo, um variante de IL-18 particular tal como DR-IL-18 ou D2D em combinação com um agente adicional) tanto simultaneamente, ao mesmo tempo ou sequencialmente em limites de tempo não específicos. Em algumas modalidades, os agentes estão presentes na célula ou no corpo do indivíduo ao mesmo tempo, ou exercem seu efeito biológico ou terapêutico ao mesmo tempo. Em algumas modalidades, os agentes terapêuticos estão ana mesma composição ou forma de dosagem única. Em outras modalidades, os agentes terapêuticos estão em composições separadas ou formas de dosagem

únicas. Em certas modalidades, um primeiro agente pode ser administrado antes (por exemplo, minutos, 15 minutos, 30 minutos, 45 minutos, 1 hora, 2 horas, 4 horas, 6 horas, 12 horas, 24 horas, 48 horas, 72 horas, 96 horas, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 8 semanas, ou 12 semanas antes), concomitantemente com, ou subsequente a (por exemplo, 5 minutos, 15 minutos, 30 minutos, 45 minutos, 1 hora, 2 horas, 4 horas, 6 horas, 12 horas, 24 horas, 48 horas, 72 horas, 96 horas, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 8 semanas, ou 12 semanas após) a administração de um segundo agente terapêutico.

[00203] Em alguns casos, um variante de IL-18 particular (por exemplo, um variante de DR-IL-18 ou um variante de D2D) (por exemplo, formulado como uma composição farmacêutica) é co-administrado com um fármaco terapêutico para câncer, fármaco terapêutico para tratar uma infecção, ou anticorpo direcionado ao câncer. Tal administração pode envolver administração concorrente (isto é, ao mesmo tempo), prévia ou subsequente do fármaco/anticorpo com relação à administração de um agente ou agentes da descrição. Os versados na técnica não terão nenhuma dificuldade para determinar o momento apropriado, sequência e dosagens de administração para fármacos e composições particulares da presente descrição.

[00204] Em algumas modalidades, tratamento é realizado administrando uma combinação (co-administração) de um variante de IL-18 particular (por exemplo, um variante de DR-IL-18 ou um variante de D2D) com um outro agente (por exemplo, um estimulante imune, um agente para tratar infecção crônica, um agente citotóxico, um agente anti-câncer etc.). Um exemplo de classe de agente citotóxicos que pode ser usada são agente quimioterapêuticos. Agentes quimioterapêuticos exemplares incluem, mas sem limitação, aldesleucina, altretamina, amifostina, asparaginase, bleomicina, capecitabina, carboplatina, carmustina, cladribina, cisaprida,

cisplatina, coclofosfamida, citarabina, dacarbazina (DTIC), dactinomicina, docetaxel, doxorubicina, dronabinol, duocarmicina, etoposido, filgrastim, fludarabina, fluorouracil, gencitabina, granisetron, hidroxiureia, idarubicina, ifosfamida, interferon alfa, irinotecan, lansoprazol, levamisol, leucovorina, megestrol, mesna, metotrexato, metoclopramida, mitomicina, mitotano, mitoxantrona, omeprazol, ondansetron, paclitaxel (TaxolTM), pilocarpina, procloroperazina, rituximabe, saproina, tamoxifeno, taxol, cloridrato de topotecana, trastuzumabe, vinblastina, vincristina e tartarato de vinorelbina.

[00205] Um variante de IL-18 particular (por exemplo, um variante de DR-IL-18 ou um variante de D2D) não precisa apresentar, mas é opcionalmente formulado com, um ou mais agentes que potencializam a atividade, ou que de outra forma aumentam o efeito terapêutico. Em algumas modalidades, o tratamento é realizado administrando uma combinação (co-administração) de um variante de IL-18 particular (por exemplo, um variante de DR-IL-18) e um agente que opsoniza uma célula alvo. Assim, são também aqui previstas composições (e métodos que usam as composições) que incluem: (A) um variante de IL-18 particular (por exemplo, um variante de DR-IL-18); e (b) um agente que opsoniza a célula alvo. Em alguns casos, este agente que opsoniza a célula alvo é Rituximabe. Em alguns casos, este agente que opsoniza a célula alvo é Cetuximabe.

[00206] Um “agente que opsoniza uma célula alvo” (um “agente de opsonização”) é qualquer agente que pode se ligar a uma célula alvo (por exemplo, uma célula de câncer, uma célula que carrega um patógeno intracelular etc.) e opsonizar a célula alvo (por exemplo, marcar a célula alvo para fagocitose e/ou para citotoxicidade mediada por célula dependente de anticorpo (ADCC)). Por exemplo, qualquer anticorpo que pode se ligar a uma célula alvo (por exemplo, uma célula de câncer tal como uma célula de tumor), onde o anticorpo apresenta uma região FC, é considerado como um agente que opsoniza uma célula alvo. Em alguns casos, o agente que opsoniza

uma célula alvo é um anticorpo que se liga a uma célula alvo (por exemplo, um anticorpo antitumor, um anticorpo anticâncer, um anticorpo anti-infecção, e similares).

[00207] Por exemplo, anticorpos seletivos para marcadores de célula de tumor, radiação, cirurgia, e/ou privação hormonal, vide *Kwon et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci U.S.A., 96: 15074-9, 1999. Os inibidores de angiogênese também podem ser combinados com os métodos da invenção. Inúmeros anticorpos estão atualmente em uso clínico para o tratamento de câncer, e outros estão em estágios variados de desenvolvimento clínico. Por exemplo, existem inúmeros抗ígenos e anticorpos monoclonais correspondentes para o tratamento de malignidades de célula B. Um抗ígeno alvo é CD20. Rituximabe é um anticorpo monoclonal químérico não conjugado direcionado para o抗ígeno CD20. CD20 apresenta um importante papel funcional na ativação, proliferação e diferenciação de célula B. O抗ígeno CD52 é alvejado pelo anticorpo monoclonal alemtuzumabe, que é indicado para o tratamento de leucemia linfocítica crônica. CD22 é alvejado por inúmeros anticorpos, e demonstraram recentemente eficiência combinada com toxina em leucemia de célula pilosa resistente à quimioterapia. Dois novos anticorpos monoclonais que alvejam CD20, tositumomabe e ibritumomabe, foram submetidos à *Food and Drug Administration* (FDA). Estes anticorpos são conjugados com radioisótopos. Alemtuzumabe (Campath) é usado no tratamento de leucemia linfocítica crônica; Gemtuzumabe (Mylotarg) apresenta uso no tratamento de leucemia mielogenosa aguda; Ibritumomabe (Zevalin) apresenta uso no tratamento de linfoma não Hodgkin; Panitumumabe (Vectibix) encontra uso no tratamento de câncer de cólon.

[00208] Anticorpos monoclonais usados nos métodos da descrição que foram usados em tumores sólidos incluem, sem limitação, edrecolomabe e trastuzumabe (herceptina). Edrecolomabe alveja o抗ígeno 17-1A encontrado em câncer de cólon e retal, e foi aprovado para uso na Europa para estas

indicações. Trastuzumab Alveja o antígeno HER-2/neu. Cetuximabe (Erbitux) também é de interesse para uso nos métodos da descrição. O anticorpo se liga ao receptor EGF (EGFR), e foi usado no tratamento de tumores sólidos, incluindo câncer de cólon e carcinoma de célula escamosa da cabeça e pescoço (SCCHN).

[00209] Um polipeptídeo variante de IL-18 particular (por exemplo, um variante de DR-IL-18, um variante de D2D-IL-18) pode ser combinado com qualquer um dos agentes mencionados anteriormente (por exemplo, agentes tais como anticorpos que opsonizam uma célula alvo). Assim, em alguns casos, um polipeptídeo variante de IL-18 particular (por exemplo, um variante de DR-IL-18, um variante de D2D-IL-18) é usado em uma terapia de combinação (é co-administrado) com um ou mais agentes de opsonização seletivos para células de câncer, por exemplo, células de tumor. Em alguns casos, um polipeptídeo variante de IL-18 particular (por exemplo, um variante de DR-IL-18, um variante de D2D-IL-18) é usado em uma terapia de combinação (é co-administrado) com um ou mais de: cetuximabe (se liga a EGFR), panitumumabe (se liga a EGFR), rituximabe (se liga a CD20), trastuzumabe (se liga a HER2), pertuzumabe (se liga a HER2), alemtuzumabe (se liga a CD52), brentuximabe (se liga a CD30), tositumomabe, ibritumomabe, gentuzumabe, ibritumomabe e edrecolomabe (se liga a 17-1A), ou uma combinação dos mesmos.

[00210] Em alguns casos, um polipeptídeo variante de IL-18 particular (por exemplo, um variante de DR-IL-18, um variante de D2D-IL-18) é co-administrado com um agente de opsonização de células de câncer (por exemplo, um que compreende um região de ligação de antígeno que alveja CD19, CD20, CD22, CD24, CD25, CD30, CD33, CD37, CD38, CD44, CD45, CD47, CD51, CD52, CD56, CD62L, CD70, CD74, CD79, CD80, CD96, CD97, CD99, CD123, CD134, CD138, CD152 (CTLA-4), CD200, CD213A2, CD221, CD248, CD276 (B7-H3), B7-H4, CD279 (PD-1), CD274

(PD-L1), CD319, EGFR, EPCAM, 17-1A, HER1, HER2, HER3, CD117, C-Met, HGFR, PDGFRA, AXL, TWEAKR, PTHR2, HAVCR2 (TIM3), gangliosídeo GD2, MUC1, mucina CanAg, mesotelina, endoglin, antígeno de Lewis-Y, CEA, CEACAM1, CEACAM5, CA-125, PSMA, BAFF, FGFR2, MARCAÇÃO-72, gelatinase B, glipicana 3, nectina-4, BCMA, CSF1R, SLAMF7, integrina $\alpha_v\beta_3$, TYRP1, GP NMB, CLDN18.2, FOLR1, CCR4, CXCR4, MICA, antígeno C242, DLL3, DLL4, EGFL7, vimentina, domínio extra de fibronectina B, TROP-2, LRRC15, FAP, SLTRK6, NOTCH2, NOTCH3, Tenascina-3, STEAP1, ou NRP1, ou qualquer combinação dos mesmos).

[00211] Em alguns casos, um polipeptídeo variante de IL-18 particular (por exemplo, um variante de DR-IL-18, um variante de D2D-IL-18) é co-administrado com e agente que alveja um ou mais抗ígenos selecionados a partir de: CD19, CD20, CD22, CD24, CD25, CD30, CD33, CD38, CD44, CD47, SIRPA, CD52, CD56, CD70, CD96, CD97, CD99, CD123, CD279 (PD-1), CD274 (PD-L1), EGFR, 17-1A, HER2, CD117, C-Met, PTHR2, e HAVCR2 (TIM3).

[00212] Em alguns casos, um polipeptídeo variante de IL-18 particular (por exemplo, um variante de DR-IL-18, um variante de D2D-IL-18) é usado em uma terapia de combinação (é co-administrado) com qualquer agente imunomodulatório conveniente (por exemplo, um anticorpo anti-CTLA4, um anticorpo anti-PD-1, um anticorpo anti-PD-L1, um anticorpo TIGIT, um anticorpo TIM3, um anticorpo LAG3, um anticorpo VISTA, um anticorpo B7H3, um anticorpo B7H4, um agonista de CD40, um modulador de 4-1BB (por exemplo, um agonista de 41BB), um modulador de OX-40 (por exemplo, um agonista de OX-40), um modulador de GITR (por exemplo, um agonista de GITR), um agente de ligação de CD47, tal como um anticorpo anti-CD47 ou um agente de ligação de CD47 de alta afinidade, um agente de ligação de SIRPA tal como um anticorpo anti-SIRPA ou agente de ligação SIRPA de

alta afinidade, e similares), um antagonista de TGFbeta tal como um anticorpo anti-TGFbeta, uma citocina ou um variante de citocina incluindo IL-1, IL-2, IL-10, IL-12, IL-15, IL-18, IL-21, IL-33, Interferon alfa, Interferon beta, Interferon gama, TNF, TRAIL, linfotoxina, LIGHT/TNSF14, ou um agonista de um receptor do tipo Toll incluindo TLR2, TLR4, TLR5, TLR7, TLR9, um agonista de um inflamassoma, um agonista da via STING/cGAS, ou um agonista da via RIG-I, um antagonista dos receptores adenosina A2aR/A2bR, um antagonista do receptor hidrocarboneto arila, um antagonista de IDO e/ou TDO, ou um vírus oncolítico.

[00213] Em alguns casos, um polipeptídeo variante de IL-18 particular (por exemplo, um variante de DR-IL-18, um variante de D2D-IL-18) é usado em uma terapia de combinação (é co-administrado) com um inibidor de BTLA e/ou CD160. Em alguns casos, um polipeptídeo variante de IL-18 particular (por exemplo, um variante de DR-IL-18, um variante de D2D-IL-18) é usado em uma terapia de combinação (é co-administrado) com um agente anti-CD47/SIRPA (por exemplo, anti-CD47, anti-SIRPA, um agente de ligação CD47 de alta afinidade, um agente de ligação SIRPA de alta afiniade, e similares). Em alguns casos, um polipeptídeo variante de IL-18 particular (por exemplo, um variante de DR-IL-18, um variante de D2D-IL-18) é usado em uma terapia de combinação (é co-administrado) com um inibidor de TIM3 e/ou CEACAM1.

[00214] Da maneira observada anteriormente, em alguns casos um polipeptídeo variante de IL-18 particular é fundido a uma outra proteína (isto é, um “parceiro de fusão”, um “segundo polipeptídeo”). Em algumas modalidades, o segundo polipeptídeo (o parceiro de fusão para um polipeptídeo variante de IL-18 particular) se liga especificamente a uma molécula alvo, sem ser a molécula alvo ligada pela porção de polipeptídeo variante de IL-18 da proteína de fusão (por exemplo, sem ser IL-18R para variantes que se ligam à IL-18R; ou sem ser IL-18BP para variantes que se

ligam à IL-18BP).

[00215] Assim, em algumas modalidades, um polipeptídeo variante de IL-18 particular é multiespecífico (por exemplo, biespecífico). Os termos “multiespecífico” ou “biespecífico” são comumente usados, se referindo ao mesmo tempo aos agentes (por exemplo, ligantes ou anticorpos) que reconhecem dois ou mais diferentes抗ígenos, em virtude de possuírem pelo menos uma região (por exemplo, um ligante ou um Fab de um primeiro anticorpo), que é específica para um primeiro alvo, e pelo menos uma segunda região (por exemplo, um ligante ou um Fab de um segundo anticorpo), que é específica para um segundo alvo. Um agente biespecífico se liga especificamente a dois alvos, e é assim um tipo de agente multiespecífico.

[00216] Em algumas modalidades, um polipeptídeo variante de IL-18 particular é multiespecífico (por exemplo, biespecífico), de maneira tal que uma primeira região do polipeptídeo inclua um polipeptídeo variante de Sequência particular de IL-18 (isto é, a primeira região inclui um polipeptídeo variante de IL-18), e uma segunda região que se liga especificamente a uma outra molécula alvo (por exemplo, um抗ígeno). Por exemplo, em alguns casos, um polipeptídeo variante de IL-18 é fundido a um segundo polipeptídeo que se liga especificamente a uma molécula alvo, sem ser a molécula alvo ligada pelo polipeptídeo variante de IL-18.

[00217] Qualquer um dos agentes discutidos anteriormente, no contexto de co-administração, pode ser conjugado a um polipeptídeo variante de IL-18 particular. O termo “co-administração”, da maneira aqui usada, significa que inclui tais compostos conjugados. Por exemplo, quando o agente 1 é co-administrado com o agente 2, o termo significa que inclui modalidades onde o agente 1 e o agente 2 não são conjugados um com o outro, e também significa que inclui modalidades onde o agente 1 e o agente 2 são conjugados um no outro (por exemplo, onde o agente 1 e o agente 2 são ambos proteínas e o agente 1 é fundido ao agente 2).

[00218] Em alguns casos, a segunda região de um polipeptídeo variante de IL-18 multiespecífico é um inibidor de ponto de controle. Em alguns casos, a segunda região de um polipeptídeo variante de IL-18 multiespecífico inibe uma ou mais proteínas selecionadas a partir de: PD-L1, PD1, CTLA4, TIM3, TIGIT, LAG3, B7H3, B7H4, VISTA, ICOS, GITR, 41BB, OX40, e CD40.

[00219] Em alguns casos, a segunda região de um polipeptídeo variante de IL-18 multiespecífico é um agente de opsonização de células de câncer. Em alguns casos, a segunda região de um polipeptídeo variante de IL-18 multiespecífico alveja uma ou mais proteínas selecionadas a partir de: CD19, CD20, CD22, CD24, CD25, CD30, CD33, CD38, CD44, CD47, SIRPA, CD52, CD56, CD70, CD96, CD97, CD99, CD123, CD279 (PD-1), CD274 (PD-L1), EGFR, 17-1A, HER2, CD117, C-Met, PTHR2, e HAVCR2 (TIM3). Em alguns casos, a segunda região de um polipeptídeo variante de IL-18 multiespecífico é um agente de opsonização que alveja uma ou mais proteínas selecionadas a partir de: CD19, CD20, CD22, CD24, CD25, CD30, CD33, CD38, CD44, CD47, SIRPA, CD52, CD56, CD70, CD96, CD97, CD99, CD123, CD279 (PD-1), CD274 (PD-L1), EGFR, 17-1A, HER2, CD117, C-Met, PTHR2, e HAVCR2 (TIM3).

[00220] Por exemplo, em alguns casos, a segunda região de um polipeptídeo variante de IL-18 multiespecífico inclui um ectodomínio, por exemplo, um ectodomínio de PD-1, PD-L1, CD47 (por exemplo, um variante/polipeptídeo CD47 de alta afinidade), ou SIRPA. (por exemplo, um variante / polipeptídeo SIRPA de alta afinidade). Em alguns casos, a segunda região de um polipeptídeo variante de IL-18 multiespecífico se liga especificamente a um antígeno selecionado de: CTLA-4, Lag-3, BTLA, Tim-3, CD244, CD40, CD40L, CD47, SIRPA, PD-1, e PD-L1.

[00221] Em algumas modalidades, um polipeptídeo variante de IL-18 particular inclui um ligador (por exemplo, um polipeptídeo ligador). Por

exemplo, em algumas modalidades, um polipeptídeo variante de IL-18 particular e um parceiro de fusão são separados por um ligador (por exemplo, um polipeptídeo ligador). Um polipeptídeo ligador pode apresentar qualquer de uma variedade de sequências de aminoácido. As proteínas podem ser unidas por um polipeptídeo ligador que podem ser de uma natureza flexível (por exemplo, um polipeptídeo ligador flexível), embora outras ligações químicas não sejam excluídas. Os ligadores adequados incluem polipeptídeos entre cerca de 6 aminoácidos e cerca de 40 aminoácidos em tamanho, ou entre cerca de 6 aminoácidos e cerca de 25 aminoácidos em tamanho. Estes ligadores podem ser produzidos usando oligonucleotídeos sintéticos que codificam o ligador para acoplar as proteínas. Os ligadores de peptídeo com um grau de flexibilidade podem ser usados. Os peptídeos de ligação podem apresentar virtualmente qualquer sequência de aminoácido, tendo em vista que em alguns casos os ligadores apresentarão uma sequência que resulta em um peptídeo geralmente flexível. O uso de aminoácidos pequenos, tais como glicina e alanina, são usados na criação de um peptídeo flexível. A criação de tais sequências é rotineira para os versados na técnica. Uma variedade de diferentes ligadores são comercialmente disponíveis e são considerados adequados para uso.

[00222] Em algumas modalidades o polipeptídeo variante de IL-18 é co-administrado com uma célula imune geneticamente modificada, tal como uma célula CAR-T ou CAR-NK ou célula T ou NK transduzida com um receptor de célula T geneticamente modificado. Em outras modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 é co-administrado com um vírus oncolítico.

[00223] Em algumas modalidades, um ácido nucleico que codifica um polipeptídeo variante de IL-18 é incluído em uma célula imune geneticamente modificada (“alterada”), tal como uma célula CAR-T ou CAR-NK ou célula T ou NK transduzida com um receptor de célula T geneticamente modificado. Neste exemplo, a célula geneticamente modificada (por exemplo, célula T

alterada, célula NK alterada) poderia secretar o polipeptídeo variante de IL-18. A capacidade de secretar o peptídeo variante de IL-18 pode ser regulada de uma maneira contextual (por exemplo, ativado dentro do microambiente tumoral), por exemplo, por um receptor sintético NOTCH.

[00224] Em algumas modalidades, um ácido nucleico que codifica um polipeptídeo variante de IL-18 é incluído em um vírus oncolítico. Neste exemplo, as células infectadas pelo vírus oncolítico podem secretar o polipeptídeo variante de IL-18.

[00225] Em algumas modalidades, o método da presente invenção é usado para tratar ou prevenir um tumor ou tumores cancerosos que não apresentam a expressão de MHC de classe I de superfície; tal como um tumor que não apresenta B2m, o locus MHC, ou apresenta mutações em outros elementos do complexo de apresentação de antígeno e/ou carga de antígeno, tal como tapasina.

[00226] Doenças e distúrbios metabólicos incluem várias doenças e distúrbios metabólicos e relacionados ao sistema endócrino. Os exemplos a seguir não limitantes de doenças e distúrbios metabólicos e relacionados ao sistema endócrino que podem ser tratados ou prevenidos pelos métodos e composições da invenção: obesidade, diabetes, pré-diabetes, diabetes tipo II, diabetes juvenil de início tardio (MODY), hiperglicemia, síndrome metabólica, dislipidemia, hipertrigliceridemia e hipercolesterolemia.

[00227] Exemplos não limitantes de outras doenças e distúrbios que podem ser tratados ou prevenidos usando as composições e métodos da invenção incluem infecções virais, infecções bacterianas, infecções parasíticas e baixa atividade imune. Em algumas modalidades, a infecção viral é pelo menos uma de um pox vírus, um vírus *smallpox*, molusco contagioso, infecção por HPV, e verrugas causadas por um vírus. Em algumas modalidades, a infecção é uma infecção sistêmica. Em algumas modalidades, a infecção viral é uma infecção pelo vírus vaccinia. Em algumas modalidades,

a infecção viral é uma infecção sistêmica por vírus vaccínia. Em algumas modalidades, a infecção bacteriana é sepse. Em algumas modalidades, a baixa atividade imune é neutropenia, por exemplo, como pode ocorrer com quimioterapia.

[00228] Exemplos não limitantes de outras doenças e distúrbios que podem ser tratados ou prevenidos usando as composições e métodos da invenção incluem degeneração macular. Por exemplo, em alguns casos a doença ou distúrbio é degeneração macular úmida, e em alguns casos a doença ou distúrbio é degeneração macular úmida relacionada à idade. Em alguns casos como este, o variante de IL-18 pode ser usado como um anti-angiogênico. Por exemplo, um polipeptídeo variante de IL-18 particular, em alguns casos, pode atenuar a neovascularização coroidal.

[00229] Assim, a presente invenção se refere à prevenção e tratamento de uma doença ou distúrbio por administração de uma quantidade terapeuticamente eficiente de um polipeptídeo variante de IL-18, um polipeptídeo variante de IL-18 recombinante, um fragmento de polipeptídeo variante de IL-18 ativo (por exemplo, peptídeo variante de IL-18 etc.), uma expressão ou atividade ativadora de variante de IL-18, ou um ácido nucleico (por exemplo, DNA, DNAc, RNAm etc.) que codifica pelo menos um polipeptídeo variante de IL-18, a uma célula, tecido, órgão ou indivíduo em necessidade do mesmo, para o tratamento ou prevenção de uma doença ou distúrbio, ou seus sinais, sintomas ou patologias associados.

[00230] Em algumas modalidades, uma composição da invenção é administrada a uma célula, tecido, órgão, sistema, ou indivíduo para tratar ou prevenir uma doença ou distúrbio. Em algumas modalidades, um polipeptídeo variante de IL-18 de humano é administrado a uma célula, tecido, órgão, sistema ou indivíduo. Em algumas modalidades, um ácido nucleico (por exemplo, DNA, DNAc, RNAm etc.) que codifica pelo menos um polipeptídeo variante de IL-18 de humano é administrado a uma célula, tecido, órgão,

sistema ou indivíduo.

[00231] Em várias modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 de humano, ou fragmento do mesmo, compreende pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, pelo menos 4, pelo menos 5, ou pelo menos 6 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em Y1X, L5X, K8X, M51X, K53X, S55X, Q56X, P57X, G59X, M60X, E77X, Q103X, S105X, D110X, N111X, M113X, V153X, e N155X, em que X indica qualquer aminoácido. Em várias modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 de humano, ou fragmento do mesmo, compreende pelo menos 4 mutações selecionadas a partir do grupo que consiste em Y1X, L5X, K8X, M51X, K53X, S55X, Q56X, P57X, G59X, M60X, E77X, Q103X, S105X, D110X, N111X, M113X, V153X, e N155X, em que X indica qualquer aminoácido. Em várias modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 de humano, ou fragmento do mesmo, compreende pelo menos 6 mutações selecionadas a partir do grupo que consiste em Y1X, L5X, K8X, M51X, K53X, S55X, Q56X, P57X, G59X, M60X, E77X, Q103X, S105X, D110X, N111X, M113X, V153X, e N155X. Em várias modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 de humano, ou fragmento do mesmo, compreende pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, pelo menos 4, pelo menos 5, ou pelo menos 6 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em Y1X, L5X, K8X, S55X, Q56X, P57X, G59X, E77X, Q103X, S105X, D110X, N111X, M113X, V153X, e N155X.

[00232] Em algumas modalidades, um polipeptídeo variante de IL-18 de humano, ou fragmento do mesmo, compreende pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, pelo menos 4, pelo menos 5, ou pelo menos 6 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em Y1H, Y1R, L5H, L5I, L5Y, K8Q, K8R, M51T, M51K, M51D, M51N, M51E, M51R, K53R, K53G, K53S, K53T, S55K, S55R, Q56E, Q56A, Q56R, Q56V, Q56G, Q56K, Q56L, P57L, P57G, P57A, P57K, G59T, G59A, M60K,

M60Q, M60R, M60L, E77D, Q103E, Q103K, Q103P, Q103A, Q103R, S105R, S105D, S105K, S105N, S105A, D110H, D110K, D110N, D110Q, D110E, D110S, D110G, N111H, N111Y, N111D, N111R, N111S, N111G, M113V, M113R, M113T, M113K, V153I, V153T, V153A, N155K, e N155H. Em algumas modalidades, um polipeptídeo variante de IL-18 de humano compreende pelo menos um polipeptídeo variante de IL-18, ou fragmento do mesmo, selecionado a partir do grupo que consiste em hCS1 (SEQ ID NO: 34), hCS2 (SEQ ID NO: 35), hCS3 (SEQ ID NO: 36), hCS4 (SEQ ID NO: 37), hC4 (SEQ ID NO: 38), hA8 (SEQ ID NO: 39), hD6 (SEQ ID NO: 40), hH12 (SEQ ID NO: 41), hB11 (SEQ ID NO: 42), hC3 (SEQ ID NO: 43), hC2 (SEQ ID NO: 44), hG10 (SEQ ID NO: 45), hG1 (SEQ ID NO: 46), hF1 (SEQ ID NO: 47), hD2 (SEQ ID NO: 48), hA1 (SEQ ID NO: 49), hB3 (SEQ ID NO: 50), hB4 (SEQ ID NO: 51), hH3 (SEQ ID NO: 52), hH5 (SEQ ID NO: 53), hH4 (SEQ ID NO: 54), hE1 (SEQ ID NO: 55), hG2 (SEQ ID NO: 56), hB9 (SEQ ID NO: 57), hE12 (SEQ ID NO: 58), hC5 (SEQ ID NO: 59), 5-18 (SEQ ID NO: 73), 5-29 (SEQ ID NO: 74), 5-8 (SEQ ID NO: 75), 5-6 (SEQ ID NO: 76), 5-27 (SEQ ID NO: 77), 5-20 (SEQ ID NO: 78), 5-2 (SEQ ID NO: 79), 5-9 (SEQ ID NO: 80), 5-42 (SEQ ID NO: 81), 5-13 (SEQ ID NO: 82), 5-12 (SEQ ID NO: 83), 5-1 (SEQ ID NO: 84), 5-33 (SEQ ID NO: 85), 5-21 (SEQ ID NO: 86), 6-31 (SEQ ID NO: 87), 6-20 (SEQ ID NO: 88), 6-12 (SEQ ID NO: 89), 6-27 (SEQ ID NO: 90), 6-29 (SEQ ID NO: 91), 5-26 (SEQ ID NO: 191), 5-17 (SEQ ID NO: 192), 5-41 (SEQ ID NO: 193), ou um fragmento dos mesmos.

[00233] Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, inclui pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, ou pelo menos 4 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em M51X, M60X, S105X, D110X, e N111X com relação à SEQ ID NO: 30. Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, inclui pelo menos 3 mutações selecionadas a partir do

grupo que consiste em M51X, M60X, S105X, D110X, e N111X com relação à SEQ ID NO: 30. Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, inclui pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, ou pelo menos 4 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em M51X₁, M60X₂, S105X₃, D110X₄, e N111X₅ com relação à SEQ ID NO: 30, onde X₁ é T, K, D, E, R, ou N; X₂ é K, Q, L, ou R; X₃ é R, D, K, A, ou N; X₄ é H, K, N, Q, E, N, S, ou G; e X₅ é H, D, Y, R, S, ou G. Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, inclui pelo menos 3 mutações selecionadas a partir do grupo que consiste em M51X₁, M60X₂, S105X₃, D110X₄, e N111X₅ com relação à SEQ ID NO: 30, onde X₁ é T, K, D, E, R, ou N; X₂ é K, Q, L, ou R; X₃ é R, D, K, A, ou N; X₄ é H, K, N, Q, E, N, S, ou G; e X₅ é H, D, Y, R, S, ou G. Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, inclui pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, ou pelo menos 4 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em M51X₁, M60X₂, S105X₃, D110X₄, e N111X₅ com relação à SEQ ID NO: 30, onde X₁ é T ou K; X₂ é K ou L; X₃ é D, N, ou A; X₄ é K, N, S, ou G; e X₅ é H, Y, G, ou R.

[00234] Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, inclui as mutações M51X, M60X, S105X, D110X, e N111X com relação à SEQ ID NO: 30. Por exemplo, em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, inclui as mutações M51X₁, M60X₂, S105X₃, D110X₄, e N111X₅ com relação à SEQ ID NO: 30, onde X₁ é T, K, D, E, R, ou N; X₂ é K, Q, L, ou R; X₃ é R, D, K, A, ou N; X₄ é H, K, N, Q, E, N, S, ou G; e X₅ é H, D, Y, R, S, ou G. Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, inclui as mutações M51X₁, M60X₂, S105X₃, D110X₄, e N111X₅ com relação à SEQ ID NO: 30, onde X₁ é T ou K; X₂ é K ou L; X₃ é D, N, ou A; X₄ é K, N, S, ou G; e X₅ é H, Y, G, ou R. Em outras palavras, em alguns casos, um variante de DR-IL-18

particular, ou fragmento do mesmo, inclui as mutações {M51T ou M51K}; {M60K ou M60L}; {S105D, S105N, S105A}; {D110K, D110N, D110S, ou D110G}; e {N111H, N111Y, N111R, ou N111G} com relação à SEQ ID NO: 30.

[00235] Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, inclui pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, ou pelo menos 4 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em M51X, K53X, Q56X, S105X, e N111X com relação à SEQ ID NO: 30. Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, inclui pelo menos 3 mutações selecionadas a partir do grupo que consiste em M51X, K53X, Q56X, S105X, e N111X com relação à SEQ ID NO: 30. Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, inclui pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, ou pelo menos 4 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em M51X₁, K53X₂, Q56X₃, S105X₄, e N111X₅ com relação à SEQ ID NO: 30, onde X₁ é E, R, ou K; X₂ é G, S, ou T; X₃ é E, A, R, V, G, K, ou L; X₄ é N, S, K, ou G; e X₅ é R, S, G, ou D. Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, inclui pelo menos 3 mutações selecionadas a partir do grupo que consiste em M51X₁, K53X₂, Q56X₃, S105X₄, e N111X₅ com relação à SEQ ID NO: 30, onde X₁ é E, R, ou K; X₂ é G, S, ou T; X₃ é E, A, R, V, G, K, ou L; X₄ é N, S, K, ou G; e X₅ é R, S, G, ou D. Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, inclui pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, ou pelo menos 4 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em M51X₁, K53X₂, Q56X₃, S105X₄, e N111X₅ com relação à SEQ ID NO: 30, onde X₁ é K; X₂ é G ou S; X₃ é G, R, ou L; X₄ é S, N, ou G; e X₅ é G ou R.

[00236] Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, inclui as mutações M51X, K53X, Q56X, S105X, e

N111X com relação à SEQ ID NO: 30. Por exemplo, em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, inclui as mutações M51X₁, K53X₂, Q56X₃, S105X₄, e N111X₅ com relação à SEQ ID NO: 30, onde X₁ é E, R, ou K; X₂ é G, S, ou T; X₃ é E, A, R, V, G, K, ou L; X₄ é N, S, K, ou G; e X₅ é R, S, G, ou D. Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, inclui as mutações M51X₁, K53X₂, Q56X₃, S105X₄, e N111X₅ com relação à SEQ ID NO: 30, onde X₁ é K; X₂ é G ou S; X₃ é G, R, ou L; X₄ é S, N, ou G; e X₅ é G ou R. Em outras palavras, em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, inclui as mutações {M51K}; {K53G ou K53S}; {Q56G, Q56R, ou Q56L}; {D110S, D110N, ou D110G}; e {N111R, ou N111G} com relação à SEQ ID NO: 30.

[00237] Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido com 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30. Assim como em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, pelo menos 4, pelo menos 5, ou pelo menos 6 mutações) com relação à IL-18 tipo selvagem (por exemplo, IL-18 de humano).

[00238] Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou

fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, pelo menos 4, pelo menos 5, ou pelo menos 6 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em Y1X, L5X, K8X, M51X, K53X, S55X, Q56X, P57X, G59X, M60X, E77X, Q103X, S105X, D110X, N111X, M113X, V153X, e N155X com relação à SEQ ID NO: 30. Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui pelo menos 4 mutações selecionadas a partir do grupo que consiste em Y1X, L5X, K8X, M51X, K53X, S55X, Q56X, P57X, G59X, M60X, E77X, Q103X, S105X, D110X, N111X, M113X, V153X, e N155X com relação à SEQ ID NO: 30. Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui pelo menos 6 mutações selecionadas a partir do grupo que consiste em Y1X, L5X, K8X, M51X, K53X, S55X, Q56X, P57X, G59X, M60X, E77X, Q103X, S105X, D110X, N111X, M113X, V153X, e N155X com relação à SEQ ID

NO: 30. Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, pelo menos 4, pelo menos 5, ou pelo menos 6 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em Y1X, L5X, K8X, S55X, Q56X, P57X, G59X, E77X, Q103X, S105X, D110X, N111X, M113X, V153X, e N155X com relação à SEQ ID NO: 30.

[00239] Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, ou pelo menos 4 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em M51X, M60X, S105X, D110X, e N111X com relação à SEQ ID NO: 30. Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui pelo menos 3 mutações (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, ou pelo menos 4 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em M51X, M60X,

S105X, D110X, e N111X com relação à SEQ ID NO: 30. Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, ou pelo menos 4 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em M51X₁, M60X₂, S105X₃, D110X₄, e N111X₅ com relação à SEQ ID NO: 30, onde X₁ é T, K, D, E, R, ou N; X₂ é K, Q, L, ou R; X₃ é R, D, K, A, ou N; X₄ é H, K, N, Q, E, N, S, ou G; e X₅ é H, D, Y, R, S, ou G. Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui pelo menos 3 mutações selecionadas a partir do grupo que consiste em M51X₁, M60X₂, S105X₃, D110X₄, e N111X₅ com relação à SEQ ID NO: 30, onde X₁ é T, K, D, E, R, ou N; X₂ é K, Q, L, ou R; X₃ é R, D, K, A, ou N; X₄ é H, K, N, Q, E, N, S, ou G; e X₅ é H, D, Y, R, S, ou G. Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, ou pelo

menos 4 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em M51X₁, M60X₂, S105X₃, D110X₄, e N111X₅ com relação à SEQ ID NO: 30, onde X₁ é T ou K; X₂ é K ou L; X₃ é D, N, ou A; X₄ é K, N, S, ou G; e X₅ é H, Y, G, ou R.

[00240] Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui as mutações M51X, M60X, S105X, D110X, e N111X com relação à SEQ ID NO: 30. Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui as mutações M51X₁, M60X₂, S105X₃, D110X₄, e N111X₅ com relação à SEQ ID NO: 30, onde X₁ é T, K, D, E, R, ou N; X₂ é K, Q, L, ou R; X₃ é R, D, K, A, ou N; X₄ é H, K, N, Q, E, N, S, ou G; e X₅ é H, D, Y, R, S, ou G. Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui as mutações M51X₁, M60X₂, S105X₃, D110X₄, e N111X₅ com relação à SEQ ID NO: 30, onde X₁ é T ou K; X₂ é K ou L; X₃ é D, N, ou A; X₄ é K, N,

S, ou G; e X₅ é H, Y, G, ou R.

[00241] Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, ou pelo menos 4 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em M51X, K53X, Q56X, S105X, e N111X com relação à SEQ ID NO: 30. Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui pelo menos 3 mutações selecionadas a partir do grupo que consiste em M51X, K53X, Q56X, S105X, e N111X com relação à SEQ ID NO: 30. Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, ou pelo menos 4 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em M51X₁, K53X₂, Q56X₃, S105X₄, e N111X₅ com relação à SEQ ID NO: 30, onde X₁ é E, R, ou K; X₂ é G, S, ou T; X₃ é E, A, R, V, G, K, ou L; X₄ é N, S,

K, ou G; e X₅ é R, S, G, ou D. Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui pelo menos 3 mutações selecionadas a partir do grupo que consiste em M51X₁, K53X₂, Q56X₃, S105X₄, e N111X₅ com relação à SEQ ID NO: 30, onde X₁ é E, R, ou K; X₂ é G, S, ou T; X₃ é E, A, R, V, G, K, ou L; X₄ é N, S, K, ou G; e X₅ é R, S, G, ou D. Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, ou pelo menos 4 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em M51X₁, K53X₂, Q56X₃, S105X₄, e N111X₅ com relação à SEQ ID NO: 30, onde X₁ é K; X₂ é G ou S; X₃ é G, R, ou L; X₄ é S, N, ou G; e X₅ é G ou R.

[00242] Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui as mutações M51X, K53X, Q56X, S105X, e N111X com relação à SEQ ID NO: 30. Em alguns casos, um variante de

DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui as mutações M51X₁, K53X₂, Q56X₃, S105X₄, e N111X₅ com relação à SEQ ID NO: 30, onde X₁ é E, R, ou K; X₂ é G, S, ou T; X₃ é E, A, R, V, G, K, ou L; X₄ é N, S, K, ou G; e X₅ é R, S, G, ou D. Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui as mutações M51X₁, K53X₂, Q56X₃, S105X₄, e N111X₅ com relação à SEQ ID NO: 30, onde X₁ é K; X₂ é G ou S; X₃ é G, R, ou L; X₄ é S, N, ou G; e X₅ é G ou R.

[00243] Em várias modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga e inibe IL-18BP compreende um polipeptídeo variante de IL-18 de humano, ou fragmento do mesmo, compreendendo pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, pelo menos 4, pelo menos 5, ou pelo menos 6 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em Y1X, L5X, D17X, E31X, T34X, D35X, S36X, D37X, D40X, N41X, M51X, Q56X, M60X, Q103X, H109X, M113X, e R131X, em que X indica qualquer aminoácido. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga e inibe IL-18BP compreende um polipeptídeo variante de IL-18 de humano, ou fragmento do mesmo, compreendendo pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, pelo menos 4, pelo menos 5, ou

pelo menos 6 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em Y1D, Y1F, Y1H, Y1L, L5F, L5H, D17A, D17G, D17R, D17H, E31A, E31T, E31G, E31K, E31R, T34A, T34K T34E, D35S, D35A, D35Y, S36N, S36K, S36R, D37P, D37A, D37R, D37H, D37L, D37V, D40Y D40S, D40A, N41K, N41S, N41R, M51F, M51L, M51I, Q56H, M60L, M60F, M60I, Q103L, Q103I, H109A, H109P, H109D, M113L, M113I, M113F, e R131S. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga e inibe IL-18BP compreende um polipeptídeo variante de IL-18 de humano, ou fragmento do mesmo, selecionado a partir do grupo que consiste em hD2D-5F12 (SEQ ID NO: 92), hD2D-5F11 (SEQ ID NO: 93), hD2D-5F10 (SEQ ID NO: 94), hD2D-5F08 (SEQ ID NO: 95), hD2D-5F06 (SEQ ID NO: 96), hD2D-5F04 (SEQ ID NO: 97), hD2D-5F02 (SEQ ID NO: 98), hD2D-5F01 (SEQ ID NO: 99), hD2D-5E10 (SEQ ID NO: 100), hD2D-5E08 (SEQ ID NO: 101), hD2D-5E03 (SEQ ID NO: 102), hD2D-5E02 (SEQ ID NO: 103), hD2D-5D10 (SEQ ID NO: 104), hD2D-5D08 (SEQ ID NO: 105), hD2D-5D06 (SEQ ID NO: 106), hD2D-5D05 (SEQ ID NO: 107), hD2D-5D03 (SEQ ID NO: 108), hD2D-5D02 (SEQ ID NO: 109), hD2D-5C10 (SEQ ID NO: 110), hD2D-5C09 (SEQ ID NO: 111), hD2D-5C08 (SEQ ID NO: 112), hD2D-5C05 (SEQ ID NO: 113), hD2D-5C04 (SEQ ID NO: 114), hD2D-5C03 (SEQ ID NO: 115), hD2D-5B11 (SEQ ID NO: 116), hD2D-5B10 (SEQ ID NO: 117), hD2D-5B06 (SEQ ID NO: 118), hD2D-5B05 (SEQ ID NO: 119), hD2D-5B02 (SEQ ID NO: 120), hD2D-5A09 (SEQ ID NO: 121), hD2D-5A02 (SEQ ID NO: 122), hD2D-CS1 (SEQ ID NO: 123), hD2D-CS2 (SEQ ID NO: 124), hD2D-CS3 (SEQ ID NO: 125), ou um fragmento dos mesmos.

[00244] Em alguns casos, um variante de D2D-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, inclui pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, ou pelo menos 4 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em D17X, E30X, e Q103X com relação à SEQ ID NO: 30.

Em alguns casos, um variante de D2D-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, inclui pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, ou pelo menos 4 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em D17X₁, E30X₂, e Q103X₃ com relação à SEQ ID NO: 30, onde X₁ é G, H, R, ou A; X₂ é A, T, G, K, ou R; e X₃ é I ou L. Em alguns casos, um variante de D2D-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, inclui pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, ou pelo menos 4 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em D17G, E30A, e (Q103L ou Q103I).

[00245] Em alguns casos, um variante de D2D-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, inclui as mutações D17X, E30X, e Q103X com relação à SEQ ID NO: 30. Por exemplo, em alguns casos, um variante de D2D-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, inclui as mutações D17X₁, E30X₂, e Q103X₃ com relação à SEQ ID NO: 30, onde X₁ é G, H, R, ou A; X₂ é A, T, G, K, ou R; e X₃ é I ou L. Em alguns casos, um variante de D2D-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, inclui as mutações D17G, E30A, e (Q103L ou Q103I).

[00246] Em alguns casos, um variante de D2D-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, inclui pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, ou pelo menos 4 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em D17X, E30X, D35X, M51X, e Q103X com relação à SEQ ID NO: 30. Em alguns casos, um variante de D2D-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, inclui pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, ou pelo menos 4 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em D17X₁, E30X₂, D35X₃, M51X₄, e Q103X₅ com relação à SEQ ID NO: 30, onde X₁ é G, H, R, ou A; X₂ é U, T, G, K, ou R; X₃ é S, A, ou Y; X₄ é F, I, ou L; e X₅ é I ou L. Em alguns casos, um variante de D2D-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, inclui pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, ou pelo menos 4

mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em D17G, E30A, D35S, M51F, e (Q103L ou Q103I) com relação à SEQ ID NO: 30.

[00247] Em alguns casos, um variante de D2D-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, inclui as mutações D17X, E30X, D35X, M51X, e Q103X com relação à SEQ ID NO: 30. Por exemplo, em alguns casos, um variante de D2D-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, inclui as mutações D17X₁, E30X₂, D35X₃, M51X₄, e Q103X₅ com relação à SEQ ID NO: 30, onde X₁ é G, H, R, ou A; X₂ é A, T, G, K, ou R; X₃ é S, A, ou Y; X₄ é F, I, ou L; e X₅ é I ou L. Em alguns casos, um variante de D2D-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, inclui as mutações D17G, E30A, D35S, M51F, e (Q103L ou Q103I) com relação à SEQ ID NO: 30.

[00248] Em alguns casos, um variante de D2D-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido com 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30. Assim como em alguns casos, um variante de D2D-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, pelo menos 4, pelo menos 5, ou pelo menos 6 mutações) com relação à IL-18 tipo selvagem (por exemplo, IL-18 de humano).

[00249] Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i)

apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, pelo menos 4, pelo menos 5, ou pelo menos 6 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em Y1X, L5X, D17X, E31X, T34X, D35X, S36X, D37X, D40X, N41X, M51X, Q56X, M60X, Q103X, H109X, M113X, e R131X.

[00250] Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, pelo menos 4, pelo menos 5, ou pelo menos 6 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em D17X, E30X, e Q103X com relação à SEQ ID NO: 30. Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, pelo menos 4, pelo menos 5, ou pelo menos 6 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em D17X₁, E30X₂, e Q103X₃ com relação à SEQ ID NO: 30, onde X₁ é G, H, R, ou A; X₂ é A, T. Em alguns casos, um variante de DR-IL-18

particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, pelo menos 4, pelo menos 5, ou pelo menos 6 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em D17G, E30A, e (Q103L ou Q103I).

[00251] Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui as mutações D17X, E30X, e Q103X com relação à SEQ ID NO: 30. Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui as mutações D17X₁, E30X₂, e Q103X₃ com relação à SEQ ID NO: 30, onde X₁ é G, H, R, ou A; X₂ é A, T. Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de

identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui as mutações D17G, E30A, e (Q103L ou Q103I).

[00252] Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, pelo menos 4, pelo menos 5, ou pelo menos 6 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em D17X, E30X, D35X, M51X, e Q103X com relação à SEQ ID NO: 30. Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, pelo menos 4, pelo menos 5, ou pelo menos 6 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em D17X₁, E30X₂, D35X₃, M51X₄, e Q103X₅ com relação à SEQ ID NO: 30, onde X₁ é G, H, R, ou A; X₂ é A, T, G, K, ou R; X₃ é S, UM, ou Y; X₄ é F, I, ou L; e X₅ é I ou L. Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo

selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, pelo menos 4, pelo menos 5, ou pelo menos 6 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em D17G, E30A, D35S, M51F, e (Q103L ou Q103I) com relação à SEQ ID NO: 30.

[00253] Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui as mutações D17X, E30X, D35X, M51X, e Q103X com relação à SEQ ID NO: 30. Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui as mutações D17X₁, E30X₂, D35X₃, M51X₄, e Q103X₅ com relação à SEQ ID NO: 30, onde X₁ é G, H, R, ou A; X₂ é A, T, G, K, ou R; X₃ é S, A, ou Y; X₄ é F, I, ou L; e X₅ é I ou L. Em alguns casos, um variante de DR-IL-18 particular, ou fragmento do mesmo, compreende uma sequência de aminoácido que (i) apresenta 85% ou mais de identidade de sequência (por exemplo, 90% ou mais, 92% ou mais, 93% ou mais, 94% ou mais, 95% ou mais, 96% ou mais , 97% ou mais, 98% ou mais, ou 99% ou mais de identidade de sequência) com a sequência de aminoácido de IL-18 tipo selvagem de humano apresentada como SEQ ID NO: 30; e (ii) inclui as mutações D17G, E30A, D35S, M51F, e (Q103L ou Q103I) com relação à

SEQ ID NO: 30.

[00254] Em algumas modalidades, uma composição da invenção é administrada a uma célula, tecido, órgão, sistema ou indivíduo murino para tratar ou prevenir uma doença ou distúrbio. Em algumas modalidades, um polipeptídeo variante de IL-18 de murino, ou um fragmento do mesmo, é administrado a uma célula, tecido, órgão, sistema ou indivíduo (por exemplo, uma célula, tecido, órgão, sistema ou indivíduo humano). Em algumas modalidades, um ácido nucleico (por exemplo, DNA, DNaC, RNAm etc.) que codifica pelo menos um polipeptídeo variante de IL-18 de murino é administrado a uma célula, tecido, órgão, sistema ou indivíduo.

[00255] Em algumas modalidades, um polipeptídeo variante de IL-18 de murino, ou um fragmento do mesmo, compreende pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, pelo menos 4, pelo menos 5, ou pelo menos 6 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em N1X, M50X, Y51X, K52X, S54X, E55X, V56X, R57X, G58X, L59X, R104X, N109X, e L151X, em que X indica qualquer aminoácido. Em algumas modalidades, um polipeptídeo variante de IL-18 de murino, ou fragmento do mesmo, compreende pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, pelo menos 4, pelo menos 5, ou pelo menos 6 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em N1H, N1Y, M50A, M50S, M50V, M50G, M50T, Y51R, K52V, K52S, K52T, K52G, K52A, S54R, S54K, S54G, S54N, E55R, E55H, E55N, E55D, E55G, V56L, V56M, V56R, V56A, V56S, V56Q, R57G, R57K, G58A, L59K, L59R, L59V, R104K, R104L, R104Q, R104S, N109D, e L151V. Em algumas modalidades, um polipeptídeo variante de IL-18 de murino compreende pelo menos um variante selecionado a partir do grupo que consiste em mCS1 (SEQ ID NO: 60), mCS2 (SEQ ID NO: 61), mC1 (SEQ ID NO: 62), mA12 (SEQ ID NO: 63), mE8 (SEQ ID NO: 64), mC10 (SEQ ID NO: 65), mB7 (SEQ ID NO: 66), mB1 (SEQ ID NO: 67), mD1 (SEQ ID NO: 68), mH7 (SEQ ID NO: 69),

mA7 (SEQ ID NO: 70), mE1 (SEQ ID NO: 71), e mH3 (SEQ ID NO: 72), ou um fragmento das mesmas.

[00256] Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga e inibe IL-18BP compreende um polipeptídeo variante de IL-18 de murino compreendendo pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, pelo menos 4, pelo menos 5, ou pelo menos 6 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em N1X, L5X, D17X, E30X, T33X, D34X, I35X, D36X, M50X, Q102X, R104, H108X, N109X, M111X, D129X, e D130X, em que X indica qualquer aminoácido. Em algumas modalidades, o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga e inibe IL-18BP compreende um polipeptídeo variante de IL-18 de murino, ou fragmento do mesmo, compreendendo pelo menos uma mutação (por exemplo, pelo menos 2, pelo menos 3, pelo menos 4, pelo menos 5, ou pelo menos 6 mutações) selecionada a partir do grupo que consiste em N1Y, N1D, N1H, N1L, N1F, N1V, N1I, L5Y, L5H, D17Q, D17G, D17A, D17E, D17S, D17N, E30A, E30R, E30K, E30T, E30G, T33G, T33A, T33E, T33R, T33K, D34Y, D34S, D34A, I35T, I35K, I35R, D36V, D36A, D36G, D36H, D36P, D36R, D36L, M50F, M50L, Q102L, Q102I, R104E, R104A, R104P, R104G, R104Q, R104H, H108D, H108A, N109R, N109S, N109T, N109I, M111L, M111I, D129A, D129F, D129V, D129Y, D129S, D130E, D130T, D130G, D130N, D130R, D130S, D130Q, e D130H. o polipeptídeo variante de IL-18 que se liga e inibe IL-18BP compreende um polipeptídeo variante de IL-18 de murino, ou fragmento do mesmo, selecionado a partir do grupo que consiste em mD2D-A5 (SEQ ID NO: 126), mD2D-A6 (SEQ ID NO: 127), mD2D-A7 (SEQ ID NO: 128), mD2D-A8 (SEQ ID NO: 129), mD2D-A9 (SEQ ID NO: 130), mD2D-A11 (SEQ ID NO: 131), mD2D-A12 (SEQ ID NO: 132), mD2D-B4 (SEQ ID NO: 133), mD2D-B7 (SEQ ID NO: 134), mD2D-B11 (SEQ ID NO: 135), mD2D-B12 (SEQ ID NO: 136), mD2D-C1 (SEQ ID NO: 137), mD2D-C3 (SEQ ID NO: 138), mD2D-C5 (SEQ ID NO: 139), mD2D-

C6 (SEQ ID NO: 140), mD2D-C9 (SEQ ID NO: 141), mD2D-C10 (SEQ ID NO: 142), mD2D-C11 (SEQ ID NO: 143), mD2D-D1 (SEQ ID NO: 144), mD2D-D9 (SEQ ID NO: 145), mD2D-D12 (SEQ ID NO: 146), mD2D-E3 (SEQ ID NO: 147), mD2D-E4 (SEQ ID NO: 148), mD2D-E5 (SEQ ID NO: 149), mD2D-E7 (SEQ ID NO: 150), mD2D-E8 (SEQ ID NO: 151), mD2D-E9 (SEQ ID NO: 152), mD2D-E10 (SEQ ID NO: 153), mD2D-E11 (SEQ ID NO: 154), mD2D-E12 (SEQ ID NO: 155), mD2D-F3 (SEQ ID NO: 156), mD2D-F4 (SEQ ID NO: 157), mD2D-F5 (SEQ ID NO: 158), mD2D-F7 (SEQ ID NO: 159), mD2D-F8 (SEQ ID NO: 160), mD2D-F9 (SEQ ID NO: 161), mD2D-G1 (SEQ ID NO: 162), mD2D-G7 (SEQ ID NO: 163), mD2D-G9 (SEQ ID NO: 164), mD2D-H7 (SEQ ID NO: 165), mD2D-E1 (SEQ ID NO: 166), mD2D-G8 (SEQ ID NO: 167), mD2D-H3 (SEQ ID NO: 168), mD2D-A10 (SEQ ID NO: 169), mD2D-H1 (SEQ ID NO: 170), mD2D-F12 (SEQ ID NO: 171), mD2D-G10 (SEQ ID NO: 172), mD2D-G12 (SEQ ID NO: 173), mD2D-E2 (SEQ ID NO: 174), mD2D-G11 (SEQ ID NO: 175), mD2D-C4 (SEQ ID NO: 176), mD2D-F11 (SEQ ID NO: 177), mD2D-C2 (SEQ ID NO: 178), mD2D-F10 (SEQ ID NO: 179), mD2D-A2 (SEQ ID NO: 180), mD2D-F6 (SEQ ID NO: 181), mD2D-A1 (SEQ ID NO: 182), mD2D-E6 (SEQ ID NO: 183), mD2D-D4 (SEQ ID NO: 184), mD2D-D6 (SEQ ID NO: 185), mD2D-A3 (SEQ ID NO: 186), mD2D-A4 (SEQ ID NO: 187), mD2D-B10 (SEQ ID NO: 188) , mD2D-B8 (SEQ ID NO: 189), mD2D-B9 (SEQ ID NO: 190), ou um fragmento dos mesmos.

[00257] Em algumas modalidades, o método compreende administrar a um indivíduo, célula ou tecido uma molécula isolada de ácido nucleico que codifica um ou mais dos peptídeos variantes de IL-18 aqui descritos.

[00258] Será entendido pelos versados na técnica que um aumento no nível de sinalização de IL-18 até IL-18R inclui um aumento na quantidade de IL-18 ou polipeptídeo variante de IL-18 disponível para se ligar e ativar IL-18R. Isto pode ser realizado aumentando o nível ou atividade de IL-18 que

inclui, mas sem limitação, a administração direta ou indireta de IL-18, a administração direta ou indireta de um polipeptídeo variante de IL-18, e a administração direta ou indireta de um inibidor de IL-18BP, bem como aumentando a transcrição, tradução, ou ambas, de um ácido nucleico que codifica IL-18 ou um polipeptídeo variante de IL-18; e também inclui aumentar igualmente qualquer atividade de IL-18 ou polipeptídeo variante de IL-18.

[00259] O maior nível de sinalização de IL-18, incluindo o uso de um polipeptídeo variante de IL-18, pode ser avaliado usando uma ampla variedade de métodos, incluindo aqueles aqui descritos, bem como métodos conhecidos na técnica ou que serão desenvolvidos no futuro. Isto é, os versados na técnica entenderão, com base na descrição aqui provida, que aumentar o nível ou sinalização da atividade de IL-18 pode ser facilmente avaliada usando métodos que avaliam o nível de um ácido nucleico (por exemplo, RNAm) que codifica IL-18 ou um polipeptídeo variante de IL-18 ou fragmento do mesmo, o nível de IL-18 ou um polipeptídeo variante de IL-18 ou fragmento de polipeptídeo, e/ou o nível de IL-18 ou um polipeptídeo variante de IL-18 ou atividade do fragmento em uma amostra biológica obtida a partir de um indivíduo.

[00260] Os versados na técnica, com base na descrição aqui provida, entenderão que a invenção é usada em indivíduos que, no geral (por exemplo, sistematicamente) ou em parte (por exemplo, localmente, célula, tecido, órgão), estão sendo ou serão tratados em relação a uma doença ou distúrbio onde um aumento na sinalização da atividade de IL-18 seria benéfico. Os versados na técnica entenderão, com base nos preceitos aqui providos, que as doenças e distúrbios tratáveis pelas composições e métodos aqui descritos incluem qualquer doença ou distúrbio no qual um aumento na sinalização de IL-18 promoverá um resultado biológico, psicológico, clínico ou terapêutico positivo.

[00261] Os versados na técnica entenderão que, além de aumentar diretamente a sinalização de IL-18, diminuir a quantidade ou atividade de uma molécula que diminui ela mesma a quantidade ou sinalização da atividade de IL-18 também pode funcionar para aumentar a quantidade ou sinalização da atividade de IL-18. Assim, um ativador de atividade de IL-18 pode incluir, mas não deve ser interpretado como sendo limitante a, um composto químico, uma proteína, um peptidomimético, um anticorpo, uma ribozima, e uma molécula de ácido nucleico anti-sentido. Os versados na técnica entenderão facilmente, com base na descrição aqui provida, que um ativador de atividade de IL-18 inclui um composto que aumenta o nível de sinalização de IL-18. Adicionalmente, um ativador de atividade de IL-18 inclui um composto que inibe o nível ou atividade de uma molécula que diminui ela mesma a quantidade ou sinalização da atividade de IL-18 (isto é, IL-18BP). São contemplados na presente invenção os antagonistas de IL-18BP que incluem (mas sem limitação) anticorpos monoclonais, terapêuticos moleculares pequenos que neutralizam IL-18BP, e um variante de IL-18 geneticamente modificado que se liga à IL-18BP, mas não se liga substancialmente ou interage com a IL-18R inibindo IL-18BP, desta maneira, a atividade de IL-18 produzida de maneira endógena é melhorada pela desinibição.

[00262] Os versados na técnica também entenderão, uma vez munidos com os preceitos da presente invenção, que um aumento no nível de sinalização de IL-18 inclui um aumento no nível de IL-18 ou atividade de IL-18 (por exemplo, atividade de ligação de receptor, atividade de sinalização de receptor etc.). Assim, aumentar o nível ou sinalização da atividade de IL-18 inclui, mas sem limitação, aumentar a quantidade de polipeptídeo IL-18 ou polipeptídeo variante de IL-18 disponível, aumentar a transcrição, tradução, ou ambas, de um ácido nucleico que codifica polipeptídeo de IL-18 ou um polipeptídeo variante de IL-18; e também inclui aumentar qualquer atividade

de um polipeptídeo de IL-18 ou polipeptídeo variante de IL-18 igualmente. As composições e métodos ativadores de atividade de IL-18 da invenção podem ativar de maneira seletiva a sinalização de IL-18, ou podem ativar tanto a sinalização de IL-18 e uma outra molécula ou via. Assim, a presente invenção se refere à administração de um ativador de atividade de IL-18, um ativador de atividade de polipeptídeo recombinante de IL-18, um ativador de atividade de fragmento de polipeptídeo ativo de IL-18, ou uma expressão ou atividade de componente de via de sinalização ativadora de IL-18.

[00263] Adicionalmente, os versados na técnica entenderão, quando munidos com esta descrição e os métodos aqui exemplificados, que um ativador de atividade de IL-18 inclui tanto tais ativadores descobertos no futuro, quanto podem ser identificados por critérios bem conhecidos na técnica de farmacologia, tais como os resultados fisiológicos de ativação de sinalização de IL-18, da maneira aqui descrita em detalhes e/ou da maneira conhecida na técnica. Portanto, a presente invenção não é limitada de maneira alguma a nenhum ativador particular de atividade de IL-18 da maneira aqui exemplificada ou descrita; adicionalmente, a invenção inclui aqueles ativadores que serão entendidos pelos versados na técnica para serem usados como são conhecidos na técnica, e como serão descobertos no futuro.

[00264] Métodos adicionais de identificar e produzir um ativador de atividade de IL-18 são bem conhecidos pelos versados na técnica incluindo, mas sem limitação, obter um ativador a partir de uma fonte de ocorrência natural (por exemplo, *Streptomyces* sp., *Pseudomonas* sp., *Stylorella aurantium* etc.). Alternativamente, um ativador de atividade de IL-18 pode ser sintetizado quimicamente. Adicionalmente, os versados poderiam compreender, com base nos preceitos aqui providos, que um ativador de atividade de IL-18 pode ser obtido a partir de um organismo recombinante. As composições e métodos para sintetizar quimicamente um ativador de atividade de IL-18, e para obter os mesmos a partir de fontes naturais, são

bem conhecidos e são descritos na técnica.

[00265] Os versados na técnica entenderão que um ativador pode ser administrado como uma molécula química pequena, um polipeptídeo, uma construção de ácido nucleico que codifica um polipeptídeo, ou combinações dos mesmos. Vários vetores e outras composições e métodos são bem conhecidos para administrar um polipeptídeo ou um ácido nucleico que codifica um polipeptídeo para células ou tecidos. Portanto, a invenção inclui um método para administrar um polipeptídeo ou um ácido nucleico que codifica um polipeptídeo que é um ativador de sinalização de IL-18. (Sambrook et al., 2012, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Nova Iorque; Ausubel et al., 1997, Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, Nova Iorque).

[00266] Os versados na técnica entenderão que diminuir a quantidade ou atividade de uma molécula, que diminui ela mesma a quantidade ou sinalização da atividade de IL-18, pode funcionar para aumentar a quantidade ou sinalização da atividade de IL-18 (por exemplo, IL-18BP). Oligonucleotídeos anti-sentido são moléculas de DNA ou RNA que são complementares à alguma porção de uma molécula de RNAm. Quando presentes em uma célula, os oligonucleotídeos anti-sentido hibridizam em uma molécula de RNAm existente e inibem a tradução em um produto de gene. A inibição da expressão de um gene usando um oligonucleotídeo anti-sentido é bem conhecida na técnica (Marcus-Sekura, 1988, Anal. Biochem. 172:289), uma vez que são métodos de expressar um oligonucleotídeo anti-sentido em uma célula (Inoue, patente U.S. 5.190.931). Os métodos da invenção incluem o uso de um oligonucleotídeo anti-sentido para diminuir a quantidade de uma molécula que causa uma diminuição na quantidade ou sinalização da atividade de IL-18, aumentado por meio disso a quantidade ou sinalização da atividade de IL-18. São contemplados na presente invenção os oligonucleotídeos anti-sentido que são sintetizados e providos para a célula

por meio dos métodos bem conhecidos pelos versados na técnica. Como um exemplo, um oligonucleotídeo anti-sentido pode ser sintetizado para apresentar entre cerca de 10 e cerca de 100, de maneira mais exemplar entre cerca de 15 e cerca de 50 nucleotídeos em tamanho. A síntese de moléculas de ácido nucleico é bem conhecida na técnica, uma vez que é a síntese de oligonucleotídeos anti-sentido modificados para melhorar a atividade biológica, em comparação como oligonucleotídeos anti-sentido não modificados (Tullis, 1991, patente U.S. 5.023.243).

[00267] De maneira similar, a expressão de um gene pode ser inibida pela hibridização de uma molécula anti-sentido em um promotor ou outro elemento regulador de um gene, afetando por meio disso a transcrição do gene. Métodos para a identificação de um promotor ou outro elemento regulatório que interage com um gene de interesse são bem conhecidos na técnica, e incluem tais métodos como o sistema duplo-híbrido de levedura (Bartel and Fields, eds., Em: *The Yeast Two Hybrid System*, Oxford University Press, Cary, N.C.).

[00268] Alternativamente, a inibição de um gene que expressa uma proteína que diminui o nível ou sinalização da atividade de IL-18 pode ser realizada pelo uso de uma ribozima. O uso de ribozimas para inibir a expressão é bem conhecido pelos versados na técnica (vide, por exemplo, Cech et al., 1992, *J. Biol. Chem.* 267:17479; Hampel et al., 1989, *Biochemistry* 28: 4929; Altman et al., patente U.S. 5.168.053). As ribozimas são moléculas catalíticas de RNA, com a capacidade de clivar outras moléculas de RNA de fita simples. As ribozimas são conhecidas pela sequência específica e, portanto, podem ser modificadas para reconhecer uma sequência específica de nucleotídeo (Cech, 1988, *J. Amer. Med. Assn.* 260:3030), permitindo a clivagem seletiva de moléculas específicas de RNAm. Dada a sequência de nucleotídeo da molécula, os versados na técnica poderão sintetizar um oligonucleotídeo anti-sentido ou ribozima sem

experimentação indevida, provido com a descrição e referências aqui incorporadas.

[00269] Os versados na técnica entenderão que um ativador de atividade de IL-18, tal como um polipeptídeo variante de IL-18, ou fragmento do mesmo, ou um ácido nucleico (por exemplo, DNA, DNAc, RNAm etc.) que codifica um polipeptídeo variante de IL-18, ou fragmento do mesmo, pode ser administrado isoladamente ou em qualquer combinação dos mesmos.

[00270] Os versados na técnica também entenderão que a administração pode ser aguda (por exemplo, em relação a um curto período de tempo, tal como um dia, uma semana ou um mês) ou crônica (por exemplo, em relação a um longo período de tempo, tal como vários meses ou um ano ou mais). Adicionalmente, um ativador de atividade de IL-18, tal como um polipeptídeo variante de IL-18 ou fragmento do mesmo, ou um ácido nucleico (por exemplo, DNA, DNAc, RNAm etc.) que codifica um polipeptídeo variante de IL-18, ou fragmento do mesmo, pode ser administrado isoladamente ou em qualquer combinação dos mesmos, em um sentido temporal, em que pode ser administrado simultaneamente, antes, e/ou após o outro. Os versados na técnica entenderão, com base na descrição aqui provida, que um ativador de atividade de IL-18, um ativador de atividade de polipeptídeo de IL-18, um ativador de atividade de polipeptídeo de IL-18 recombinante, ou um ativador de atividade de fragmento ativo de polipeptídeo de IL-18 pode ser usado sozinho ou em qualquer combinação com um outro ativador de atividade de IL-18, ativador de atividade de polipeptídeo de IL-18, ativador de atividade de polipeptídeo de IL-18 recombinante, ou ativador de atividade de fragmento de polipeptídeo de IL-18 ativo para atingir um resultado terapêutico.

[00271] Será entendido pelos versados na técnica, quando munidos com a presente descrição, incluindo os métodos aqui detalhados, que a invenção não é limitada ao tratamento de uma doença ou distúrbio, uma vez

que é estabelecido. Particularmente, os sintomas da doença ou distúrbio não precisam ter se manifestado a ponto de prejudicar o indivíduo; de fato, a doença ou distúrbio não precisa ser detectado em um indivíduo antes do tratamento ser administrado. Isto é, patologia significativa a partir da doença ou distúrbio não precisa ocorrer antes da presente invenção poder prover benefício. Portanto, a presente invenção, descrita aqui com mais detalhes, inclui um método para prevenir doenças e distúrbios em um indivíduo, de maneira tal que uma molécula ativadora de atividade de IL-18 (por exemplo, polipeptídeo, peptídeo etc.), ou um ativador de atividade de IL-18, da maneira aqui discutida em outra parte, pode ser administrado a um indivíduo antes do início da doença ou distúrbio, prevenindo por meio disso a doença ou distúrbio de desenvolver.

[00272] A invenção inclui administração de um ativador de atividade de IL-18, um ativador de atividade de polipeptídeo de IL-18, um polipeptídeo de sinalização de IL-18 recombinante, ou um fragmento de polipeptídeo de sinalização de IL-18 ativo para realizar os métodos da invenção; os versados na técnica entenderão, com base na descrição aqui provida, como formular e administrar o ativador de atividade de IL-18 apropriado, ativador de atividade de polipeptídeo de IL-18, polipeptídeo de sinalização de IL-18 recombinante, ou fragmento de polipeptídeo de sinalização de IL-18 ativo a um indivíduo. Entretanto, a presente invenção não é limitada a nenhum método de administração ou regime de tratamento particular. Isto é especialmente verdade onde pode ser entendido pelos versados na técnica, equipados com a descrição aqui provida, incluindo a redução para realizar usando um modelo de doença reconhecido na técnica, que os métodos de administrar um ativador de atividade de IL-18, polipeptídeo de sinalização de IL-18, um polipeptídeo de sinalização de IL-18 recombinante, ou um fragmento de polipeptídeo de sinalização de IL-18 ativo podem ser determinados pelos versados na técnica em farmacologia.

[00273] Em algumas modalidades, um método compreende administrar a um indivíduo em necessidade do mesmo uma composição que compreende pelo menos um polipeptídeo variante de IL-18, e administrar ao indivíduo uma composição que compreende um agente adicional. Em uma modalidade como esta, o agente adicional compreende um agente imunoterapêutico compreendendo pelo menos um selecionado a partir do grupo que inclui, mas sem limitação uma célula T alterada, uma célula T receptora de antígeno quimérico (CAR-T), uma célula T-CAR blindada, um vírus, um antígeno, uma vacina, um anticorpo, um inibidor do ponto de controle imunológico, uma molécula pequena, um agente quimioterapêutico, e uma célula tronco. Em algumas modalidades, uma composição que compreende pelo menos um polipeptídeo variante de IL-18 é usada em um método para aumentar a atividade do sistema imune antes, durante ou após infecção por uma bactéria, vírus, ou outro patógeno. Em algumas modalidades, uma composição que compreende pelo menos um polipeptídeo variante de IL-18 é usada em um método para aumentar o número e/ou atividade de células imunes *in vitro*, *in vivo* ou *ex vivo*, tal como o número e/ou atividade de células T, células NK, e/ou células mieloides.

[00274] Em algumas modalidades, o agente adicional compreende um inibidor de uma ou mais citocinas. Em algumas modalidades, o inibidor de uma ou mais citocinas compreende um composto químico, uma proteína, um peptídeo, um peptidomimético, um anticorpo, uma ribozima, um composto químico de molécula pequena, ou uma molécula de ácido nucleico anti-sentido (por exemplo, RNAsi, RNAmi etc.) que inibe a expressão, atividade, ou ambas de uma ou mais citocinas. Em algumas modalidades, o inibidor inibe a expressão, atividade, ou ambas de IL-17, IL-5 ou IL-3. Em algumas modalidades, a administração de um inibidor de citocina diminui a toxicidade. Em algumas modalidades, a administração de uma citocina inibidor aumenta a eficiência de um polipeptídeo variante de IL-18 ou inibidor de IL-18BP

administrado.

[00275] Da maneira aqui usada, o termo “carreador farmaceuticamente aceitável” significa uma composição química com a qual um modulador de sinalização de IL-18 apropriado pode ser combinado e que, após a combinação, pode ser usado para administrar o modulador de sinalização de IL-18 apropriado do mesmo a um indivíduo.

Kits

[00276] A presente invenção também se refere aos kits usados nos métodos da invenção. Tais kits compreendem várias combinações de componentes usados em qualquer um dos métodos aqui descritos em outro lugar incluindo, por exemplo, um ativador de atividade de IL-18, tal como um polipeptídeo variante de IL-18, e/ou um inibidor de IL-18BP, e/ou materiais para analisar quantitativamente o polipeptídeo variante de IL-18 ou ácido nucleico variante de IL-18, e/ou materiais para avaliar a atividade de um polipeptídeo variante de IL-18 ou um ácido nucleico variante de IL-18, e/ou material de instrução. Por exemplo, Em algumas modalidades, o kit compreende componentes usados para a quantificação de ácido nucleico variante de IL-18 em uma amostra biológica. Em uma outra modalidade, o kit compreende componentes usados para a quantificação de polipeptídeo variante de IL-18 em uma amostra biológica. Em uma modalidade adicional, o kit compreende componentes usados para a avaliação da atividade (por exemplo, atividade enzimática, atividade de ligação de ligante etc.) de um polipeptídeo variante de IL-18 em uma amostra biológica.

[00277] Em uma modalidade adicional, o kit compreende os componentes de um ensaio para monitorar a eficiência de um tratamento administrado a um indivíduo em necessidade do mesmo, contendo material de instrução e os componentes para determinar se o nível de sinalização de IL-18 em uma amostra biológica obtida do indivíduo é modulado durante ou após a administração do tratamento. Em várias modalidades, para determinar se o

nível de sinalização de IL-18 é modulado em uma amostra biológica obtida a partir do indivíduo, o nível de sinalização de IL-18 é comparado ao nível de pelo menos um controle comparador contido no kit, tal como um controle positivo, um controle negativo, um controle histórico, uma norma histórica, ou o nível de uma outra molécula de referência na amostra biológica. Em certas modalidades, a razão de sinalização de IL-18 e uma molécula de referência é determinada para auxiliar no monitoramento do tratamento.

Composições farmacêuticas e Administração

[00278] Composições compreendendo um polipeptídeo, um fragmento de polipeptídeo, um ativador de nível ou atividade de sinalização de IL-18, ou um inibidor de nível ou atividade de IL-18BP, da maneira aqui descrita em outra parte podem ser formuladas e administradas a um indivíduo da maneira agora descrita. A título de exemplos não limitantes, uma composição identificada como um ativador de atividade de IL-18, incluindo polipeptídeos variantes de IL-18, polipeptídeos variantes de IL-18 recombinantes, e fragmentos de polipeptídeo variante de IL-18 ativos, para o tratamento e/ou prevenção de uma doença ou distúrbio, pode ser formulada e administrada a um indivíduo, da maneira agora descrita. A título de mais exemplos não limitantes, uma composição identificada como um inibidor de IL-18BP usado, incluindo um composto químico, uma proteína, um peptídeo, um peptidomimético, um anticorpo, uma ribozima, um composto químico de molécula pequena, uma molécula de ácido nucleico anti-sentido (por exemplo, RNAsi, RNAmi etc.), para o tratamento e/ou prevenção de uma doença ou distúrbio, pode ser formulada e administrada a um indivíduo, da maneira agora descrita.

[00279] A invenção inclui a preparação e o uso de composições farmacêuticas compreendendo uma composição usada para o tratamento ou prevenção de uma doença ou distúrbio, aqui descrita como um ingrediente ativo. Uma composição farmacêutica como esta pode consistir no ingrediente

ativo sozinho, em uma forma adequada para a administração a um indivíduo, ou a composição farmacêutica pode compreender o ingrediente ativo e um ou mais carreadores farmaceuticamente aceitáveis, um ou mais ingredientes adicionais, ou alguma combinação dos mesmos. O ingrediente ativo pode estar presente na composição farmacêutica na forma de um éster ou sal fisiologicamente aceitável, tal como em combinação com um cátion ou ânion fisiologicamente aceitável, como é bem conhecido na técnica. Em várias modalidades, o ingrediente ativo é um polipeptídeo, um fragmento de polipeptídeo, um ativador de nível ou atividade de sinalização de IL-18, um inibidor de nível ou atividade de IL-18BP, ou uma combinação dos mesmos, da maneira aqui descrita em outra parte.

[00280] Da maneira aqui usada, o termo “carreador farmaceuticamente aceitável” significa uma composição química com a qual um modulador de sinalização de IL-18 apropriado do mesmo pode ser combinado e que, após a combinação, pode ser usado para administrar o modulador apropriado (por exemplo, ativador, inibidor etc.) do mesmo, a um indivíduo.

[00281] Em algumas modalidades, composições farmacêuticas podem incluir macromoléculas grandes e lentamente metabolizadas, tais como proteínas, polissacarídeos tais como quitosana, ácidos poliláticos, ácidos poliglicólicos e copolímeros (tais como látex funcionalizada SepharoseTM, agarose, celulose e similares), aminoácidos poliméricos, copolímeros de aminoácido, e agregados de lipídeo (tais como gotas de óleo ou lipossomos).

[00282] As composições farmacêuticas usadas para realizar a invenção podem ser administradas para liberar uma dose entre cerca de 0,1 ng/kg/dia e 100 mg/kg/dia, ou mais.

[00283] Em várias modalidades, as composições farmacêuticas usadas nos métodos da invenção podem ser administradas, a título de exemplo, sistemicamente, parenteralmente, ou topicalmente tal como, em formulações orais, formulações inaladas, incluindo sólido ou aerossol, e por formulações

tópicas ou outras similares. Além da composição terapêutica apropriada, tais composições farmacêuticas podem conter carreadores farmaceuticamente aceitáveis e outros ingredientes conhecidos por melhorar e facilitar a administração de fármaco. Outras formulações possíveis, tais como nanopartículas, lipossomos, outras preparações contendo o ingrediente ativo, e sistemas com base imunológica também podem ser usados para administrar um modulador apropriado do mesmo, de acordo com os métodos da invenção.

[00284] Um carreador pode carregar um agente particular (por exemplo, polipeptídeo variante de IL-18) em uma variedade de maneiras, incluindo ligação covalente tanto diretamente quanto por meio de um grupo ligador, e associações não covalentes. Os carreadores covalentemente ligados adequados incluem proteínas tais como albuminas, peptídeos e polissacarídeos, tal como aminodextrano, cada um dos quais apresentando sítios múltiplos para a anexação das frações. Um carreador também pode carregar um polipeptídeo variante de IL-18 por associações não covalentes, tal como ligação não covalente ou por encapsulação. A natureza do carreador pode ser tanto solúvel quanto insolúvel com os propósitos da invenção.

[00285] Carreadores, excipientes ou estabilizadores aceitáveis são não tóxicos aos receptores nas dosagens e concentrações empregadas, e incluem tampões tais como fosfato, citrato e outros ácidos orgânicos; antioxidantes incluindo ácido ascórbico e metionina; conservantes (tais como cloreto de octadecildimetilbenzil amônio; cloreto de hexametônio; cloreto de benzalcônio, cloreto de benzetônio; fenol, álcool butílico ou benzílico; alquil parabenos tais como metil ou propil parabeno; catecol; resorcinol; cicloexanol; 3-pentanol; e m-cresol); polipeptídeos de baixo peso molecular (menos de cerca de 10 resíduos); proteínas, tais como albumina sérica, gelatina ou imunoglobulinas; polímeros hidrofílicos tais como polivinilpirrolidona; aminoácidos tais como glicina, glutamina, asparagina, histidina, arginina, ou lisina; monossacarídeos, dissacarídeos e outros

carboidratos que incluem glicose, manose, ou dextrinas; agentes de quelação tais como EDTA; açúcares tais como sacarose, manitol, trealose ou sorbitol; contraíons formadores de sal tais como sódio; complexos metálicos (por exemplo, complexos de Zn-proteína); e/ou agentes tensoativos não iônicos tais como TWEENTM, PLURONICSTM ou polietileno glicol (PEG). As formulações a serem usadas para administração *in vivo* devem ser estéreis. Isto é facilmente realizado por filtração por meio de seringa com membranas de filtração.

[00286] Os ingrediente ativos também podem ser aprisionados em microcápsula preparada, por exemplo, por técnica de coacervação ou por polimerização interfacial, por exemplo, hidroximetilcelulose ou microcápsula de gelatina e microcápsula de poli-(metilmetacrilato), respectivamente, em sistemas de liberação de fármaco coloidal (por exemplo, lipossomos, microesferas de albumina, microemulsões, nano-partículas e nanocápsulas) ou em macroemulsões. Tais técnicas são descritas em Remington's Pharmaceutical Sciences 16^a edição, Osol, A. Ed. (1980).

[00287] As composições podem ser preparadas como injetáveis, tanto como soluções líquidas quanto suspensões; formas sólidas adequadas para solução em, ou suspensão em, veículos líquidos antes da injeção também podem ser preparadas. A preparação também pode ser emulsificada ou encapsulada em lipossomos ou micropartículas tais como polilactídeo, poliglicolídeo, ou copolímero para melhor efeito adjuvante da maneira discutida anteriormente. Langer, Science 249: 1527, 1990 e Hanes, Advanced Drug Delivery Reviews 28: 97-119, 1997. Os agentes desta invenção podem ser administrados na forma de uma injeção de depósito ou preparação de implante, que podem ser formulados de maneira tal que permitam uma liberação contínua ou pulsátil do ingrediente ativo. As composições farmacêuticas são em geral formuladas como estéreis, substancialmente isotônicas e em total conformidade com todos os regulamentos de *Good*

Manufacturing Practice (GMP) do U.S. Food and Drug Administration.

[00288] Da maneira aqui usada, o termo éster ou sal “fisiologicamente aceitável” significa uma forma de éster ou sal do ingrediente ativo que é compatível com qualquer outro ingrediente da composição farmacêutica, que não é prejudicial ao indivíduo para o qual a composição será administrada.

[00289] As formulações das composições farmacêuticas aqui descritas podem ser preparadas por qualquer método conhecido ou desenvolvido daqui por diante na técnica de farmacologia. Em geral, tais métodos preparatórios incluem a etapa de transmitir o ingrediente ativo em associação com um carreador, ou um ou mais outros ingredientes acessórios e, a seguir, se necessário ou desejável, moldar ou embalar o produto em uma unidade de dose única ou múltipla desejada.

[00290] Embora as descrições de composições farmacêuticas aqui providas sejam direcionadas principalmente às composições farmacêuticas que são adequadas para a ética em humanos, será entendido pelos versados na técnica que tais composições são geralmente adequados para a administração em animais de todos os tipos. A modificação de composições farmacêuticas adequada para a administração em humanos, a fim de tornar as composições adequadas para a administração em vários animais, é bem entendida, e os versados na técnica de farmacologia veterinária podem determinar e realizar tal modificação com experimentação meramente comum, caso exista.

[00291] As composições farmacêuticas que são usadas nos métodos da invenção podem ser preparadas, embaladas, ou vendidas em formulações adequadas para via oral, retal, vaginal, parenteral, tópica, pulmonar, intranasal, bucal, intravenosa, transdérmica, intralesional, subcutânea, intramuscular, oftálmica, intratecal e outras vias de administração. Outras formulações contempladas incluem nanopartículas projectadas, preparações lipossomais, outras preparações contendo o ingrediente ativo, e formulações com base imunológica.

[00292] Uma composição farmacêutica da invenção pode ser preparada, embalada, ou vendida à granel como uma dose unitária, ou como uma pluralidade de doses unitárias. Da maneira aqui usada, uma “dose única” é quantidade discreta da composição farmacêutica compreendendo uma quantidade pré-determinada do ingrediente ativo. A quantidade do ingrediente ativo é geralmente igual à dosagem do ingrediente ativo, o qual pode ser administrado a um indivíduo ou uma fração conveniente de uma dosagem como esta, por exemplo, tal como metade ou um terço de uma dosagem como esta.

[00293] As quantidades relativas do ingrediente ativo, o carreador farmaceuticamente aceitável, e qualquer dos ingredientes adicionais em uma composição farmacêutica da invenção poderão variar, dependendo da identidade, tamanho e condição do indivíduo tratado e dependendo adicionalmente da via pela qual a composição deve ser administrada. A título de exemplo, a composição pode compreender entre 0,1% e 100% (p/p) de ingrediente ativo.

[00294] Além do ingrediente ativo, uma composição farmacêutica da invenção pode compreender adicionalmente um ou mais agentes farmaceuticamente ativos adicionais.

[00295] As formulações de liberação controlada ou contínua de uma composição farmacêutica da invenção podem ser preparadas usando tecnologia convencional.

[00296] Uma formulação de uma composição farmacêutica da invenção, adequada para administração oral, pode ser preparada, embalada, ou vendida na forma de uma única dose sólida discreta incluindo, mas sem limitação, um comprimido, uma cápsula dura ou macia, um selo, uma pastilha, ou uma pílula, cada qual contendo uma quantidade pré-determinada do ingrediente ativo. Outras formulações adequadas para administração oral incluem, mas sem limitação, uma formulação em pó ou granular, uma

suspensão aquosa ou oleosa, uma solução aquosa ou oleosa, ou uma emulsão.

[00297] Excipientes farmaceuticamente aceitáveis usados na fabricação de composições farmacêuticas incluem, mas sem limitação, diluentes inertes, agentes de granulação e desintegração, agentes de ligação e agentes lubrificantes. Agentes de dispersão conhecidos incluem, mas sem limitação, amido de batata e amido glicolato de sódio. Agentes ativos de superfície conhecidos incluem, mas sem limitação, lauril sulfato de sódio. Os diluentes conhecidos incluem, mas sem limitação, carbonato de cálcio, carbonato de sódio, lactose, celulose microcristalina, fosfato de cálcio, fosfato de hidrogênio e cálcio, e fosfato de sódio. Os agentes de granulação e desintegração conhecidos incluem, mas sem limitação, amido de milho e ácido algínico. Os agentes de ligação conhecidos incluem, mas sem limitação, gelatina, acácia, amido de milho pré-gelatinizado, polivinilpirrolidona, e hidroxipropil metilcelulose. Os agentes de lubrificação conhecidos incluem, mas sem limitação, estearato de magnésio, ácido esteárico, sílica e talco.

[00298] Formulações líquidas de uma composição farmacêutica da invenção podem ser preparadas, embaladas e comercializadas tanto na forma líquida quanto na forma de um produto seco pretendido para reconstituição com água, ou um outro veículo adequado, antes do uso.

[00299] Suspensões líquidas podem ser preparadas usando métodos convencionais para atingir a suspensão do ingrediente ativo em um veículo aquoso ou oleoso. Os veículos aquosos incluem, por exemplo, água e salina isotônica. Os veículos oleosos incluem, por exemplo, óleo de amêndoas, ésteres oleosos, álcool etílico, óleos vegetais tais como óleo de amendoim, de gergelim ou de coco, óleos vegetais fracionados, e óleos minerais tal como parafina líquida. Suspensões líquidas podem compreender adicionalmente um ou mais ingredientes adicionais incluindo, mas sem limitação, agentes de suspensão, agentes de dispersão ou umectação, agentes de emulsificação, demulcentes, conservantes, tampões, sais, flavorizantes, agentes de coloração,

e agentes adoçantes. Suspensões oleosas podem compreender adicionalmente um agente espessante.

[00300] Os agentes de suspensão conhecidos incluem, mas sem limitação, xarope de sorbitol, gorduras hidrogenadas comestíveis, alginato de sódio, polivinilpirrolidona, goma tragacanto, goma acácia, e derivados de celulose tais como carboximetilcelulose, metilcelulose e hidroxipropilmelcelulose de sódio. Os agentes de dispersão ou umectação conhecidos incluem, mas sem limitação, fosfatídeos de ocorrência natural tal como lecitina, produtos de condensação de um óxido de alquíleno com um ácido graxo, com um álcool alifático de cadeia longa, com um éster parcial derivado a partir de um ácido graxo e um hexitol, ou com um éster parcial derivado a partir de um ácido graxo e um anidrido hexitol (por exemplo, estearato de polioxietileno, heptadecaetileno-oxicetanol, mono-oleato de polioxietileno sorbitol, e mono-oleato de polioxietileno sorbitano, respectivamente). Agentes de emulsificação conhecidos incluem, mas sem limitação, lecitina e acácia. Conservantes conhecidos incluem, mas sem limitação, metil, etil, ou n-propil-para-hidroxibenzoatos, ácido ascórbico e ácido sórbico. Os agentes adoçantes conhecidos incluem, por exemplo, glicerol, propileno glicol, sorbitol, sacarose e sacarina. Os agentes espessantes conhecidos para suspensões oleosas incluem, por exemplo, cera de abelha, parafina dura, e álcool cetílico.

[00301] As soluções líquidas do ingrediente ativo em solventes aquosos ou oleosos podem ser preparadas substancialmente da mesma maneira que as suspensões líquidas, a diferença principal sendo que o ingrediente ativo é dissolvido, ao invés de suspenso no solvente. As soluções líquidas da composição farmacêutica da invenção podem compreender cada um dos componentes descritos com relação às suspensões líquidas, sendo entendido que estes agentes de suspensão não auxiliarão necessariamente a dissolução do ingrediente ativo no solvente. Os solventes aquosos incluem,

por exemplo, água e salina isotônica. Os solventes oleosos incluem, por exemplo, óleo de amêndoas, ésteres oleosos, álcool etílico, óleos vegetais tais como óleo de amendoim, de gergelim ou de coco, óleos vegetais fracionados, e óleos minerais tal como parafina líquida.

[00302] As formulações em pó e granulares de uma preparação farmacêutica da invenção podem ser preparadas usando métodos conhecidos. Tais formulações podem ser administradas diretamente a um indivíduo, por exemplo, usadas para formar comprimidos, para preencher cápsulas, ou para preparar uma suspensão ou solução aquosa ou oleosa pela adição de um veículo aquoso ou oleoso à essa. Cada uma destas formulações pode compreender adicionalmente um ou mais de agente de dispersão ou umectação, um agente de suspensão e um conservante. Excipientes adicionais, tais como cargas e agentes adoçantes, flavorizantes ou de coloração, também podem ser incluídos nestas formulações.

[00303] Uma composição farmacêutica da invenção também pode ser preparada, embalada ou vendida na forma de emulsão óleo-em-água ou uma emulsão água-em-óleo. A fase oleosa pode ser um óleo vegetal, tal como óleo de oliva ou amendoim, um óleo mineral tal como parafina líquida, ou uma combinação dos mesmos. Tais composições podem compreender adicionalmente um ou mais agentes de emulsificação tais como gomas de ocorrência natural, tal como goma acácia ou goma tragacanto, fosfatídeos de ocorrência natural tais como fosfatídeos de soja ou lecitina, ésteres ou ésteres parciais derivados a partir das combinações de ácidos graxos e anidridos de hexitol tal como mono-oleato de sorbitano, e produtos de condensação de tais ésteres parciais com óxido de etileno tal como mono-oleato de polioxietileno sorbitano. Estas emulsões também podem conter ingredientes adicionais incluindo, por exemplo, agentes adoçantes ou flavorizantes.

[00304] Métodos para impregnar ou revestir um material com uma composição química são conhecidos na técnica e incluem, mas sem limitação,

métodos para depositar ou ligar uma composição química em uma superfície, métodos para incorporar uma composição química na estrutura de um material durante a síntese do material (isto é, tal como com um material fisiologicamente degradável), e métodos para absorver uma solução ou suspensão aquosa ou oleosa em um material absorvente, com ou sem secagem subsequente.

[00305] Da maneira aqui usada, “administração parenteral” de uma composição farmacêutica inclui qualquer via de administração caracterizada por rompimento físico de um tecido de um indivíduo e administração da composição farmacêutica através da ruptura no tecido. A administração parenteral inclui assim, mas sem limitação, administração de uma composição farmacêutica por injeção da composição, por aplicação da composição através de uma incisão cirúrgica, por aplicação da composição através de uma ferida não cirúrgica que penetra no tecido, e similares. Em particular, administração parenteral é contemplada para incluir, mas sem limitação, injeção cutânea, subcutânea, intraperitoneal, intravenosa, intramuscular, intracisterna, e técnicas de infusão de diálise renal.

[00306] As formulações de uma composição farmacêutica adequada para administração parenteral compreendem o ingrediente ativo combinado com um carreador farmaceuticamente aceitável, tal como água estéril ou salina isotônica estéril. Tais formulações podem ser preparadas, embaladas ou comercializadas em uma forma adequada para administração em bolo, ou para administração contínua. As formulações injetáveis podem ser preparadas, embaladas ou comercializadas na forma de dosagem única, tal como em âmpolas ou em recipientes multi-doses contendo um conservante. As formulações para administração parenteral incluem, mas sem limitação, suspensões, soluções, emulsões em veículos oleosos ou aquosos, pastas e formulações de liberação contínua implantáveis ou biodegradáveis. Tais formulações podem compreender adicionalmente um ou mais ingredientes

adicionais incluindo, mas sem limitação, agentes de suspensão, estabilização ou dispersão. Em algumas modalidades de uma formulação para administração parenteral, o ingrediente ativo é provido a forma seca (isto é, pó ou granular) para reconstituição com um veículo adequado (por exemplo, água estéril livre de pirogênio) antes da administração parenteral da composição reconstituída.

[00307] As composições farmacêuticas podem ser preparadas, embaladas ou comercializadas na forma de uma suspensão ou solução aquosa ou oleosa injetável estéril. Esta suspensão ou solução pode ser formulada de acordo com a técnica conhecida e pode compreender, além do ingrediente ativo, ingredientes adicionais tais como os agentes de dispersão, agentes de umectação, ou agentes de suspensão aqui descritos. Tais formulações injetáveis estéreis podem ser preparadas usando um diluente ou solvente não tóxico parenteralmente aceitável, tal como água ou 1,3-butano diol, por exemplo. Outros diluentes e solventes aceitáveis incluem, mas sem limitação, solução de Ringer, solução de cloreto de sódio isotônico, e óleos fixos tais como mono ou di-glicerídeos sintéticos. Outras formulações parenteralmente administradas que são usadas incluem aquelas que compreendem o ingrediente ativo na forma microcristalina, em uma preparação lipossomal, ou como um componente de um sistema de polímero biodegradável. As composições para liberação contínua ou implantação podem compreender materiais poliméricos ou hidrofóbicos farmaceuticamente aceitáveis, tal como uma emulsão, uma resina de troca iônica, um polímero moderadamente solúvel, ou um sal moderadamente solúvel.

[00308] As formulações adequadas para administração tópica incluem, mas sem limitação, preparações líquidas ou semi-líquidas, tais como linimentos, loções, emulsões óleo-em-água ou água-em-óleo tais como cremes, emplastros ou pastas, e soluções ou suspensões. As formulações administráveis topicamente, por exemplo, podem compreender de cerca de

1% a cerca de 10% (p/p) de ingrediente ativo, embora a concentração do ingrediente ativo possa ser tão alto quanto o limite da solubilidade do ingrediente ativo nas formulações do solvente para a administração tópica poder compreender adicionalmente um ou mais dos ingredientes adicionais aqui descritos.

[00309] Uma composição farmacêutica da invenção pode ser preparada, embalada ou comercializada em uma formulação adequada para a administração pulmonar por meio da cavidade bucal. Uma formulação como esta pode compreender partículas secas que compreendem o ingrediente ativo, e que apresentam um diâmetro na faixa de cerca de 0,5 a cerca de 7 nanômetros, e preferivelmente de cerca de 1 a cerca de 6 nanômetros. Tais composições estão convenientemente na forma de pós secos para a administração, usando um dispositivo que compreende um reservatório de pó seco no qual um fluxo de propulsor pode ser direcionado para dispersar o pó, ou usando um recipiente de dispersão de solvente/pó auto-propulsor tal como um dispositivo compreendendo o ingrediente ativo dissolvido ou suspenso em um propulsor de baixo ponto de ebulação, em um recipiente selado. Preferivelmente, tais pós compreendem partículas em que pelo menos 98% das partículas em peso apresentam um diâmetro maior que 0,5 nanômetros e pelo menos 95% das partículas em número apresentam um diâmetro menor que 7 nanômetros. Mais preferivelmente, pelo menos 95% das partículas em peso apresentam um diâmetro maior que 1 nanômetro e pelo menos 90% das partículas em número apresentam um diâmetro menor que 6 nanômetros. As composições de pó seco incluem preferivelmente um diluente de pó fino sólido tal como açúcar, e são providos convenientemente em uma forma de dose única.

[00310] Os propulsores com baixo ponto de ebulação incluem em geral propulsores líquidos com um ponto de ebulação abaixo de 18,33 °C (65 °F) em pressão atmosférica. Em geral, o propulsor por constituir 50 a 99,9% (p/p)

da composição, e o ingrediente ativo pode constituir 0,1 a 20% (p/p) da composição. O propulsor pode compreender adicionalmente ingredientes adicionais tais como um agente tensoativo não iônico líquido ou sólido, ou um diluente sólido (preferivelmente com um tamanho de partícula da mesma ordem das partículas compreendendo o ingrediente ativo).

[00311] As composições farmacêuticas da invenção formuladas para liberação pulmonar também podem prover o ingrediente ativo na forma de gotas de uma solução ou suspensão. Tais formulações podem ser preparadas, embaladas ou comercializadas como soluções ou suspensões aquosas ou alcoólicas diluídas, opcionalmente estéreis, compreendendo o ingrediente ativo, e podem ser convenientemente administradas usando qualquer dispositivo de nebulização ou atomização. Tais formulações podem compreender adicionalmente um ou mais ingredientes adicionais incluindo, mas sem limitação, um agente flavorizante tal como sacarina sódica, um óleo volátil, um agente de tamponamento, um agente ativo de superfície, ou um conservante tal como metil-hidroxibenzoato. As gotas providas por esta via de administração apresentam preferivelmente um diâmetro médio na faixa de cerca de 0,1 a cerca de 200 nanômetros. As formulações aqui descritas como são usadas para liberação pulmonar, também são usadas para liberação intranasal de uma composição farmacêutica da invenção. Uma outra formulação adequada para administração intranasal é um pó grosso compreendendo o ingrediente ativo, e com uma partícula média de cerca de 0,2 a 500 micrômetros.

[00312] Uma formulação como esta é administrada de maneira que o rapé é obtido, isto é, por inalação rápida por meio da passagem nasal a partir de um recipiente do pó mantido fechado nas narinas. As formulações adequadas para administração nasal, por exemplo, podem compreender de cerca de tão pouco quanto 0,1% (p/p) e tão elevado quanto 100% (p/p) do ingrediente ativo, e podem compreender adicionalmente um ou mais dos

ingredientes adicionais aqui descritos.

[00313] Uma composição farmacêutica da invenção pode ser preparada, embalada ou comercializada em uma formulação adequada para a administração bucal. Tais formulações, por exemplo, podem estar na forma de comprimidos ou pastilhas preparadas usando métodos convencionais e, por exemplo, podem conter 0,1 a 20% (p/p) de ingrediente ativo, o equilíbrio compreendendo uma composição oralmente dissolvível ou degradável e, opcionalmente, um ou mais dos ingredientes adicionais aqui descritos. Alternativamente, as formulações adequadas para administração bucal podem compreender um pó ou uma solução ou suspensão em aerossol ou atomizada compreendendo o ingrediente ativo. Tais formulações em pó, em aerossol ou em aerossóis, quando dispersas, apresentam preferivelmente uma partícula média ou tamanho de gota na faixa de cerca de 0,1 a cerca de 200 nanômetros, e podem compreender adicionalmente um ou mais dos ingredientes adicionais aqui descritos.

[00314] Uma composição farmacêutica da invenção pode ser preparada, embalada ou comercializada em uma formulação adequada para administração oftálmica. Tais formulações, por exemplo, podem estar na forma de colírio incluindo, por exemplo, uma solução ou suspensão 0,1-1,0% (p/p) do ingrediente ativo em um carreador líquido aquoso ou oleoso. Tais gotas podem compreender adicionalmente agentes de tamponamento, sais, ou um ou mais dos outros ingredientes adicionais aqui descritos. Outras formulações oftalmicamente administráveis que são usadas incluem aquelas que compreendem o ingrediente ativo na forma microcristalina, ou em uma preparação lipossomal.

[00315] Da maneira aqui usada, “ingredientes adicionais” incluem, mas sem limitação, um ou mais dos seguintes: excipientes; agentes ativos de superfície; agentes dispersantes; diluentes inertes; agentes de granulação e desintegração; agentes de ligação; agentes lubrificantes; agentes adoçantes;

agentes flavorizantes; agentes de coloração; conservantes; composições fisiologicamente degradáveis tal como gelatina; veículos e solventes aquosos; veículos e solventes oleosos; agentes de suspensão; agentes de dispersão ou umectação; agentes de emulsificação, demulcentes; tampões; sais; agente espessantes; cargas; agentes de emulsificação; antioxidantes; antibióticos; agentes antifúngicos; agentes estabilizantes; e materiais poliméricos ou hidrofóbicos farmaceuticamente aceitáveis. Outros “ingredientes adicionais” que podem ser incluídos nas composições farmacêuticas da invenção são conhecidos na técnica e descritos, por exemplo, em Genaro, ed., 1985, Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pa., que é aqui incorporado pela referência.

[00316] Tipicamente, as dosagens do composto da invenção que podem ser administradas a um animal, preferivelmente um humano, variam em quantidade de cerca de 0,001 mg a cerca de 1000 mg por quilograma de peso corporal do animal. A dosagem exata administrada variará, dependendo de inúmeros fatores incluindo, mas sem limitação, o tipo de animal e tipo de doença ou distúrbio que é tratado, a idade do animal e a via de administração. Preferivelmente, a dosagem do composto variará de cerca de 0,1 mg a cerca de 10 mg por quilograma de peso corporal do animal. O composto pode ser administrado a um animal tantas vezes quanto várias vezes ao dia, ou pode ser administrado menos frequentemente, tal como uma vez ao dia, uma vez por semana, uma vez a cada duas semanas, uma vez por mês, ou ainda menos frequentemente, tal como uma vez a cada vários meses ou mesmo uma vez por ano ou menos. A frequência da dose será rapidamente entendida pelos versados na técnica e dependerá de inúmeros fatores tais como, mas sem limitação, o tipo e a gravidade da doença ou distúrbio que é tratado, o tipo e idade do animal etc.

EXEMPLOS EXPERIMENTAIS

[00317] A invenção é descrita adicionalmente em detalhes pela

referência aos exemplos experimentais a seguir. Estes exemplos são providos apenas com propósitos de ilustração, e não são pretendidos como limitantes, a menos que de outra forma especificada. Assim, a invenção não deve ser interpretada de maneira alguma como sendo limitada aos exemplos a seguir, mas certamente deve ser interpretada como incluindo qualquer e todas as variações que se tornam evidentes, em função dos preceitos aqui providos.

[00318] Sem descrição adicional, acredita-se que os versados na técnica, usando a descrição precedente e os exemplos ilustrativos a seguir, possam preparar e utilizar a presente invenção e praticar os métodos reivindicados. Os exemplos de trabalho a seguir, portanto, não devem ser interpretados como limitantes de maneira alguma no restante da descrição.

Exemplo 1: Polipeptídeos variantes de IL-18

[00319] IL-18 é uma citocina pró-inflamatória que pode estimular células T, NK e mieloides. Foi proposta como um agente imunoterapêutico para câncer, dada a sua capacidade de estimular células imunes antitumor. Da maneira aqui demonstrada, a eficiência terapêutica de tratamento com IL-18 recombinante é muito limitada por regulação crescente de sua IL-18BP inibidora solúvel endógena natural. A presente invenção é baseada, em parte, no desenvolvimento de variantes de IL-18 tanto de humano quanto de camundongo, que são quase totalmente independentes de IL-18BP. Os variantes de citocina exibem preferência relativa alterada para os receptores (IL-18R α e IL-18BP) em centenas de milhares a mais de um milhão de vezes. Estes variantes apresentam potente atividade antitumor em modelos de tumor pré-clínicos, tanto como monoterapias quanto em combinação com inibidores de ponto de controle imunológico, tal como anti-PD-1. Como uma aplicação adicional, IL-18 também apresenta um papel anti-obesidade bem estabelecido, e é demonstrado aqui que a administração dos variantes reduz muito a composição de gordura corporal, comparado ao tratamento com IL-18 WT. Os novos variantes apresentam assim indicações em

endocrinologia/metabolismo/obesidade, além das imunoterapias de tumor.

[00320] É também descrito aqui um conjunto adicional de variantes de IL-18 que atuam como antagonistas de IL-18BP pela ligação exclusiva de IL-18BP com ausência ou ligação muito reduzida de IL-18R α . É previsto que estas proteínas possam ser usadas para melhorar a atividade de IL-18 endógena neutralizando IL-18BP.

[00321] Os materiais e métodos empregados nestes experimentos são agora descritos.

Expressão e purificação de proteína

[00322] IL-18 de humano, IL-18 de camundongo (aminoácidos 1–157) e variantes dos mesmos, foram montados como *gBlocks* (Integrated DNA Technologies, IDT) e clonados em um vetor pET28a-smt para a expressão de proteínas N-terminais marcadas com sumo e C-terminais marcadas com hexahistidina em cepa de *E. coli* BL21 (DE3) Rosetta. A expressão de proteína foi induzida com IPTG 0,5 mM a 16 °C por 20 horas. As proteínas de fusão foram primeiro purificadas usando resinas de quelação com Ni, seguido pela clivagem da marcação sumo com protease sumo. As proteínas foram então separadas a partir de agregados por cortes sucessivos de sulfato de amônio, com agregados que precipitam em 20% de sulfato de amônio e as proteínas alvo em 70% de sulfato de amônio. Os precipitados de proteína foram ressuspensos e aplicados nas resinas de quelação com Ni novamente para remover marcações sumo, e foram submetidos a uma lavagem com remoção de endotoxina com 0,1% de Triton X-114. Finalmente, a proteína eluída teve seu tampão trocado para PBS por coluna PD-10 (GE Healthcare). A amostra de proteína foi testada por monodispersão por cromatografia com exclusão por tamanho usando uma coluna FPLC (Bio-Rad) e SEC650 (Bio-Rad).

[00323] O ectodomínio IL-18R α de humano (aminoácidos 19–329), ectodomínio IL-18R β (aminoácidos 15–356) e IL-18BP (aminoácidos 31–194) foram secretados e purificados por meio de um sistema de expressão de

baculovírus. Em resumo, todas as sequências de construção foram clonadas no vetor pAcBN-BH3 (BD Biosciences) com um peptídeo sinal N-terminal gp67 e uma marcação C-terminal com AviTagTM e hexa-histidina. As células de inseto *Spodoptera frugiperda* (Sf9), cultivadas a 27 °C em meio SF900 II SFM (Invitrogen), foram transfectadas com as construções de plasmídeo para estabelecer vírus recombinantes de alta titulação, os quais foram subsequentemente amplificados. Células de inseto *Trichopulsia ni* (High-Five) (Invitrogen), crescidas em meio Insect Xpress (Lonza) a 27 °C, foram infectadas com os vírus para expressar a proteína recombinante. Três dias após a infecção, as proteínas foram extraídas por meio de cromatografia de afinidade Ni-NTA (QIAGEN), concentradas e purificadas em >98% de homogeneidade com coluna de dimensionamento SEC650 (Bio-Rad) equilibrada em HEPES 10 mM (pH 7,5) e NaCl 150 mM.

[00324] Ectodomínio de IL-18R α de camundongo (aminoácidos 19–329) e IL-18BP (aminoácidos 31–194) foram produzidos como proteínas secretadas usando o sistema de expressão Expi293 (Thermo Fisher). Em resumo, todas as sequências de construção foram clonadas no vetor de expressão BacMam pEZT_D_Lux com um peptídeo sinal N-terminal H7 e uma marcação C-terminal AviTagTM e hexa-histidina. As células Expi293 cultivadas a 37 °C em meio de expressão Expi293 (Thermo Fisher) foram transfectadas com plasmídeos usando o kit de transfecção ExpiFectamine 293 (Thermo Fisher), de acordo com as instruções do fabricante. As células foram coletadas 3-5 dias após a transfecção. Os procedimentos de purificação de proteína foram os mesmos com as proteínas de humano.

[00325] Para a biotinilação de proteína, um peptídeo acceptor de biotina C-terminal (AviTag)-GLNDIFEAQKIEWHE foi fundido a todas as construções do receptor de IL-18. A biotinilação de proteína foi realizada com a enzima solúvel BirA ligase em Bicina 0,1 mM (pH 8,3), ATP 10 mM, acetato de magnésio 10 mM, e biotina 0,5 mM (Sigma). As proteínas foram

purificadas por exclusão por tamanho em uma coluna SEC650, da maneira descrita anteriormente.

Exibição em levedura de IL-18

[00326] O bloco de gene de IL-18 de humano e de camundongo (IDT) foi sintetizado e clonado no vetor pYAL e exibido na cepa *Saccharomyces cerevisiae* EBY100. As colônias individuais de levedura com IL-18 foram crescidas por toda a noite a 30 °C, em meios líquidos SDCAA e induzidas em meios líquidos SGCAA por 1 dia a 20 °C. Os níveis de exibição de IL-18 em levedura foram verificados por citometria de fluxo usando um anticorpo de marcação anti-cMyc (anti-myc-PE; Cell Signaling Technologies). A coloração do receptor com IL-18R α biotinilada (com ou sem IL-18R β) ou IL-18BP biotinilada foi realizada em PBS suplementado com 0,5% de BSA e EDTA 2 mM (PBE) no gelo. Todas as análises foram realizadas em um citômetro de fluxo Sony SA3800.

Construção e seleção de biblioteca de IL-18 de humano

[00327] Para a primeira biblioteca de IL-18 resistente a chamariz de humano, quatorze resíduos de contato hIL-18R α e hIL-18BP em hIL-18 (Tabela 1) foram identificados a partir de posições homólogas alinhando a estrutura do complexo hIL-18/hIL-18R α /hIL-18R β (Banco de dados de proteína (PDB ID) código 3OW4) com a estrutura de IL-18/IL-18BP (PDB ID 3F62). Uma biblioteca aleatória destes resíduos foi construída usando PCR de montagem com os oligonucleotídeos iniciadores degenerados listados na tabela 2. A biblioteca apresentou uma diversidade teórica de $\sim 1,96 \times 10^{11}$ sequências exclusivas de proteína. Os produtos de PCR foram amplificados adicionalmente com oligonucleotídeos iniciadores com homologia para o vetor pYAL, e co-eletroporados juntos com pYAL linearizado em levedura EBY100. A biblioteca resultante continha $2,5 \times 10^8$ transformantes.

[00328] Para a segunda biblioteca de OL-18 resistente à chamariz de humano V2.0, onze resíduos de contato hIL-18R α e hIL-18BP em hIL-18

foram selecionados para tornar aleatório, com uma diversidade teórica de $3,44 \times 10^9$ variantes (descrita na figura 7A). Uma biblioteca que escolhe aleatoriamente estes resíduos foi construída usando PCR de montagem, com os oligonucleotídeos iniciadores degenerados e co-eletroporados com pYAL em levedura EBY100. A biblioteca resultante apresentou uma diversidade de 6×10^8 transformantes.

Tabela 1: Primeiro desenho de biblioteca de IL-18 de humano

Resíduo	Códon	Resíduos potenciais
1Y	YNT	Y, F, S, C, L, P, H, R
L5	NWT	L, F, I, Y, H, N, V, D
8K	MRA	K, R, R, Q
51M	RNS	M, I, T, N, K, S, R, V, A, D, E, G
53K	ARA	K, R
55S	RRW	S, R, G, G, N, K, D, E
59G	RNA	G, E, A, V, I, T, K, R
60M	VDG	M, K, R, L, Q, R, V, E, G
103Q	VAW	Q, K, E, D, N, H
105S	RRW	S, K, R, N, D, E, G, G
110D	VAW	D, E, K, N, Q, H
111N	NAT	N, D, H, Y
153V	RHT	V, A, D, I, T, N
155N	VAW	N, K, D, E, Q, H

Tabela 2: Oligonucleotídeos iniciadores para montagem da primeira biblioteca de IL-18 de humano

Oligonucleotídeo iniciador	Sequência (5' para 3')
hIL18Lib1	CATTTTCATTAAGATGCAGTTACTTCGCTGTTTCAATATTTCTG TTATTGCTAGC (SEQ ID NO: 1)
hIL18Lib2	AATTACGGATGACCGAAAGTYKGGATTCAWNCTGCCGAAANRT GCTAAAACGCTAGCAATAACAGAAAATATTGAAAAAA (SEQ ID NO: 2)
hIL18Lib3	ACTTTCGGTCATCCGTATTGAACGACCAAGTCCTTTTATTGAC CAGGG (SEQ ID NO: 3)
hIL18Lib4	ACTATCCGTCATATCCTCGAATAAGGGACGATTGCCCTGGTCAAT AAAAAGGACT (SEQ ID NO: 4)
hIL18Lib5	CTTATTGAGGATATGACGGATAGTGATTGCCGTGACAACGCC (SEQ ID NO: 5)
hIL18Lib6	ACTGAGATTGTTACCGCCHBTNYACGGGGTTGWYYATCTYTATAS NYAGAGATGATGAAAATTGTACGAGGGCGTTGTACCGG (SEQ ID NO: 6)
hIL18Lib7	GGCGGTAACAATCTCAGTTAACGTGCGAAAAAAATCTCGACACTTTC TTGTGAA (SEQ ID NO: 7)
hIL18Lib8	GGTCATTTCTTGAACGAAATGATCTTGTTCACAAGAAAGTGT CGAGATT (SEQ ID NO: 8)
hIL18Lib9	CATTCGTTCAAGGAAATGAACCCGCCGGATAATATCAAGGATAC AAAATCAGATATTATT (SEQ ID NO: 9)
hIL18Lib10	TGATGAGCTCTCGAATTGCATCTTATNWTBGTGTCCAGGCACWYY ACGWTBGAAGAAAATAATCTGATTTGTATCCTTGATATTA (SEQ ID NO: 10)
hIL18Lib11	ATAAGATGCAATTGAGAGCTCATACGAAGGTTACTTTTAG CCTGCG (SEQ ID NO: 11)

hIL18Lib12	AATTAACCTAACAGGT CGCGCTCCTCTCGCAGGCTAAAAAGTA ACCTT (SEQ ID NO: 12)
hIL18Lib13	GCGACCTGTTAAGTTAATTCTTAAGAAAGAAGATGAGTTGGGGG ATCG (SEQ ID NO: 13)
hIL18Lib14	CCAGAACCCACCGTCCTCWTBCTGADYGGTAAACATGATGCTACG ATCCCCCAACTCATCTT (SEQ ID NO: 14)
hIL18Lib15	GAGGACGGTGTTCTGGATCCGAACAAAAGCTTATCTCCGAAGAA GACTTGG (SEQ ID NO: 15)
hIL18Lib16	CCACCAGATCCACCACCAAGTCTTCTCGGAGATAAG (SEQ ID NO: 16)

[00329] Para ambas as bibliotecas, as leveduras transformadas foram recuperadas e expandidas em meio de dextrose sintético líquido com meio de casaminoácidos (SDCAA) a 30 °C, e induzidas por diluição 1:10 em meio líquido de galactose sintético com meio de casaminoácidos (SGCAA) e cultivadas a 20 °C por 24 horas. Os números apropriados de levedura induzida foram usados em cada ciclo para garantir pelo menos 10 vezes a cobertura da diversidade esperada da biblioteca em cada etapa, e não menos que 10⁸ células. Todas as etapas de seleção foram realizadas a 4 °C usando tampão PBE (PBS com 0,5% de BSA e EDTA 2 mM). Para a biblioteca de primeira geração, cada um dos reagentes de seleção do ciclo é listado na tabela 3. Para o ciclo 1, as leveduras foram contra-selecionadas com microesferas anti-Cy5/AlexaFluor 647 (Miltenyi) e uma coluna LS MACS (Miltenyi) para remover aglutinantes de esferas não específicos. A seleção positiva foi realizada marcando as leveduras com hIL-18R α biotinilada 1 μ M por 1 hora a 4 °C, seguido pela seleção magnética com microesferas SA/AlexaFluor 647 e uma coluna de LS MACS. Para o ciclo 2, a contra-seleção foi realizada com IL-18BP biotinilada 1 μ M, com seleção positiva idêntica ao ciclo 1. Para os ciclos 3-5, a seleção foi realizada incubando leveduras com IL-18R α biotinilada 100 nM (ciclos 3-4) ou 10 nM (ciclo 5) e 250 nM pré-formada, tetrâmeros de hIL-18BP/SA-PE selados com biotina. Após a ligação por competição, as leveduras foram lavadas e marcadas com SA AlexaFluor 647 para detectar IL-18R α . Os níveis de exibição foram determinados corando com anti-cMyc conjugado com AlexaFluor 488 (Cell Signaling Technologies), e o 1% superior dos aglutinantes de IL-18R α de exibição

normalizada (fora os não aglutinantes de IL-18BP) foram isolados usando FACS com um classificador de células Sony SA3800. Após cada ciclo de seleção, as leveduras recuperadas foram expandidas em meio SDCAA a 30 °C por toda a noite, e posteriormente induzidas a 20 °C por uma diluição 1:10 em meio SGCAA por 24 horas.

[00330] A biblioteca de DR-IL-18 de humano V2.0 foi selecionada de uma maneira similar, com etapas de seleção específica elaboradas na figura 7B.

Construção e seleção de biblioteca de IL-18 de camundongo

[00331] Os procedimentos de construção e seleção são similares à IL-18 de humano, com as alterações a seguir. A construção da biblioteca foi informada por uma estrutura complexa de IL-18 de camundongo/receptor modelada em sílico (prevista por Phyer2.0). Treze posições foram escolhidas para seleção aleatória (Tabela 3) usando oligonucleotídeos iniciadores descritos na tabela 4. A co-eletroporação com pYAL rendeu uma biblioteca de 4×10^8 transformantes. Os reagentes de seleção usados para cada ciclo são listados na tabela 5.

Tabela 3: Desenho de biblioteca de IL-18 de camundongo

Resíduo	Códon	Resíduos potenciais
1N	NWT	F, Y, L, H, I, N, V, D
50M	RNS	M, I, T, N, K, S, R, V, A, D, E, G
51Y	NRN	Y, K, R, D, E
52K	VNS	L, P, H, Q, R, I, M, T, N, K, S, V, A, D, E, G
54S	RRW	S, R, G, G, N, K, D, E
55E	VRN	E, K, N, R, S, R, H
56V	VNV	V, S, P, T, A, K, R
57R	RVW	R, D, E, S, T
58G	RNA	G, E, A, V, I, T, K, R
59L	VDR	L, K, R, Q, R, V, E, G
104R	NDH	R, D, E, N, Y, F, I, L, V
109N	NAT	N, D, H, Y
151L	VHY	L, V, A, D, I, T, N

Tabela 4: Oligonucleotídeos iniciadores para montagem de biblioteca de IL-18 de camundongo

Oligonucleotídeo iniciador	Sequência (5' para 3')
mIL18lib1	CATTTTCATTAAGATGCAGTTACTCGCTGTTCAATATTTCTGTTATT GCTAGCGTTT (SEQ ID NO: 17)

mIL18lib2	TTGTACAGTGAAGTCGGCCAAA WNTGCTAAACGCTAGCAATAACAGA AAATAT (SEQ ID NO: 18)
mIL18lib3	GCCGACTTCACTGTACAACCGCAGTAATACGGAATATAATGACCAAGTT CTCTTCGTT (SEQ ID NO: 19)
mIL18lib4	TTGATCAATATCAGTCATATCCTCGAACACACAGGCTGTCTTTGTCAACGA AGAGAACTTGGTCATT (SEQ ID NO: 20)
mIL18lib5	GTGTTCGAGGATATGACTGATATTGATCAAAGTGCCAGTGAACCCCAGAC CAGA (SEQ ID NO: 21)
mIL18lib6	TCACAGAGAGGGTCACAGCYHBTNYWBYBNBNYWYYGTCNSBNYNNSN YGTATATTATCAGTCTGGTCTGGGTTCAC (SEQ ID NO: 22)
mIL18lib7	GCTGTGACCCTCTCTGTGAAGGATAGTAAAATGTCTACCCTCTCCTGTAA GAACAAGA (SEQ ID NO: 23)
mIL18lib8	GTATATCATCAATATTTAGGTGGATCCATTCCCTCAAAGGAAATGATC TTGTTCTTACAGGAGAGGG (SEQ ID NO: 24)
mIL18lib9	AATGGATCCACCTGAAAATATTGATGATATACAAAGTGTCTCATATTCT TTCAGAAANDHGTCCAGGACACNATAAGATGGAGTTGAATCTTCACT (SEQ ID NO: 25)
mIL18lib10	CCTTTGGCAAGCAAGAAAAGTGTCCCTCATACAGTGAAGAGATTCAAACCTCC ATCTTAT (SEQ ID NO: 26)
mIL18lib11	CTTTCTGCTGCCAAAAGGAAGATGATGCTTCAAACTCATTCTGAAAA AAAAGGATGA (SEQ ID NO: 27)
mIL18lib12	CCACCACTTTGATGTAAGTTAGTRDBAGTGAACATTACAGATTATCCCC ATTTCATCCTTTCTCAGAATGAG (SEQ ID NO: 28)
mIL18lib13	ACTAACTTACATCAAAGTGGTGGTCTGGATCCGAACAAAAGCTTATCTC CGAAGAAGA (SEQ ID NO: 29)

Tabela 5: Sumário de reagentes de seleção de biblioteca

	Seleção de biblioteca de IL-18 de humano		Seleção de biblioteca de IL-18 de camundongo	
	Contra-seleção	Seleção positiva	Contra-seleção	Seleção positiva
Round1	SA-esferas sozinhas	hIL-18R α -SA-esferas 1 μ M	-----	IL-18R α -SA-esferas 1000 nM
Ciclo2	IL-18BP 1 μ M	IL-18R α -SA-esferas 1 μ M	-----	1 μ M IL-18R α
Ciclo3	IL-18BP 1 μ M	hIL-18R α 100 nM	IL-18BP 1 μ M	IL-18R α 1 μ M
Ciclo4	IL-18BP 1 μ M	hIL-18R α 10 nM	IL-18BP 1 μ M	IL-18R α 100 nM
Ciclo5	Tetrâmero IL-18BP 250 nM	hIL-18R α 10 nM	IL-18BP 1 μ M	IL-18R α 10 nM
Ciclo6	-----	-----	IL-18BP tetrâmero 250 nM	IL-18R α 200 nM

Ressonância plasmática de superfície

[00332] Os experimentos foram conduzidos usando um Biacore T100 e realizados a 25 °C. IL-18R α ou IL-18BP biotinilada foram imobilizadas em um chipe de captura de biotina Biacore (chipe sensor Series S CAP, GE Healthcare) para render um Rmax de ~50 RU (IL-18R α) ou ~10 RU (IL-18BP). As medições foram realizadas com diluições seriadas dos variantes de IL-18 em salina tamponada HEPES-P+ tampão (HEPES 10 mM pH 7,4, NaCl 150 mM, agente tensoativo 0,005% P20). O agente tensoativo foi regenerado por três injeções de 60-sec de tampão de regeneração (3/4 (v/v) 8M de cloridrato de guanidina com 1/4 (v/v) 1M de hidróxido de sódio). Os

experimentos foram realizados em múltiplos canais simultaneamente para maiores observações. Todos os dados foram analisados com o software de avaliação Biacore T100 versão 2.0 com um modelo de ligação Langmuir 1:1.

Linhagens celulares

[00333] As células sensoriais HEK-Blue IL-18 (InvivoGen) foram mantidas em meios completos (DMEM contendo 10% de FBS inativado pelo calor, L-glutamina 2 mM, penicilina 50 U/mL, e estreptomicina 50 µg/mL) suplementado com Normocina 100 µg/mL, Blasticidina 30 µg/mL, Zeocina 180 µg/mL, e Higromicina 200 µg/mL. Células de melanoma YUMMER1.7 foram cultivadas e preparadas da maneira previamente descrita (Wang et al., 2017, Pigment Cell Melanoma Res., 30(4):428-435).

Ensaio de atividade de citocina HEK-Blue

[00334] Para avaliações da atividade de citocina, 50.000 células sensoriais IL-18 HEK-Blue por poço de uma placa de fundo chato de 96 poços foram incubadas com IL-18 de humano recombinante em concentrações sucessivamente decrescentes, em um volume total de 200 µL de meios completos. Após 20 - 24 horas de incubação a 37 °C e 5% de CO₂, 30 µL do sobrenadante de cultura de células foram misturados com 170 µL de meios de detecção QUANTI-Blue (InvivoGen), e incubados a 37 °C e 5% de CO₂ até uma alteração de cor de rosa para azul ser detectada (0,5 - 4 horas). Os níveis de fosfatase alcalina foram quantificados usando um espectrofotômetro em comprimento de onda de 655 nM. A atividade de citocina foi determinada calculando o valor relativo de absorbância (percentual do valor da absorbância máxima medido a 655 nM) para cada citocina no ensaio.

[00335] Para os experimentos de bloqueio de IL-18BP, uma concentração fixa de IL-18 de humano recombinante foi pré-incubada com IL-18 de humano recombinante BP em sucessivas concentrações decrescentes por 1 hora a 4 °C. Subsequentemente, a mistura de proteína foi adicionada às

células sensoriais IL-18 HEK-Blue e o ensaio foi realizado da maneira descrita.

Camundongos

[00336] Camundongos C57BL/6 tipo selvagem (6-9 semanas) do laboratório Jackson foram usados para experimentos em camundongos *in vivo*. Grupos experimentais foram combinados por peso, sexo e idade. Todos os experimentos com animal foram conduzidos em conformidade com aprovação do Yale Institutional Animal Care and Use Committee.

Estudos farmacodinâmicos e farmacocinéticos *in vivo*

[00337] Os camundongos (n=9 por grupo) receberam diariamente injeções intraperitoneais (i.p.) de IL-18 recombinante 1 mg/kg (WT ou variante de mCS2), ou PBS como veículo controle. No dia 1, dia 4, e dia 7 do experimento, 3 camundongos por grupo foram sacrificados 5 horas após a injeção para coleta de sangue por meio de punção cardíaca, e análise subsequente de plasma sanguíneo ou células brancas do sangue (vide ELISA de IL-18 BP de camundongo, imunoensaio multiplex a base de Luminex para análise de citocina de camundongo, bem como imunofenotipagem por meio de citometria de fluxo) foi realizada. Durante os 7 dias do experimento, as temperaturas corporais foram monitoradas diariamente usando o termômetro BIO-TK8851 (Bioseb) de roedor e a sonda retal RET 3 para camundongos (Braintree Scientific Inc.). Os pesos corporais foram monitorados diariamente.

Preparação de plasma a partir do sangue completo

[00338] A preparação do plasma a partir do sangue completo foi realizada usando tubos separadores de plasma Microtainer revestidos de EDTA (BD), de acordo com as instruções do fabricante. As amostras de plasma foram congeladas uma vez a -20 °C, antes de serem usadas para ensaios analíticos.

ELISA para IFN- γ e IL-18BP

[00339] Para avaliar níveis de IFN- γ de humano no sobrenadante de cultura de células, o conjunto ELISA MAX Deluxe de IFN- γ de humano (BioLegend), com uma sensibilidade de 4 pg/mL e uma faixa de detecção de 7,8 – 500 pg/mL, foi usado de acordo com as instruções do fabricante. Para a quantificação de IL-18BP de humano no sobrenadante de cultura de células, o imunoensaio Quantikine de IL-18BP de humano (R&D Systems) com uma sensibilidade de 7,52 pg/mL e uma faixa de detecção de 26,6 – 1.700 pg/mL foi usado. Os níveis de IL-18BP de camundongo no plasma sanguíneo foram quantificados usando o kit de ELISA para IL-18BP de camundongo (R&D Systems) com uma sensibilidade de 0,156 ng/mL e uma faixa de detecção de 0,156 – 10 ng/mL. Todos os ensaios que incluem a preparação de amostra foram realizados de acordo com as instruções do fabricantes.

Ensaio multiplex à base de Luminex para análise de citocina de camundongo

[00340] Para quantificar uma variedade de níveis de citocina de camundongo em plasma sanguíneo, incluindo IFN- γ e IL-12, o imunoensaio multiplex Bio-Plex Pro à base de luminex (Bio-Rad) foi realizado usando o Bio-Plex 200 System (Bio-Rad). As citocinas de interesse foram analisadas usando o *Bio-Plex Pro Mouse Cytokine Standard 23-Plex* (grupo I), reconstituído em DMEM, seguindo as instruções do fabricante.

Imunofenotipagem por meio de citometria de fluxo

[00341] Para análise de glóbulo branco, 100 μ L de sangue total foram coletados em um tubo separador de plasma Microtainer revestido com EDTA (BD), adicionalmente contendo 50 μ L de solução de Heparina, e misturados por inversão várias vezes. A lise de célula vermelha do sangue foi realizada adicionando tampão de lise ACK (VWR) e incubando por 3 - 5 minutos em temperatura ambiente. Após adicionar tampão MACS (EDTA 2 mM, 2% de FBS, em PBS), células de glóbulos brancos foram coletadas por centrifugação (5 minutos, 400 \times g, 4 °C) e aspiradas do sobrenadante. As células de glóbulos brancos foram lavadas uma vez com tampão MACS frio, e coletadas

novamente da maneira descrita. O precipitado celular foi ressuspenso em 200 µL de tampão MACS contendo 10% (v/v) de soro de rato (STEMCELL Technologies Inc.) e anticorpos marcados fluorescentemente específicos para coloração, para análise subsequente por citometria de fluxo. A coloração foi realizada por 30 minutos a 4 °C usando os seguintes anticorpos: αCD4-AF700 (BioLegend), αCD8-APC (BioLegend), B220-APC-Cy7 (BioLegend), CD11b-PB (BioLegend), NK1.1-PE (BioLegend), NKp46-PE (BioLegend), e CD69-FITC (BioLegend). Posteriormente, as células de glóbulos brancos foram lavadas duas vezes com tampão MACS, da maneira descrita anteriormente. Finalmente, as células foram ressuspensas em 100 µL de tampão MACS e as amostras foram adquiridas usando o citômetro de fluxo (Sony SA3800). Uma alíquota de 10 µL foi obtida para realizar contagem celular usando o contador de células automatizado Invitrogen Countess II (Thermo Fisher Scientific). O software FlowJo v10.3 foi usado para análise de dados, e as células foram bloqueadas por leucócitos e eventos simples usando a dispersão lateral e para frente.

Experimentos de tratamento de tumor

[00342] 0,5 × 10⁶ células YUMMER1.7 foram implantadas subcutaneamente em camundongos C57BL/6J. 7 daisas após implantação, quando tumores estavam aproximadamente com 50 mg, o tratamento foi iniciado. Os camundongos foram divididos em coortes de tratamento que incluíram: 1) veículo (salina), 2) anti-PD1 (clone de rato RMP1-14, Bio X Cell, West Lebanon, New Hampshire, Estados Unidos), 3) IL-18 tipo selvagem, 4) mCS2, 5) IL-18 tipo selvagem + anti-PD-1, e 6) CS2 IL-18 + anti-PD1. Anti PD-1, IL-18 tipo selvagem e mCS2 IL-18 foram administrados por meio de injeção intraperitoneal duas vezes por semana em 8 mg/kg, 0,32 mg/kg e 0,32 mg/kg, respectivamente. Os camundongos foram monitorados por sinais de toxicidade clínica, e o crescimento de tumor foi rastreado duas vezes por semana usando medições calibradas. Os camundongos foram

eutanasiados quando o diâmetro do tumor atingiu ou excedeu 1,5 cm em maior dimensão; este foi considerado o ponto final para análises de sobrevivência.

[00343] Estudos de YUMMER1.7 deficientes em B2m foram conduzidos de uma maneira similar, com pequenas alterações. $1,0 \times 10^6$ células foram enxertadas, uma vez que tumores cresceram mais lentamente que a cepa parental. Os tratamentos consistiram em salina, anti-PD1 e anti-CTLA4 e mCS2, fornecidos no mesmo esquema e dose do estudo anterior.

[00344] Os resultados dos experimentos são agora descritos.

O eixo IL-18 como um alvo para imunoterapia para câncer

[00345] Para identificar nós de sinalização potenciais para intervenção imunoterapêutica, dados de RNAseq de célula única a partir de linfócitos que infiltram no tumor foram analisados em relação à expressão de componentes da via de citocina (Singer et al., 2016, Cell, 166:1500-1511, e1509). Da maneira observada na figura 1A, as subunidades do receptor para IL-18-IL-18R α (isto é, IL-18R1) e IL-18R β (isto é, IL-18RAP)- bem como a própria IL-18, foram reguladas de maneira crescente tanto em programas de linfócito ativado quanto disfuncional. A análise adicional da base de dados *Immunological Genome* (ImmGen) revelou que a expressão de ambas as subunidade do receptor de IL-18 estava correlacionada com expressão de marcadores de “exaustão” de célula T em células CD4 e CD8, incluindo PD-1, Tim3, Lag3, e TIGIT após exposição crônica de antígeno (Figura 1B). Estas características de expressão sugerem que a via de IL-18 pode ser usada para estimular seletivamente as células T ativadas e disfuncionais/exaustas em tumores como um paradigma imunoterapêutico.

[00346] IL-18 é uma citocina Th1 inicialmente denominada “fator indutor de interferon-gama” (IGIF) por sua capacidade de estimular de maneira fortemente a liberação de interferon gama (IFN- γ) por células T e NK. A inibição da retroalimentação de IL-18 é atingida pela indução

direcionada ao IFN- γ de IL-18BP, um receptor de chamariz secretado com alta afinidade para IL-18, que impede estericamente a capacidade de IL-18 de se ligar e ativar seu receptor (Figura 2A). Sem querer ficar preso a nenhuma teoria particular, este mecanismo é reminiscente da indução de PD-L1 por IFN- γ , sugerindo que IL-18BP pode atuar como um “ponto de controle imunológico solúvel”. Consistente com esta hipótese, observa-se que IL-18BP é regulado de maneira crescente em vários tipos de câncer, mais notavelmente câncer de mama, gástrico e cerebral nas bases de dados TCGA e Oncomine (Figura 2B). Além disso, a expressão de IL-18BP se correlaciona fortemente com a expressão do ponto de controle imunológico crucial PD-1 em tumores ($r=0,65$ e $0,78$ no câncer gástrico e de mama respectivamente, Figura 2C), sugerindo que IL-18BP também pode contribuir com a evasão imunológica do tumor e exaustão do linfócito.

[00347] IL-18 recombinante foi administrada aos pacientes com câncer em múltiplos testes clínicos. Verificou-se ser bem tolerado, embora em doses elevadas de 2 mg/kg, com resultados farmacodinâmicos robustos, incluindo a expansão de células exterminadoras naturais (NK) CD69 $^{+}$ ativadas e aumentos acentuados nos níveis séricos de IFN- γ . Entretanto, um teste de fase II de paciente com melanoma foi descontinuo em virtude da perda de eficiência. O exame dos resultados farmacodinâmicos relatados a partir destes testes clínicos revelou que a eficiência de rIL-18 diminui com a dosagem repetida, com taquifilaxia observada com relação a ativação/expansão de célula NK periférica e liberação de citocina (incluindo IFN- γ e GM-CSF). A eficiência diminuída de rIL-18 coincide com um aumento acentuado nos níveis séricos de IL-18BP, mais de duas ordens de magnitude com relação aos níveis de pré-tratamento e excedendo frequentemente 100 ng/mL. Sem querer ficar preso a nenhuma teoria em particular, hipotetisa-se que IL-18BP limita a eficiência da terapia com rIL-18, e que variantes de IL-18 que são insensíveis à inibição de IL-18BP podem ser imunoterapias contra tumor eficientes.

Adicionalmente, inibidores de IL-18BP serão provavelmente eficiente para imunoterapia contra tumor.

Variantes de IL-18 geneticamente modificados que são resistentes à inibição de IL-18BP (variantes de DR-IL-18 de humano)

[00348] Para obter variantes de IL-18 que podem sinalizar por meio de IL-18R α /IL-18R β , mas são insensíveis à inibição por IL-18BP, a evolução direcionada com exibição de superfície em levedura foi utilizada. A estrutura do complexo de sinalização terciário de IL-18 de humano:IL-18R α :IL-18R β (PDB = 3OW4) foi primeiro analisada, e os resíduos de IL-18 que apresentavam uma interface compartilhada com o complexo de sinalização e IL-18BP foram identificados (Figura 3A). uma vez que a estrutura de hIL-18:hIL-18BP não foi determinada, um complexo relacionado entre IL-18 e um ortólogo viral (vírus ectromelia) de IL-18BP foi utilizado (PDB = 3F62). Uma biblioteca combinatória, que torna aleatório este conjunto de resíduos em um conjunto definido de alternativas (vide Tabela 1), foi criada usando oligonucleotídeos iniciadores degenerados e PCR de montagem. Esta biblioteca foi eletroporada em levedura junto com o vetor de exibição de levedura N-terminal pYAL para obter uma biblioteca com $2,5 \times 10^8$ transformantes. Usando esta biblioteca, a evolução direcionada foi realizada conduzindo ciclos sucessivos de seleção, usando separação magnética e fluorescente de células (FACS) com hIL-18R α recombinante, e contra-seleção com hIL-18BP, da maneira resumida na figura 3B. Após cinco ciclos de seleção, a maioria nítida dos clones da biblioteca trocou completamente sua preferência relativa para hIL-18BP e hIL-18R α , comparada à hIL-18 WT (Figura 3C). Estes clones foram determinados como variantes de “DR-hIL-18”, onde “DR” significa “resistente a chamariz”.

[00349] O sequenciamento de 96 clones a partir dos pós agrupamentos de cinco ciclos revelou 21 sequências exclusivas, que foram analisadas para criar quatro “sequências consensuais”, hCS1-4 (Figura 4). Para estimar as

afinidades de ligação destes variantes para hIL-18R α e hIL-18BP, isotermais de ligação foram estabelecidos para ligação de hIL-18R α e IL-18BP usando variantes de citocina exibidos em levedura e citometria de fluxo. Da maneira observada na figura 5A, os variantes de DR-hIL-18 se ligaram à hIL-18R α com afinidade comparável à IL-18 WT, mas mostraram ligação muito atenuada à hIL-18BP, com valores EC₅₀ de ligação evidente significativamente maiores que 1 μ M. Para caracterizar adicionalmente as atividades de ligação do receptor dos variantes de DR-IL-18, as citocinas foram expressas de maneira recombinante, e a ressonância plasmática de superfície para IL-18R α e IL-18BP foi realizada (vide Figura 5B para traços representativos). Estes resultados são sumarizados nas tabelas 6 e 7, e demonstram que os variantes de DR-hIL-18 apresentam uma preferência muito diminuída por IL-18BP, comparado à IL-18R α , em várias ordens de grandeza.

Tabela 6: Afinidades de ligação de IL-18R α e IL-18BP dos variantes de IL-18 de humano por isotermais que se ligam em levedura.

Variante de IL-18	K _D IL-18R α (M)	K _D IL-18BP (M)	Razão K _D : IL-18BP/IL-18R α	Razão de constante de dissociação normalizada para IL-18 WT
hIL-18 WT	2,40E-08	7,08E-09	2,95E-01	1
hA8	5,77E-08	NBD	>3,47E+02	>1,17E+03
hH3	8,38E-08	NBD	>2,39E+02	>8,09E+02
hB9	1,27E-07	NBD	>1,57E+02	>5,34E+02
hCS1	6,44E-08	1,93E-05	3,00E+02	1,02E+03
hCS2	9,15E-08	NBD	>2,19E+02	>7,41E+02
hCS3	1,13E-07	1,16E-05	1,03E+02	3,48E+02
hCS4	1,60E-07	NBD	>1,25E+02	>4,24E+02
6-31	4,1E-08	NBD	4,9E+02	>7,2E+03
6-20	N.D.	3,4E-07	-----	-----
6-12	1,7E-08	NBD	1,2E+03	>1,7E+04
6-27	4,2E-08	NBD	4,8E+02	>7,0E+03
6-29	3,7E-08	NBD	5,4E+02	>8,0E+03

NBD, sem ligação detectada (20 μ M usado para cálculos de razão)

-----, valor não determinado

Tabela 7: Afinidades de ligação de IL-18R α e IL-18BP dos variantes de IL-18 de humano por SPR

Variante de IL-18	K _D IL-18R α (M)	K _D IL-18BP (M)	Razão K _D : IL-18BP/IL-18R α	Razão de constante de dissociação normalizada para IL-18 WT

hIL-18 WT	2,93E-09	1,90E-12	6,48E-04	1
hA8	-----	-----	-----	-----
hH3	-----	-----	-----	-----
hB9	-----	-----	-----	-----
hCS1	8,05E-09	1,94E-08	2,41E+00	3,72E+03
hCS2	1,31E-08	-----	-----	-----
hCS3	8,18E-09	1,86E-08	2,27E+00	3,50E+03
hCS4	4,38E-09	1,83E-07	4,18E+01	6,45E+04

-----, valor não determinado

Caracterização funcional de variantes de DR-IL-18 de humano

[00350] Um relatório prévio de Kim et al (Kim et al., 2001, Proc Natl Acad Sci U S A, 98(6):3304-9) descreveu variantes de 3 hIL-18 com melhor atividade e inibição supostamente diminuída por IL-18BP: E42A, K89A, e E42A/K89A. Estes variantes de citocina foram exibidos em levedura e a inibição de IL-18BP por ligação de IL-18R α foi avaliada por citometria de fluxo. Da maneira observada na figura 6A, enquanto os variantes de DR-hIL-18 foram insensíveis à inibição de ligação de hIL-18R α por hIL-18BP, os variantes de Kim et al mostraram neutralização de hIL-18BP aproximadamente equivalente, comparada à hIL-18 WT. Estes resultados indicam que os variantes de DR-hIL-18 são independentes de IL-18BP, ao passo que os variantes de Kim et al são muito sensíveis à inibição de IL-18BP, similar à hIL-18 WT.

[00351] Para confirmar que a DR-hIL-18 pode render sinalização produtiva através do receptor de IL-18 em um contexto celular, os experimentos de concentração-resposta foram realizados usando a linhagem celular repórter HEK-blue IL-18. Neste sistema, a sinalização de IL-18R é lida pela expressão de fosfatase alcalina secretada (SEAP) a jusante de um promotor NF κ b/AP1. Na ausência de IL-18BP, variantes de DR-hIL-18 renderam valores de sinalização de EC50 proporcionais à hIL-18 WT. Entretanto, os variantes de DR-hIL-18 não demonstraram virtualmente nenhuma inibição por hIL-18BP, sem nenhuma inibição detectável em IL-18BP 1 μ M (Figura 6B). Obtidos juntos, estes estudos estabelecem que os variantes de DR-hIL-18 são biologicamente ativos e insensíveis à neutralização por IL-18BP em um contexto de sinalização celular.

Modificação genética e caracterização de variantes de IL-18 de humano de segunda geração que são resistentes à inibição por IL-18BP (variantes de DR-IL-18 v2.0 de humano)

[00352] Para obter variantes de DR-IL-18 de humano adicionais e potencialmente melhorados, uma segunda biblioteca de IL-18 de humano tornada aleatória em 11 posições (Figura 7A) foi determinada, e a levedura foi transformada da maneira descrita anteriormente. A biblioteca resultante de 6×10^8 transformantes foi selecionada da maneira esboçada em (Figura 7B), produzindo uma forte preferência por IL-18R α , comparada à IL-18BP, com sucessivas etapas de seleção (Figura 7C). 17 sequências exclusivas foram registradas após 5-6 ciclos de seleção (Figura 8). (Figura 9A) Comparados à IL-18 WT, os clones 6-12, 6-27, 6-29 e 6-31 apresentaram ligação igual ou de alguma maneira mais forte à IL18R α , da maneira medida por isotermas que se ligam à levedura com IL18R α biotinilada. (Figura 9B) Entretanto, estes clones não exibiram nenhuma ligação aparente à IL-18BP. (Figura 9C) A medição da estabilidade térmica aplicando uma faixa de temperaturas aos clones exibidos em levedura mostrou que estes foram mais estáveis termicamente do que IL-18 WT a 7-13 °C. Estes resultados são sumarizados em (Figura 9D).

Variantes de IL-18 geneticamente modificados que são resistentes à inibição de IL-18BP (variantes de DR-IL-18 de murino)

[00353] Uma vez que a reatividade cruzada entre espécies de IL-18 para IL-18R α de humano e camundongo é pobre, equivalentes murinos dos variantes de DR-IL-18 que podem ser usados para estudos em camundongos foram criados. Similar à abordagem obtida para hIL-18 anterior, uma biblioteca combinatória de variantes mIL-18 que torna aleatório um conjunto similar de resíduos de contato mIL-18R α /mIL-18BP (Tabela 3) foi criada, produzindo uma biblioteca de 4×10^8 transformantes. A evolução direcionada foi realizada nesta biblioteca similar a como foi realizada com a biblioteca de

IL-18 de humano; a estratégia de seleção é resumida na figura 10A. Após a finalização de seis ciclos de seleção, os clones restantes apresentaram uma preferência quase completa por mIL-18R α em relação a mIL-18BP (Figura 10B). A análise de 96 clones revelou 11 sequências exclusivas, das quais foram derivadas duas sequências consensuais mCS1 e mCS2 (Figura 10C). Os experimentos com isotermas de ligação de levedura e ressonância plasmática de superfície confirmaram que estes clones DR-IL-18 apresentaram uma independência ainda maior para IL-18BP do que os variantes de IL-18 de humano aqui descritos, com a KD de ligação de mIL-18BP sendo bem acima de 1 μ M, com a ligação de mIL-18R α permanecendo aproximadamente igual à mIL-18 WT (Figura 11A, Figura 11B, Tabelas 8 e 9).

Tabela 8: Afinidades de ligação de IL-18R α e IL-18BP dos variantes de IL-18 de camundongo por isotermas que se ligam em leveduras

variante de IL-18	K _D IL-18R α (M)	K _D IL-18BP (M)	Razão K _D : IL-18BP/IL-18R α	Razão de constante de dissociação normalizada para IL-18 WT
mIL-18 WT	1,13E-08	2,13E-09	1,88E-01	1
mA7	1,35E-08	NBD	>7,41E+02	>3,93E+03
mB1	1,79E-08	NBD	>5,59E+02	>2,96E+03
mE8	4,20E-08	NBD	>2,38E+02	>1,26E+03
mC1	4,30E-08	NBD	>2,33E+02	>1,23E+03
mCS1	1,07E-08	NBD	>9,35E+02	>4,96E+03
mCS2	1,13E-08	NBD	>8,85E+02	>4,69E+03

NBD, nenhuma ligação detectada (10 μ M usados para cálculos de razão)

Tabela 9: Afinidades de ligação de IL-18R α e IL-18BP dos variantes de IL-18 de camundongo por SPR

variante de IL-18	K _D IL-18R α (M)	K _D IL-18BP (M)	Razão K _D : IL-18BP/IL-18R α	Razão de constante de dissociação normalizada para IL-18 WT
mIL-18 WT	6,00E-10	1,10E-12	1,83E-03	1
mA7	2,20E-10	1,39E-05	6,32E+04	3,45E+07
mB1	7,00E-10	1,47E-05	2,10E+04	1,15E+07
mE8	1,69E-09	NBD	>1,78E+04	>9,68E+06
mC1	1,09E-09	2,87E-05	2,63E+04	1,44E+07
mCS1	5,40E-10	3,80E-06	7,04E+03	3,84E+06
mCS2	7,90E-11	1,05E-05	1,33E+05	7,25E+07

NBD, nenhuma ligação detectada (30 μ M usado para cálculos de razão)

Estudos de farmacodinâmica *in vivo* de variantes de DR-IL-18

[00354] Para avaliar os efeitos biológicos da administração dos variantes de DR-IL-18 *in vivo*, estudos de farmacodinâmica foram realizados em camundongos, comparando mIL-18 WT com mCS2. No primeiro estudo, os camundongos foram tratados com veículo (PBS), mIL-18 (1 mg/kg/dia), ou mCS2 (1 mg/kg/dia) por um total de sete injeções (Figura 12A). A análise de fenótipos de sangue periférico por citometria de fluxo mostrou que tanto mIL-18 WT quanto mCS2 aumentaram números de célula NK periférica acima de dez vezes, e contagens de monócito periférico acima de cinco vezes, comparado ao tratamento com veículo; as contagens totais de célula CD4 e CD8 não foram afetadas significativamente (Figura 12B). O estado de exame de ativação celular pela indução de CD69 revelou que o tratamento com mCS2 aumentou muito os níveis de CD69 em células CD4 e CD8, comparado ao tratamento com mIL-18 ou veículo; atingindo acima de 30% e acima de 50% de positividade para subconjuntos de CD4 e CD8, respectivamente (Figura 12C). Embora tanto mIL-18 quanto mCS2 tenham estimulado a expressão de CD69 em células NK periféricas acima de 20% positivo no dia 3, os níveis de CD69 diminuíram para níveis não significativos para mIL-18 no dia 6, mas permaneceram significativamente elevados com o tratamento com mCS2 (Figura 12C). Os níveis de citocina periférica também foram medidos com um painel Luminex multiplex. Da maneira observada na figura 12D, tanto mIL-18 quanto mCS2 aumentaram IFN-g, MIP1b, e G-CSF séricos, comparado ao tratamento com veículo, mas mCS2 atingiu níveis muito maiores do que mIL-18 no dia 6 para cada uma destas citocinas, uma vez que mIL-18 exibiu taquifilaxia com níveis de citocina induzida estáveis ou menores com a administração subsequente.

Efeito de mCS2 em composição de gordura corporal

[00355] Para avaliar o efeito dos variantes de DR-IL-18 na composição de gordura corporal, foi administrado IL-18 WT em 1 mg/kg ou 0,01, 0,1, ou 1 mg/kg de mCS2 por injeção intraperitoneal em camundongos C57BL/6 a

cada três dias. A composição de gordura corporal e massa magra foram monitorados por echoMRI. Todas as doses de mCS2 testadas (1 mg/kg, 0,1 mg/kg, e 0,01 mg/kg) resultaram em diminuição acentuada no percentual geral de gordura corporal no dia 12, embora os camundongos tratados com veículo e mIL-18 não tenham apresentado uma alteração significativa na composição de gordura corporal total (Figura 13, top). Especificamente, camundongos tratados com mCS2 apresentaram tanto níveis reduzidos quanto estáveis de massa gorda total durante o experimento (Figura 13, inferior à esquerda), mas substancialmente aumentaram sua massa magra total (Figura 13, inferior à direita). Estes resultados indicam que mCS2, e outros variantes aqui descritos, podem ser usados para diminuir terapeuticamente a composição de gordura corporal (por exemplo, para o tratamento de obesidade, diabetes, e/ou síndrome metabólica).

Eficiência antitumor de variantes de DR-IL-18

[00356] A eficiência antitumor de DR-IL-18 (mCS2) foi avaliada usando o modelo de tumor de melanoma maligno YUMMER1.7 singêntico, transplantável. mIL-18 WT e mCS2 foram administrados aos camundongos que carregam tumores YUMMER1.7 duas vezes por semana em uma dose de 0,32 mg/kg, com ou sem co-administração de anticorpos anti-PD1 (8 mg/kg/q3d). Consistente com relatos prévios em seu uso em camundongos e humanos, IL-18 WT não afetou o crescimento de tumor ou sobrevivência comparada ao veículo (salina), e melhorou apenas marginalmente a eficiência anti-PD1 quando administrado em combinação. Entretanto, mCS2 curou 27% dos camundongos tratados como uma monoterapia, e produziu uma resposta parcial em mais 27%, um efeito proporcional com tratamento anti-PD1. A combinação de mCS2 com anti-PD1 curou 80% de camundongos tratados (Figura 14A e Figura 14B).

[00357] Para estabelecer o mecanismo de ação de DR-IL-18 em tumores YUMMER1.7, estudos de depleção celular foram realizados usando

anticorpos contra CD8, CD4, NK1.1, e Interferon-gama. Da maneira observada na figura 15A e figura 15B, a depleção de células CD8 ou neutralização de interferon-gama anulou completamente a eficiência de DR-IL-18. A depleção de células CD4 não afetou a atividade inicial de DR-IL-18 em termos de crescimento de tumor, entretanto, em camundongos tratados com CD4, as resposta terapêuticas não são mantidas, sugerindo um papel de células CD4 no suporte e sustentação de imunidade antitumor. A depleção de células NK não afetou o crescimento de tumor ou sobrevivência em células YUMMER1.7.

[00358] A atividade de DR-IL-18 foi avaliada adicionalmente no modelo de tumor colorretal MC38 imunogênico. Um estudo de determinação da dose foi primeiro realizado administrando salina, IL-18 WT (1mg/kg duas vezes por semana), ou uma faixa de doses de DR-IL-18 de 0,01mg/kg, 0,1mg/kg, ou 1mg/kg duas vezes por semana. Da maneira observada na figura 16, IL-18 WT não apresentou nenhum efeito no crescimento de tumor, ao passo que DR-IL-18 (mCS2) mostrou eficiência dose-dependente, retardando o crescimento de tumor em 0,1mg/kg e produzindo regressão do tumor em 1mg/kg. Os coortes foram então expandidos e o sinergismo potencial com ponto de controle imunológico inibição foi avaliado. Novamente, IL-18 WT não apresentou efeito como uma monoterapia, e não mostrou nenhuma melhoria de eficiência anti-PD1. Em contrapartida, DR-IL-18 exibiu atividade monoterapêutica robusta, comparada ou superior ao anti-PD1, e as duas terapias fornecidas juntas exibiram sinergismo excepcional, produzindo regressão completa em todos os camundongos tratados (Figura 17).

[00359] Para caracterizar adicionalmente o mecanismo de DR-IL-18, estudos de citometria de fluxo foram realizados no infiltrado imune de tumores MC38, a partir de camundongos tratados com salina, IL-18 WT, ou DR-IL-18 (mCS2). Com relação à salina ou IL-18 WT, o tratamento com DR-IL-18 aumentou a infiltração de célula CD8 e NK por mg de tumor e,

adicionalmente, resultou em regulação crescente de marcadores de ativação de células efetoras, tais como granzima B e KLRG1 (Figura 18A, linha superior). Ao contrário de outras terapias com citocina, tal como IL-2 ou IL-15, DR-IL-18 não aumentou a razão CD8:Treg nos tumores, comparado ao tratamento com salina. Entretanto, o tratamento com DR-IL-18 leva a um microambiente imune do tumor mais favorável, aumentando a razão de células CD8 para macrófagos associados ao tumor (TAMs), e mieloides monocíticos e granulocíticos derivados de células supressoras (MDSCs). O perfil de liberação de citocina secundária também foi medido a partir do soro dos mesmos camundongos usando um ensaio Luminex. Da maneira observada na figura 18B, o tratamento com DR-IL-18 aumentou os níveis sistêmicos de Interferon-gama, IL-7, e IL-15 mais de 100 vezes com relação ao tratamento com IL-18 WT. Obtidos em conjunto, estes resultados indicam que DR-IL-18 produz eficiência antitumor por meio de um mecanismo de ação exclusivo, distinto do tratamento com IL-2, IL-15 ou IL-18 WT.

[00360] Algumas das citocinas secundárias induzidas pela terapia com DR-IL-18 podem ser previstas para contribuir potencialmente com toxicidade e/ou menor eficiência. Por exemplo, IL-17 que é regulada de maneira crescente >100 vezes por DR-IL-18 contribui para colite e psoríase, e estimula adicionalmente granulócitos que podem se tornar células supressoras derivadas de mieloide imunossupressivo. IL-5 e IL-13 são citocinas do tipo 2, também reguladas de maneira crescente por DR-IL-18, e podem contribuir com alergia, exacerbação de asma ou anafilaxia. As células T Th2 não contribuem para respostas imunoterapêuticas e podem promover o desenvolvimento de Treg imunossupressivo. Como tal, em certos exemplos, a eficiência e segurança de DR-IL-18 pode ser melhorada por inibição seletiva de citocinas secundárias indesejadas, tais como IL-17, IL-5 e IL-13, por exemplo, por um anticorpo neutralizante.

[00361] Muitos tumores são resistentes à inibição do ponto de controle

imunológico, tanto na apresentação inicial (resistência primária) quanto após uma resposta inicial ao tratamento (resistência secundária). A causa mais prevalente de resistência de inibidores de ponto de controle é a perda de apresentação de antígeno por meio de MHC de classe I. A perda do MHC de classe I de superfície é associada de maneira clássica à citólise mediada por célula NK, entretanto, células NK podem ser tornar exaustas em tumores deficientes em MHC I. As células NK expressam a IL-18R e seus resultados prévios em MC38 indicaram que células NK são expandidas e ativadas por DR-IL-18, assim, testou-se se DR-IL-18 poderia estimular o ataque de célula NK contra tumores deficiente em MHC I. Foi usado CRISPR/cas9 para neutralizar B2m na linhagem celular Yummer1.7, e foi observado que tumores YUMMER1.7 deficientes em B2m implantados foram refratários mesmo ao tratamento combinado tanto com anti-CTLA4 quanto com anti-PD1 (Figura 19A e Figura 19B), uma combinação que cura rotineiramente perto de 100% dos tumores Yummer1.7 parentais. Entretanto, o tratamento de agente único com DR-IL-18 (mCS2) curou 60% de tumores YUMMER1.7 deficientes em B2m de uma maneira dependente de célula NK, uma vez que a depleção com anti-NK1.1 anulou o efeito (Figura 19A e Figura 19B). Os experimentos foram conduzidos para entender o efeito que DR-IL-18 apresentou em células NK intratumorais, no ambiente de um tumor deficiente em MHC de classe I. Estudos de imunofenotipagem foram realizados com citometria de fluxo em tumores Yummer.17 deficientes em B2m, a partir de camundongos tratados com salina ou DR-IL-18. 24 horas após a 3^a dose de tratamento, os camundongos foram sacrificados, os tumores foram dissociados, e a suspensão celular foi tratada com PMA/ionomicina por quatro horas. O índice proliferativo e a capacidade funcional das células NK foram a seguir analisadas por citometria de fluxo intracelular com Ki67 e Interferon-gama. Da maneira observada na figura 19C, células NK de tumores YUMMER1.7 deficientes em B2m tratados com salina apresentaram

produção escassa de Interferon-gama e níveis de Ki67, indicando um fenótipo esgotado. Em contrapartida, células NK de tumores tratados com DR-IL-18 apresentaram produção robusta de Interferon-gama e níveis de Ki67, com a maioria das células NK sendo positivas para ambos os marcadores. Estes resultados estabelecem assim que DR-IL-18 é eficiente no tratamento de tumores deficiente em MHC de classe I, que são refratários ao bloqueio do ponto de controle imunológico de uma maneira dependente de célula NK.

[00362] Estes resultados estabelecem DR-IL-18 como um imunoterapêutico para tumor muito promissor, e podem prover forte evidência que IL-18BP limita muito a eficiência da terapia com IL-18, dada a atividade muito melhor do variante de DR-IL-18 mCS2. A partir destes resultados, pode-se prever que outras estratégias, tal como bloqueio de IL-18BP com um anticorpo, proteína pequena e/ou molécula pequena podem aumentar a terapia de IL-18 e outros regimes imunoterapêuticos.

[00363] Foram empreendidos esforços para modificar geneticamente um antagonista de IL-18BP, criando um “chamariz-para-o-chamariz” (D2D), ou variantes de IL-18 que se ligam especificamente à IL-18BP, mas não se ligam à IL-18R α e, assim, não sinalizam. A vantagem potencial de um agente como este é que poderia funcionar para neutralizar IL-18BP e melhorar a atividade de IL-18 endógena, ao contrário da sinalização direcionada de IL-18R sistematicamente. IL-18 tornou aleatório assim, em posições de contato com IL-18R α (Figura 20A), e uma biblioteca exibida em leveduras foi preparada da maneira descrita previamente para DR-IL-18 de humano e camundongo. A biblioteca resultante de $3,9 \times 10^8$ transformantes foi selecionada por 3 ciclos, da maneira indicada em (Figura 20B), selecionando ligação à IL-18BP mantida, contra-selecionando ao mesmo tempo contra IL-18R α . Da maneira observada em (Figura 20C), cada ciclo de seleção conferiu aumento para ligação à IL-18BP (humano e camundongo), mas sem aquisição de ligação à IL-18R α . 96 clones foram sequenciados, produzindo 31

sequências exclusivas, a partir das quais três sequências consensuais hD2D-CS1, hD2D-CS2, e hD2D-CS3 foram derivadas (Figura 21). A caracterização biofísica dos clones resultantes indicou que estes exibiram isotermas de ligação similares à IL-18BP como IL-18 WT (Figura 22A), mas com ligação muito diminuída/ausente para IL-18R α (Figura 22B). Estes dados são sumarizados em (Figura 22C). Um processo de seleção idêntico foi realizado para IL-18 de murino, criando uma biblioteca de $2,0 \times 10^8$ transformantes, que foi selecionada para obter 51 sequências exclusivas (sumarizadas na figura 23).

Exemplo 2: Mediçãoes de afinidade de ligação de variantes de segunda geração

[00364] Ressonância plasmática de superfície (SPR) foi usada para realizar medições de afinidade biofísica de variantes de segunda geração de DR-IL-18 (ligação à IL-18R vs IL-18BP). Vide figura 24 para os sensogramas gerados. A tabela 10 é um sumário da cinética medida, a tabela 11 é um sumário das medições de afinidade, e a tabela 12 é um sumário geral, incluindo resultados para a razão de constantes de dissociação dos variantes de segunda geração de DR-IL-18.

Tabela 10: Sumário de dados SPR para variantes de hDR-IL-18 de segunda geração (cinética)

Ligante de superfície	Analito	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M) Exp 2	KD (M) Exp 1	% Rmax
hIL-18Ra	hIL-18	5,55E+05	2,97E-03	5,36E-09	5,35E-09	32
hIL-18Ra	6-12	4,95E+05	9,10E-04	1,84E-09	2,24E-09	35
hIL-18Ra	6-27	6,31E+05	2,43E-03	3,85E-09	3,48E-09	35
hIL-18Ra	6-29	5,75E+05	1,19E-03	2,07E-09	2,65E-09	36
hIL-18Ra	6-31	2,18E+05	3,32E-03	1,52E-08	1,94E-08	19
hIL-18BP	hIL-18	5,18E+05	2,23E-07	4,30E-13	6,94E-13	48
hIL-18BP	6-12	Muito fraco para avaliar				-1
hIL-18BP	6-27	Muito fraco para avaliar				2
hIL-18BP	6-29	Muito fraco para avaliar				0
hIL-18BP	6-31	Muito fraco para avaliar				-1

Tabela 11: Sumário de dados de SPR para variantes de hDR-IL-18 de segunda geração (afinidade)

Amostra	KD _{aparente} hIL-18Ra (nM)	KD _{aparente} hIL-18BP (nM)
hIL-18	5,4, 5,4	<0,1
6-12	1,8, 2,2	muito fraco

6-27	3,9, 3,5	muito fraco
6-29	2,1, 2,7	muito fraco
6-31	15,2, 19,4	muito fraco

Tabela 12: Sumário de medições de afinidade SPR. Sumário das medições de afinidade SPR de variantes de hDR-IL-18 de segunda geração para IL-18Ra e IL-18BP. A razão de constante de dissociação de IL-18 BP:Ra é a razão da KD para IL-18BP para a KD para IL-18Ra normalizada com a mesma razão de IL-18 WT. Um número maior para esta razão indica que o variante de IL-18 apresenta uma maior preferência para se ligar à IL-18Ra em relação à IL-18BP, comparado à IL-18 WT. *Média de 2 estudos. k é um múltiplo de 1.000. m é um múltiplo de 1.000.000.

Proteína	SPR: KD Ra (nM)	SPR: KD BP (nM)	IL-18 BP:Ra Razão de constante de dissociação
hIL-18 WT	4,1*	0,002	1
hCS1	8,0*	11,8*	3.024
hCS3	9,1*	19,3*	4.348
hCS4	7,7*	121*	32.215
6-12	2,2	>10.000	>9.318.275
6-27	3,5	>10.000	>5.857.201
6-29	2,7	>10.000	>7.592.669
6-31	19,4	>10.000	>1.056.712
mIL-18 WT	0,60	0,0011	1
mCS2	0,08	11.000	>75.000.136
A7, B1, C1, E8	0,22 - 1,7	14k - 29k	9.3m - 35m

Exemplo 3: Eficiência para tratamento de câncer

[00365] A eficiência de variantes de DR-IL-18 foi testada usando múltiplos modelos diferentes de câncer, incluindo modelos de tumores colorretais, câncer de mama, melanoma, e tumores deficientes em MHC de classe I que são resistentes aos inibidores de ponto de controle imunológico. Os resultados mostraram que os variantes de DR-IL-18 com um viés para se ligar à IL-18R e não à IL-18BP podem ser usados para tratar uma ampla abordagem de cânceres (não limitados apenas àqueles que foram testados).

[00366] Figura 25A e 25B: dados que demonstram eficiência de DR-IL-18 no modelo de tumor colorretal CT26. 250.000 células CT26 foram implantadas subcutaneamente e o tratamento iniciou no dia 7, uma vez que os tumores apresentavam ~60 mm³ em média. IL-18 WT e mCS2 foram dosados em 0,32mg/kg duas vezes por semana, por um total de 5 doses. Anti-PD1 foi

fornecido em 10mg/kg no mesmo esquema. (A) Sobreposição de gráficos de radar mostrando crescimento de tumor de animais tratados com salina (PBS) em linhas pretas (círculos), IL-18 WT em linhas azuis (quadrados), e DR-IL-18 (mCS2) em rosa (triângulos). Apenas o tratamento com DR-IL-18, mas não com IL-18 WT, resultou em inibição do crescimento de tumor e eliminação do tumor em um subconjunto de animais. (B) Curvas de sobrevivência para camundongos tratados com anti-PD-1, IL-18 WT, e DR-IL-18 (mCS2). Números de respostas completas são indicados entre parênteses. DR-IL-18, mas não IL-18 WT, resultou em sobrevivência prolongada e eliminação do tumor em 40% de camundongos, uma melhoria com relação ao inibidor de ponto de controle anti-PD-1.

[00367] Figura 26A e 26B: dados que demonstram eficiência de DR-IL-18 no modelo de câncer de mama 4T1 e modelo de melanoma B16-F10. (A) Curvas de crescimento de tumor de tumores 4T1 enxertados em camundongos BALB/C após tratamento com salina (PBS; preto), IL-18 WT (azul), ou o variante de DR-IL-18 CS2 (rosa). (B) Curvas de crescimento de tumor de tumores B16-F10 enxertados em camundongos C57BL/6 após tratamento com salina (PBS; preto), IL-18 WT (azul), ou o variante de DR-IL-18 CS2 (rosa). Em ambos os modelos, apenas DR-IL-18, mas não IL-18 WT, resultou na inibição do crescimento de tumor. Os tratamentos foram administrados após os tumores excederem um volume médio de 50 mm³, da maneira indicada pelas caixas marcadas com “t”.

[00368] Figura 27A e 27B: Estes dados ampliam aqueles da figura 19A até 19C. São representados dados que demonstram eficiência de DR-IL-18 no tratamento de modelos adicionais de tumor deficiente em MHC de classe I que são resistentes aos inibidores de ponto de controle imunológico. (A) células MC38 deficientes em B2m foram preparadas usando eliminação mediada por CRISPR/Cas9, da maneira descrita para células YUMMER deficientes em B2m. As células B2m-/ MC38 foram implantadas

subcutaneamente e o tratamento iniciou no dia 7, uma vez que os tumores apresentavam ~65 mm³ em média. mCS2 foi dosado em 0,32mg/kg duas vezes por semana por 5 doses. Anti-PD1 e anti-CTLA4 foram fornecidos em 8mg/kg no mesmo esquema. (B) RMA/S é um variante da linhagem de linfoma RMA que contém uma mutação espontânea em Tapasina. O resultado é um defeito na carga de antígeno e, portanto, menor expressão de MHC de classe I de superfície. É congênito com C57BL/6 e refratário aos inibidores de ponto de controle imunológico. Camundongos foram implantadas com 1.000.000 células RMA/S subcutaneamente e o tratamento iniciou no dia 7. mCS2 foi dosado em 0,32mg/kg duas vezes por semana. Anti-PD1 foi fornecido em 8mg/kg no mesmo esquema.

Exemplo 4: Terapia de combinação

[00369] Figura 28: dados que demonstram eficiência de variantes de DR-IL-18 para melhorar a citotoxicidade mediada por célula dependente de anticorpo antitumor (ADCC) (que suporta terapia de combinação com agentes de opsonização tais como anticorpos que alvejam tumor). Estudos de citotoxicidade *ex vivo* usaram células Raji marcadas com CFSE (linfoma de célula B) e isolaram células mononucleares do sangue periférico de humano (PBMCs). PBMCs e células Raji marcadas foram incubadas juntas em uma razão efetora:alvo (E:T) de 1:10 por 25 horas. O variante de DR-IL-18 hCS-1de humano (1uM), rituximabe (10 ug/mL), ou a combinação de ambos os agentes foram aplicados nas amostras da maneira indicada. A citotoxicidade foi medida por citometria de fluxo e calculada como a fração de células CFSE que se tornam DAPI positivas. * p<0,05 por ANOVA de dois fatores com correção de Tukey para comparações múltiplas.

Exemplo 5: Eficiência contra infecções virais

[00370] Figura 29A e 29B: dados que demonstram eficiência anti-viral de variantes de DR-18 para o tratamento de doença infecciosa (por exemplo, para infecções virais, por exemplo, neste exemplo ilustrativo, mCS2 foi usado

para tratamento de infecção sistêmica com vírus vaccínia). (A) Esquema de desenho experimental. Camundongos C57BL/6 foram infectados com 10^6 PFU de vírus Vaccínia (VACV) intraperitonealmente (IP) e administrados com 1 mg/kg de mIL-18 WT ou mCS2 IP. Os camundongos foram sacrificados e as titulações virais foram medidas no sangue e ovários por RT-PCR no dia 3 após a infecção. (B) Quantificação de cópias virais de VACV nos ovários e sangue de camundongos tratados no dia 3 após a infecção. O tratamento com CS2 mostrou uma redução significativa de titulações virais, ao passo que IL-18 WT não foi eficiente. * p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001.

Exemplo 6: Variantes de DR-IL-18 de humano de segunda geração

[00371] Figura 30A representa dados que demonstram que os variantes de DR-IL-18 de humano de segunda geração são ativos. (Figura 30A) IL-18 WT e h6-12, h6-27, h6-29, e h6-31 estimulam células repórteres IL-18 HEK-Blue. h6-12, h6-27, e h6-29 mostraram melhor eficiência comparada à hIL-18 WT, ao passo que h6-31 apresenta eficiência equivalente à hIL-18 WT. Os dados demonstram, portanto, que todos os variantes de DR-IL-18 de humano de segunda geração testados sinalizam ativamente através de IL-18R.

Sequências de aminoácido IL-18 tipo selvagem

HUMAN Interleucina-18 (forma madura)

[00372] YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCR
DNAPRTIFIISMYKDSQPRGMAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPP
DNIKDTKSDIIFQRSVPGHDNKMQFESSSYEGYFLACEKERDLFKLIL
KKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 30)

Interleucina-18 de camundongo (forma madura)

[00373] NFGRLHCTTAVIRNINDQVLFDKRQPVFEDMTDIDQS
ASEPQTRLIIFYMYKDSEVRGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDP
PENIDDIQSDLIFFQKRVPGHNKMEFESSLYEGHFLACQKEDDAFKLIL
KKKDENGDKSVMFTLTNLHQ (SEQ ID NO: 31)

Q14116|IL18_HUMAN Interleucina-18 (precursor não clivado)

[00374] MAAEPVEDNCINFVAMKFIDNTLYFIAEDDENLESDYFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTSDCRDNAPRTIFIISMYKDSQPRGMAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFQRSVPGHDNKMQFESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 32)

P70380|IL18_MOUSE Interleucina-18 (precursor não clivado)

[00375] MAAMSEDSCVNFKEMMFIDNTLYFPIEENGDLESQNFGRLHCTTAVIRNINDQVLFVDKRQPVFEDMTDIDQSASEPQTRLIYMYKDSEVRGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFQKRVPGHNMKEFESSLYEGHFLACQKEDDAFKLILKKDENGDKSMFTLTNLHQ (SEQ ID NO: 33)

Sequências de aminoácidos variantes resistentes a chamariz de interleucina 18 de humano de geração 1

hCS1	YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTSDCRDNAPRTIFIISTYKDSQPRGKAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFQRDVPGHKHKMQFESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 34)
hCS2	YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTSDCRDNAPRTIFIISTYKDKQPRGKAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFQRDVPGHKHKMQFESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTIQNED (SEQ ID NO: 35)
hCS3	RFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTSDCRDNAPRTIFIISTYKDSQPRGKAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFQRDVPGHKHKMQFESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 36)
hCS4	RFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTSDCRDNAPRTIFIISTYRDSQPRGKAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFQRNVPGHKYKMQFESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 37)
hC4	YFGKLESQLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTSDCRDNAPRTIFIISTYKDKQPRGKAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFQRRVPGHHNKMQFESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQKED (SEQ ID NO: 38)
hA8	YFGKLESRLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTSDCRDNAPRTIFIISKYKDKQPRGKAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFQRDVPGHKHKMQFESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTIQNED (SEQ ID NO: 39)
hD6	YFGKLESRLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTSDCRDNAPRTIFIISDYKDKQPRGKAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFQRDVPGHKHKMQFESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTIQNED (SEQ ID NO: 40)
hH12	YFGKHESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTSDCRDNAPRTIFIISTYRDSQPRGKAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFQRDVPGHNNKMQFESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTTQNED (SEQ ID NO: 41)
hB11	YFGKIESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTSDCRDNAPRTIFIISKYKDKQPRGKAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFQRKVPGHQHKMQFESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQKED (SEQ ID NO: 42)
hC3	YFGKIESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTSDCRDNAPRTIFIISTYKDRQPRGKAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFERDVPGHHHKMQFESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTIQNED (SEQ ID NO: 43)
hC2	YFGKIESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTSDCRDNAPRTIFIISTYKDKQPRGKAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFQRDVPGHKHKMQFESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTTQHED (SEQ ID NO: 44)

hG10	YFGKIESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTSDCDRNAPRTIFIISTYKDKQPR AKAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFQRRVPGHHHKMQFES SSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTIQKED (SEQ ID NO: 45)
hG1	YFGKIESRLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTSDCDRNAPRTIFIISTYKDKQPR GKAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFQRDVPGHDYKMQFE SSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTIQKED (SEQ ID NO: 46)
hF1	YFGKYESRLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTSDCDRNAPRTIFIISTYRDSQPR GKAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFQRDVPGHEHHKMQFES SSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQKED (SEQ ID NO: 47)
hD2	HFGKYESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTSDCDRNAPRTIFIISTYRDSQPR GKAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFQRDVPGHHNKMQFE SSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQKED (SEQ ID NO: 48)
hA1	RFGKLESRLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTSDCDRNAPRTIFIISTYRDSQPR AKAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFQRDVPGHQHMKMFES SSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTAQKED (SEQ ID NO: 49)
hB3	RFGKLESRLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTSDCDRNAPRTIFIISDYRDSQPR GRAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFKRNVPGHKYKMQFES SSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQHED (SEQ ID NO: 50)
hB4	RFGKLESRLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTSDCDRNAPRTIFIISNYRDSQPR GQAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFQRDVPGHMHMKMFES SSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQKED (SEQ ID NO: 51)
hH3	RFGKLESRLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTSDCDRNAPRTIFIISTYKDSQPR GKAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFQRDVPGHKHMKMFES SSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 52)
hH5	RFGKHESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTSDCDRNAPRTIFIISTYRDSQPR GKAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFERNVPGHKYKMQFES SSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 53)
hH4	RFGKLESRLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTSDCDRNAPRTIFIISTYRDSQPR AKAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFERDVPGHQHMKMFES SSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTIQXED (SEQ ID NO: 54)
hE1	RFGKLESRLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTSDCDRNAPRTIFIISTYRDSQPR TKAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFQRNVPGHHDHKMQFES SSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQHED (SEQ ID NO: 55)
hG2	RFGKLESRLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTSDCDRNAPRTIFIISTYKDSQPR AKAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFERDVPGHQHMKMFES SSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTIQKED (SEQ ID NO: 56)
hB9	RFGKHESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTSDCDRNAPRTIFIISTYRDSQPR GKAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFERNVPGHKYKMQFES SSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 57)
hE12	RFGKYESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTSDCDRNAPRTIFIISTYKDSQPR TKAVTISVKCEKISTLSCDNKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFQRDVPGHKHMKMFES SSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 58)
hC5	RFGKLESRLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTSDCDRNAPRTIFIISTYRDSQPR TKAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFQRKVPGHNNHKMQFES SSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQKED (SEQ ID NO: 59)

Sequências de aminoácidos variantes resistentes a chamariz de interleucina 18de humano de geração 2

5-18	YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTSDCDRNAPRTIFIISEYKDSELRG RAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFPRAVPGHNRKVQFESSSY EGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 73)
5-29	YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTSDCDRNAPRTIFIISKYKDSAGRG LAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFERDVPGHSNKVQFESSSY EGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 74)
5-8	YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTSDCDRNAPRTIFIISKYGDSAARG LAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFQRSVPGHKRKMQFESSSY EGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 75)

5-6	YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTSDCDRNAPRTIFIISKYGDGSRGRG LAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFERDVPGHNSKRQFESSYY EGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 76)
5-27	YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTSDCDRNAPRTIFIISKYGDGSRARG LAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFERDVPGHNSKRQFESSYY EGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 77)
5-20	YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTSDCDRNAPRTIFIISKYSDSGARG LAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFERDVPGHGRKTQFESSYY EGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 78)
5-2	YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTSDCDRNAPRTIFIISKYSDSKARG MAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFERDVPGHSSKRQFESSYY EGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 79)
5-9	YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTSDCDRNAPRTIFIISKYSDSLARG LAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFERDVPGHNSKRQFESSYY EGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 80)
5-42	YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTSDCDRNAPRTIFIISKYSDSRARG LAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFERDVPGHGRKMQFESSSS EGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 81)
5-13	YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTSDCDRNAPRTIFIISKYSDSRARG LAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFERDVPGHSGKRQFESSYY EGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 82)
5-12	YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTSDCDRNAPRTIFIISKYSDSRARG LAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFERDVPGHSGKRQFESSYY EGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 83)
5-1	YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTSDCDRNAPRTIFIISKYTDSPRG LAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFERDVPGHSSKKQFESSYY EGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 84)
5-33	YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTSDCDRNAPRTIFIISKYTDSPRG MAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFERDVPGHNDKRQFESSSS EGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 85)
5-21	YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTSDCDRNAPRTIFIISKYGDGKG LAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFERDVPGHSGKRQFESSYY EGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 86)
6-31	YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTSDCDRNAPRTIFIISKYGDGSGARG LAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFERDVPGHSGKVQFESSYY EGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 87)
6-20	YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTSDCDRNAPRTIFIISKYGDGSRPRG MAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFERDVPGHNRKMQFESSSS EGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 88)
6-12	YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTSDCDRNAPRTIFIISKYSDSLARG LAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFERDVPGHSGKRQFESSYY EGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 89)
6-27	YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTSDCDRNAPRTIFIISKYSDSRARG LAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFERDVPGHSGKRQFESSYY EGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 90)
6-29	YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTSDCDRNAPRTIFIISKYSDSRARG LAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFERDVPGHSGKRQFESSSS EGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 91)
5-26	YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTSDCDRNAPRTIFIISKYGDGSRPRG LAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFERDVPGHSGKRQFESSYY EGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 191)
5-17	YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTSDCDRNAPRTIFIISKYSDSRARG LAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFERDVPGHSGKRQFESSYY EGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 192)
5-41	YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTSDCDRNAPRTIFIISKYSDSRARG LAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFERDVPGHSGKRQFESSYY EGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 193)

Sequências de aminoácido variantes resistentes a chamariz de interleucina 18
de camundongo

mCS1	NFGRLHCTTAVIRNINDQVLFVDKRQPVFEDMTIDQSASEPQTRLIYGYADSRVR GKAVTSLVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFQKRVPGHNKMEFES SLYEGHFLACQKEDDAFKLILKKDENGDKSVMFTLTNLHQ\$ (SEQ ID NO: 60)
mCS2	HFGRLHCTTAVIRNINDQVLFVDKRQPVFEDMTIDQSASEPQTRLIYAYGDSRAR GKAVTSLVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFQKRVPGHNKMEFES SLYEGHFLACQKEDDAFKLILKKDENGDKSVMFTLTNLHQ\$ (SEQ ID NO: 61)
mC1	NFGRLHCTTAVIRNINDQVLFVDKRQPVFEDMTIDQSASEPQTRLIYAYVDRRLR GKAVTSLVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFQKRVPGHNKMEFES SLYEGHFLACQKEDDAFKLILKKDENGDKSVMFTLTNLHQ\$ (SEQ ID NO: 62)
mA12	NFGRLHCTTAVIRNINDQVLFVDKRQPVFEDMTIDQSASEPQTRLIYYSDKHMR GKAVTSLVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFQKLVPGHNKMEFES SLYEGHFLACQKEDDAFKLILKKDENGDKSVMFTLTNLHQ\$ (SEQ ID NO: 63)
mE8	NFGRLHCTTAVIRNINDQVLFVDKRQPVFEDMTIDQSASEPQTRLIYVYTDGRRR GKAVTSLVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFQKKVPGHDKMEFES SLYEGHFLACQKEDDAFKLILKKDENGDKSVMFTLTNLHQ\$ (SEQ ID NO: 64)
mC10	HFGRLHCTTAVIRNINDQVLFVDKRQPVFEDMTIDQSASEPQTRLIYAYGDSHMR GKAVTSLVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFQKQVPGHNKMEFES SLYEGHFLACQKEDDAFKLILKKDENGDKSVMFTVTNLHQ\$ (SEQ ID NO: 65)
mB7	HFGRLHCTTAVIRNINDQVLFVDKRQPVFEDMTIDQSASEPQTRLIYAYGDSNAG GRAVTSLVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFQKKVPGHNKMEFES SLYEGHFLACQKEDDAFKLILKKDENGDKSVMFTLTNLHQ\$ (SEQ ID NO: 66)
mB1	HFGRLHCTTAVIRNINDQVLFVDKRQPVFEDMTIDQSASEPQTRLIYGYADSDAR AKAVTSLVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFQKSVPGNKMEFES SLYEGHFLACQKEDDAFKLILKKDENGDKSVMFTVTNLHQ\$ (SEQ ID NO: 67)
mD1	HFGRLHCTTAVIRNINDQVLFVDKRQPVFEDMTIDQSASEPQTRLIYGYSDRGSK GKAVTSLVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFQKQVPGHNKMEFES SLYEGHFLACQKEDDAFKLILKKDENGDKSVMFTLTNLHQ\$ (SEQ ID NO: 68)
mH7	YFGRLHCTTAVIRNINDQVLFVDKRQPVFEDMTIDQSASEPQTRLIYMYADRRAR GKAVTSLVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFQKKVPGHDKMEFES SLYEGHFLACQKEDDAFKLILKKDENGDKSVMFTLTNLHQ\$ (SEQ ID NO: 69)
mA7	YFGRLHCTTAVIRNINDQVLFVDKRQPVFEDMTIDQSASEPQTRLIYAYGDNRVR GKAVTSLVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFQKRVPGHNKMEFES SLYEGHFLACQKEDDAFKLILKKDENGDKSVMFTLTNLHQ\$ (SEQ ID NO: 70)
mE1	YFGRLHCTTAVIRNINDQVLFVDKRQPVFEDMTIDQSASEPQTRLIYGYGDSERG GRAVTSLVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFQKRVPGHDKMEFES SLYEGHFLACQKEDDAFKLILKKDENGDKSVMFTLTNLHQ\$ (SEQ ID NO: 71)
mH3	YFGRLHCTTAVIRNINDQVLFVDKRQPVFEDMTIDQSASEPQTRLIYTRTDGGQK GVAVTSLVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFQKRVPGHDKMEFES SLYEGHFLACQKEDDAFKLILKKDENGDKSVMFTLTNLHQ\$ (SEQ ID NO: 72)

Sequências de aminoácido variantes de chamariz-para-o-chamariz (D2D) de humano

hD2D-5F12	HFGKLESKLSVIRNLNGQVLFIDQGNRPLFKDMTASDCRANAPRTIFIISFYKDSQP RGMAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFRSVPVGADNKFQF ESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 92)
hD2D-5F11	DFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFADMTDNPCRSNAPRTIFIISFYKDSQP RGIAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFLRSVPGPDNKMQF ESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 93)
hD2D-5F10	HFGKLESKLSVIRNLNGQVLFIDQGNRPLFADMEASPCRDNAPRTIFIISFYKDSQP RGLAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFLRSVPGHDNKMQF ESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 94)
hD2D-5F08	LFGKLESKLSVIRNLNGQVLFIDQGNRPLFADMTSSPCRSRAPRTIFIISFYKDSQPR GFAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFRSVPGHDNKFQFES SSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 95)
hD2D-5F06	HFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFTDMESKPCRDSAPRTIFIISMYKDSQP RGIAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFRSVPGHDNKFQFE SSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 96)

hD2D-5F04	YFGKLESKLSVIRNLNRQVLIDQGNRPLFTDMTYKDCRDNAAPRTIFIISFYKDSQP RGFAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIF FIRSVPGADNKIQFE ESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 97)
hD2D-5F02	HFGKLESKLSVIRNLNGQVLIDQGNRPLFGDMEASPCRDNAAPRTIFIISFYKDSQP RGLAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIF FIRSVPGADNKLFQF ESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 98)
hD2D-5F01	HFGKLESKLSVIRNLNGQVLIDQGNRPLFTDMTSSDCRDKA PRTIFIISFYKDSQP RGLAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIF FIRSVPGADNKLFQF ESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 99)
hD2D-5E10	HFGKLESKLSVIRNLNGQVLIDQGNRPLFADMESNCRDSAPRTIFIISFYKDSQ PRGF A VTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIF FIRSVPGADNKIQF ESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 100)
hD2D-5E08	YFGKLESKLSVIRNLNGQVLIDQGNRPLFTDMTASPCRDNAAPRTIFIISFYKDSQP RGLAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIF FIRSVPGADNKIQF ESSSYEGYFLACEKERSLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 101)
hD2D-5E03	DFGKLESKLSVIRNLNDQVLIDQGNRPLFADMKSNCRANAPRTIFIISFYKDSQ PRGM A VTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIF FIRSVPGADNKLFQ ESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 102)
hD2D-5E02	HFGKLESKLSVIRNLNGQVLIDQGNRPLFGDMEASPCRAKA PRTIFIISFYKDSQP RGFAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIF FIRSVPGADNKLFQF ESSSYEGYFLACEKERSLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 103)
hD2D-5D10	HFGKLESKLSVIRNLNGQVLIDQGNRPLFADMASNCRANAPRTIFIISFYKDSQ PRGF A VTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIF FIRSVPGADNKIQF ESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 104)
hD2D-5D08	YFGKLESKLSVIRNLNDQVLIDQGNRPLFADMKA KACRSNAPRTIFIISFYKDSQ PRGF A VTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIF FIRSVPGADNKIQF ESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 105)
hD2D-5D06	HFGKLESKLSVIRNLNHQVLIDQGNRPLFTDMADNACRDNA PRTIFIISFYKDSQ PRGLAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIF FIRSVPGADNKIQF ESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 106)
hD2D-5D05	YFGKLESKLSVIRNLNGQVLIDQGNRPLFTDMKSNLCRSNAPRTIFIISFYKDSQ RGIAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIF FIRSVPGADNKIQF ESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 107)
hD2D-5D03	HFGKLESKLSVIRNLNGQVLIDQGNRPLFRDMAASHCRDSAPRTIFIISFYKDSQ RGFAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIF FIRSVPGADNKIQF ESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 108)
hD2D-5D02	YFGKLESKLSVIRNLNDQVLIDQGNRPLFADMASNPCRYKA PRTIFIISFYKDSQ PRGLAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIF FIRSVPGADNKLFQ ESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 109)
hD2D-5C10	HFGKLESKLSVIRNLNGQVLIDQGNRPLFTDMASNHC RYNAPRTIFIISFYKDSQ PRGLAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIF FIRSVPGADNKIQF ESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 110)
hD2D-5C09	HFGKLESKLSVIRNLNGQVLIDQGNRPLFADMTDNPCRSRAPRTIFIISFYKDSQ RGMAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIF FIRSVPGADNKIQF ESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 111)
hD2D-5C08	YFGKLESKLSVIRNLNGQVLIDQGNRPLFTDMASHCRSSAPRTIFIISFYKDSQ RGMAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIF FIRSVPGADNKIQF ESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 112)
hD2D-5C05	YFGKLESKLSVIRNLNGQVLIDQGNRPLFTDMEYRLC RANAPRTIFIISFYKDSHP RGLAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIF FIRSVPGADNKLFQF ESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 113)
hD2D-5C04	YFGKLESKLSVIRNLNGQVLIDQGNRPLFTDMESSLCRDNA PRTIFIISFYKDSQ RGMAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIF FIRSVPGADNKIQF ESSSYEGYFLACEKERSLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 114)
hD2D-5C03	YFGKLESKLSVIRNLNGQVLIDQGNRPLFKDMEANDCRSSAPRTIFIISFYKDSQ RGLAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIF FIRSVPGADNKIQF ESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 115)
hD2D-5B11	DFGKLESKLSVIRNLNDQVLIDQGNRPLFADMKA SACRANAPRTIFIISFYKDSQ PRGLAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIF FIRSVPGADNKIQF ESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 116)

hD2D-5B10	YFGKLESKLSVIRNLNGQVLFIDQGNRPLFGDMTAKHCRARAPRTIFIISFYKDSQ PRGMAVTISKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFIRSVPGADNKFQ FESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 117)
hD2D-5B06	FFGKFESKLSVIRNLNGQVLFIDQGNRPLFTDMESKDCRDRAPRTIFIISFYKDSQP RGLAVTISKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFIRSVPGHDNKLQF ESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 118)
hD2D-5B05	FFGKLESKLSVIRNLNGQVLFIDQGNRPLFADMASNHCRANAPRTIFIISLYKDSQP RGLAVTISKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFIRSVPGHDNKMQF ESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 119)
hD2D-5B02	YFGKLESKLSVIRNLNGQVLFIDQGNRPLFADMSTSCKRCRDNAAPRTIFIISLYKDSQP RGFAVTISKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFIRSVPGHDNKMQF ESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 120)
hD2D-5A09	LFGKHESKLSVIRNLNGQVLFIDQGNRPLFGDMESSPCRYNAPRTIFIISFYKDSQP RGLAVTISKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFIRSVPGHDNKMQF ESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 121)
hD2D-5A02	YFGKLESKLSVIRNLNAQVLFIDQGNRPLFTDMTASPCRSSAPRTIFIISLYKDSQP RGLAVTISKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFIRSVPGPDNKIQFE ESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 122)
hD2D-CS1	YFGKLESKLSVIRNLNGQVLFIDQGNRPLFADMSTSCKRCRDNAAPRTIFIISMYKDSQ PRGMAVTISKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFIRSVPGHDNKM QFESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 123)
hD2D-CS2	YFGKLESKLSVIRNLNGQVLFIDQGNRPLFADMSSDCRDNAAPRTIFIISFYKDSQP RGLAVTISKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFIRSVPGHDNKMQF ESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 124)
hD2D-CS3	YFGKLESKLSVIRNLNGQVLFIDQGNRPLFADMSSDCRDNAAPRTIFIISFYKDSQP RGLAVTISKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFIRSVPGHDNKMQF ESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED (SEQ ID NO: 125)

Sequências de aminoácido variantes de chamariz-para-o-chamariz (D2D) de camundongo

mD2D-A5	YFGRYHCTTAIRNINQQVLFVDKRQPVFADMGYTVQSASEPQTRLIYMYKDS EVRGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFLKEVPGHRK LEFESSLYEGHFLACQKEDEAFKLILKKDENGDKSVMFTLTNLHQ (SEQ ID NO: 126)
mD2D-A6	DGFRLHCTTAIRNINDQVLFVDKRQPVFADMGSIAQSASEPQTRLIYFYKDSE VRGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFLKA VPGDNKI EFESSLYEGHFLACQKEATAFKLILKKDENGDKSVMFTLTNLHQ (SEQ ID NO: 127)
mD2D-A7	YFGRLHCTTAIRNINGQVLFVDKRQPVFRDMADTVQSASEPQTRLIYFYKDSE VRGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFIKPVPGASKM EFESSLYEGHFLACQKEAGAFKLILKKDENGDKSVMFTLTNLHQ (SEQ ID NO: 128)
mD2D-A8	HFGRLHCTTAIRNINDQVLFVDKRQPVFKDMEYTVQSASEPQTRLIYFYKDSE EVRGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFIKAVPGDRKI EFESSLYEGHFLACQKEDNAFKLILKKDENGDKSVMFTLTNLHQ (SEQ ID NO: 129)
mD2D-A9	YFGRLHCTTAIRNINAQVLFVDKRQPVFADMADKGQSASEPQTRLIYMYKDS EVRGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFLKPVPGDTK MEFESSLYEGHFLACQKEFGAFKLILKKDENGDKSVMFTLTNLHQ (SEQ ID NO: 130)
mD2D-A11	YFGRLHCTTAIRNINEQVLFVDKRQPVFADMGRHQSASEPQTRLIYMYKDS EVRGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFIKPVPGASKL EFESSLYEGHFLACQKEDDAFKLILKKDENGDKSVMFTLTNLHQ (SEQ ID NO: 131)
mD2D-A12	HFGRLHCTTAIRNINDQVLFVDKRQPVFRDMGAIGQSASEPQTRLIYFYKDSE VRGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFIKPVPGDSKLE FESSLYEGHFLACQKEVDAFKLILKKDENGDKSVMFTLTNLHQ (SEQ ID NO: 132)

mD2D-B4	HFGRLHCTTAVIRNINSQVLFVDKRQPVFTDMGSIVQSASEPQTRLIYMYKDSE VRGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFIKGVPGDNKIE FESSLYEGHFLACQKEDRAFKLILKKDENGDKSVMFTLTNLHQ (SEQ ID NO: 133)
mD2D-B7	YFGRLHCTTAVIRNINSQVLFVDKRQPVFRDMEDTPQSASEPQTRLIYFYKDSE VRGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFIKRVPGDSKLE FESSLYEGHFLACQKEFAFKLILKKDENGDKSVMFTLTNLHQ (SEQ ID NO: 134)
mD2D-B11	HFGRLHCTTAVIRNINAQVLFVDKRQPVFGDMTATVQSASEPQTRLIYFYKDSE VRGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFIKPVPGDSKLE FESSLYEGHFLACQKEDNAFKLILKKDENGDKSVMFTLTNLHQ (SEQ ID NO: 135)
mD2D-B12	NFGRLHCTTAVIRNINNQVLFVDKRQPVFKDMETVQSASEPQTRLIYFYKDSE VRGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFIKGVPGDNKLE FESSLYEGHFLACQKEYEAFKLILKKDENGDKSVMFTLTNLHQ (SEQ ID NO: 136)
mD2D-C1	YFGRLHCTTAVIRNINGQVLFVDKRQPVFADMEATRQSASEPQTRLIYFYKDSE VRGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFIKGVPGANKM EFESSLYEGHFLACQKEDGAFKLILKKDENGDNNSVMFTLTNLHQ (SEQ ID NO: 137)
mD2D-C3	NFGRLHCTTAVIRNINGQVLFVDKRQPVFADMRAILQSASEPQTRLIYFYKDSE VRGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFLKGVPGDNLK EFESSLYEGHFLACQKEDRAFKLILKKDENGDKSVMFTLTNLHQ (SEQ ID NO: 138)
mD2D-C5	YFGRLHCTTAVIRNINAQVLFVDKRQPVFADMEATAQSASEPQTRLIYFYKDSE VRGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFIKGVPGASKM EFESSLYEGHFLACQKEDGAFKLILKKDENGDKSVMFTLTNLHQ (SEQ ID NO: 139)
mD2D-C6	LFGRLHCTTAVIRNINGQVLFVDKRQPVFADMGATLQSASEPQTRLIYFYKDSE VRGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFLKVPGDTKM EFESSLYEGHFLACQKEASAFKLILKKDENGDKSVMFTLTNLHQ (SEQ ID NO: 140)
mD2D-C9	NFGRLHCTTAVIRNINGQVLFVDKRQPVFEDMAYTVQSASEPQTRLIYFYKDSE VRGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFIKGVPGDSKM EFESSLYEGHFLACQKEYDAFKLILKKDENGDKSVMFTLTNLHQ (SEQ ID NO: 141)
mD2D-C10	DFGRLHCTTAVIRNINDQVLFVDKRQPVKDMESKPQSASEPQTRLIYFYKDSE VRGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFLKVAVPGASKL EFESSLYEGHFLACQKEANAFKLILKKDENGDKSVMFTLTNLHQ (SEQ ID NO: 142)
mD2D-C11	LFGRLHCTTAVIRNINGQVLFVDKRQPVFADMVKVQSASEPQTRLIYFYKDS EVRLAVTLSVKDSKMSTLSCKNIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFIKPVPGDNK EFESSLYEGHFLACQKEDEAFKLILKTDENGDKSVMFTLTNLHQ (SEQ ID NO: 143)
mD2D-D1	YFGRHHCTTAVIRNINQQVLFVDKRQPVFRDMAATRQSASEPQTRLIYFYKDS EVRLAVTLSVKDSKMSTLSCKNIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFLKGVPGDNK MEFESSLYEGHFLACQKEDDAFKLILKKDENGDKSVMFTLTNLHQ (SEQ ID NO: 144)
mD2D-D9	NFGRLHCTTAVIRNINQQVLFVDKRQPVFTDMESIGQSASEPQTRLIYFYKDSE RGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFLKVAVPGANKLE FESSLYEGHFLACQKEDSAFKLILKKDENGDKSVMFTLTNLHQ (SEQ ID NO: 145)
mD2D-D12	FFGRHHCTTAVIRNINGQVLFVDKRQPVFGDMGDRVQSASEPQTRLIYFYKDS EVRLAVTLSVKDSKMSTLSCKNIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFIKAVPGDSKI EFESSLYEGHFLACQKEDGAFKLILKKDENGDKSVMFTLTNLHQ (SEQ ID NO: 146)
mD2D-E3	VFGRHHCTTAVIRNINGQVLFVDKRQPVKDMTYIDQSASEPQTRLIYFYKDS VRGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFLKVAVPGDTKM EFESSLYEGHFLACQKEAQAFKLILKKDEIGDKSVMFTLTNLHQ (SEQ ID NO: 147)

mD2D-E4	NFGRLHCTTAVIRNINGQVLFVDKRQPVFADMTATRQSASEPQTRLIYMYKDS EVGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFIKQVPGANKI EFESSLYEGHFLACQKEFRAFKLILKKDENGDKSVMFTLTNLHQ (SEQ ID NO: 148)
mD2D-E5	DFGRLHCTTAVIRNINGQVLFVDKRQPVFGDMAYIGQSASEPQTRLIYFYKDSE VRGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFIKAVPGHSKIE FESSLYEGHFLACQKESGAFKLILKKDENGDKSVMFTLTNLHQ (SEQ ID NO: 149)
mD2D-E7	YFGRLHCTTAVIRNINDQVLFVDKRQPVFRDMGSIAQSASEPQTRLIYMYKDS VRGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFIKGVPGDRKME FESSLYEGHFLACQKEDGAFKLILKKDENGDKSVMFTLTNLHQ (SEQ ID NO: 150)
mD2D-E8	YFGRLHCTTAVIRNINEQVLFVDKRQPVFTDMAIGQSASEPQTRLIYFYKDSE RGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFIKGVPGDRKME FESSLYEGHFLACQKEDGAFKLILKKDENGDKSVMFTLTNLHQ (SEQ ID NO: 151)
mD2D-E9	FFGRLHCTTAVIRNINNQVLFVDKRQPVFEDMEYRLQSASEPQTRLIYMYKDS VRGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFLKPVPGASKL EFESSLYEGHFLACQKESDAFKLILKKDENGDKSVMFTLTNLHQ (SEQ ID NO: 152)
mD2D-E10	NFGRLHCTTAVIRNINNQVLFVDKRQPVFADMEDRLQSASEPQTRLIYMYKDS EVGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFLGVPGDNK MEFESSLYEGHFLACQKEDHAFKLILKKDENGDKSVMFTLTNLHQ (SEQ ID NO: 153)
mD2D-E11	YFGRLHCTTAVIRNINAQVLFVDKRQPVFRDMGYILQSASEPQTRLIYLYKDSE VRGLAVTLSVKESKMSTLSCKNKIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFLKPVPGDTKIE FESSLYEGHFLACQKEDNAFKLILKKDENGDKSVMFTLTNLHQ (SEQ ID NO: 154)
mD2D-E12	YFGRLHCTTAVIRNINDQVLFVDKRQPVFGDMADTAQSASEPQTRLIYFYKDSE VRGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFIKPVPGDSKM EFESSLYEGHFLACQKEADAFKLILKKDENGDKSVMFTLTNLHQ (SEQ ID NO: 155)
mD2D-F3	DFGRLHCTTAVIRNINGQVLFVDKRQPVFEDMAYIAQSASEPQTRLIYFYKDSE VRGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFIKPVPGDSKIE FESSLYEGHFLACQKEADAFKLILKKDENGDKSVMFTLTNLHQ (SEQ ID NO: 156)
mD2D-F4	NFGRLHCTTAVIRNINEQVLVDKRQPVFRDMKYILQSASEPQTRLIYFYKDSE VRGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFLGVPGDNK MEFESSLYEGHFLACQKEYGAFKLILKKDENGDKSVMFTLTNLHQ (SEQ ID NO: 157)
mD2D-F5	DFGRLHCTTAVIRNINEQVLFVDKRQPVFTDMAYILQSASEPQTRLIYFYKDSE RGLAVTLSVKESKMSTLSCKNKIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFIKAVPGDSKLEF ESSLYEGHFLACQKEDTAFKLILKKDENGDKSVMFTLTNLHQ (SEQ ID NO: 158)
mD2D-F7	DFGRLHCTTAVIRNINNQVLFVDKRQPVFKDMESTAQSASEPQTRLIYMYKDS VRGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFLKGVPGASKL EFESSLYEGHFLACQKEAGAFKLILKKDENGDKSVMFTLTNLHQ (SEQ ID NO: 159)
mD2D-F8	HFGRLHCTTAVIRNINEQVLFVDKRQPVFADMEAIGQSASEPQTRLIYFYKDSE VRGLAVTLSVKESKMSTLSCKNKIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFIKGVPGDTKLE FESSLYAGHFLACQKEDGAFKLILKKDENGDKSVMFTLTNLHQ (SEQ ID NO: 160)
mD2D-F9	IFGRLHCTTAVIRNINEQVLFVDKRQPVFKDMRYIVQSASEPQTRLIYFYKDSE RGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFIKEVPGASKLEF ESSLYEGHFLACQKEDEAFKLILKKDENGDKSVMFTLTNLHQ (SEQ ID NO: 161)
mD2D-G1	YFGRLHCTTAVIRNINAQVLFVDKRQPVFTDMGYTLQSASEPQTRLIYLYKDSE VRGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFIKPVPGHNSKIE FESSLYEGHFLACQKEDRAFKLILKKDENGDKSVMFTLTNLHQ (SEQ ID NO: 162)

mD2D-G7	NFGRLHCTTAVIRNINNQVLFVDKRQPVFRDMASTAQSASEPQTRLIIFYKDSE VRGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFIKGVPGANKIE FESSLYEGHFLACQKEDDAFKLILKKDENGDKSVMFTLTNLHQ (SEQ ID NO: 163)
mD2D-G9	DFGRLHCTTAVIRNINGQVLFVDKRQPVFEDMKDRAQSASEPQTRLIIFYKDSE VRGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFLKAVPGHSKM EFESSLYEGHFLACQKEDEAFKLILKKDENGDKSVMFTLTNLHQ (SEQ ID NO: 164)
mD2D-H7	NFGRLHCTTAVIRNINEQVLFVDKRQPVFADMTDIAQSASEPQTRLIIFYKDSE VRGLAVTLSVKESKMSTLSCKNKIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFLKPVPGDIKM EFESSLYEGHFLACQKEYGAFKLILKKDENGDNSVMFTLTNLHQ (SEQ ID NO: 165)
mD2D-E1	YFGRLHCTTAVIRNINEQVLFVDKRQPVFADMTDTLQSASEPQTRLIIFYKDSE VRGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFLGVPGDNK MEFESSLYEGHFLACQKEDTAFKLILKKDENGDKSVMFTLTNLHQ (SEQ ID NO: 166)
mD2D-G8	YFGRLHCTTAVIRNINEQVLFVDKRQPVFADMTDTLQSASEPQTRLIIFYKDSE VRGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFLGVPGDNK MEFESSLYEGHFLACQKEDTAFKLILKKDENGDKSVMFTLTNLHQ (SEQ ID NO: 167)
mD2D-H3	YFGRLHCTTAVIRNINEQVLFVDKRQPVFADMTDTLQSASEPQTRLIIFYKDSE VRGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFLGVPGDNK MEFESSLYEGHFLACQKEDTAFKLILKKDENGDKSVMFTLTNLHQ (SEQ ID NO: 168)
mD2D-A10	HFGRLHCTTAVIRNINGQVLFVDKRQPVFDMKYIVQSASEPQTRLIIFYKDSE VRGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFLKAVPGHSKIE FESSLYEGHFLACQKEDSAFKLILKKDENGDKSVMFTLTNLHQ (SEQ ID NO: 169)
mD2D-H1	HFGRLHCTTAVIRNINGQVLFVDKRQPVFDMKYIVQSASEPQTRLIIFYKDSE VRGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFLKAVPGHSKIE FESSLYEGHFLACQKEDSAFKLILKKDENGDKSVMFTLTNLHQ (SEQ ID NO: 170)
mD2D-F12	YFGRLHCTTAVIRNINGQVLFVDKRQPVFEDMKAKAQSASEPQTRLIIFYKDSE VRGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFIKPVPGASKM EFESSLYEGHFLACQKEDGAFKLILKKDENGDKSVMFTLTNLHQ (SEQ ID NO: 171)
mD2D-G10	YFGRLHCTTAVIRNINGQVLFVDKRQPVFEDMKAKAQSASEPQTRLIIFYKDSE VRGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFIKPVPGASKM EFESSLYEGHFLACQKEDGAFKLILKKDENGDKSVMFTLTNLHQ (SEQ ID NO: 172)
mD2D-G12	YFGRLHCTTAVIRNINGQVLFVDKRQPVFEDMKAKAQSASEPQTRLIIFYKDSE VRGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFIKPVPGASKM EFESSLYEGHFLACQKEDGAFKLILKKDENGDKSVMFTLTNLHQ (SEQ ID NO: 173)
mD2D-E2	LFGRLHCTTAVIRNINGQVLFVDKRQPVFGDMGSIPQSASEPQTRLIIFYKDSEV RGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFIKHVPGATKME FESSLYEGHFLACQKEDNAFKLILKKDENGDKSVMFTLTNLHQ (SEQ ID NO: 174)
mD2D-G11	LFGRLHCTTAVIRNINGQVLFVDKRQPVFGDMGSIPQSASEPQTRLIIFYKDSEV RGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFIKHVPGATKME FESSLYEGHFLACQKEDNAFKLILKKDENGDKSVMFTLTNLHQ (SEQ ID NO: 175)
mD2D-C4	YFGRLHCTTAVIRNINSQVLFVDKRQPVFTDMAVTVQSASEPQTRLIIFYKDSE VRGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFIKAVPGDSKLE FESSLYEGHFLACQKEDNAFKLILKKDENGDKSVMFTLTNLHQ (SEQ ID NO: 176)
mD2D-F11	YFGRLHCTTAVIRNINSQVLFVDKRQPVFTDMAVTVQSASEPQTRLIIFYKDSE VRGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPHENIDDIQSDLIFFIKAVPGDSKLE FESSLYEGHFLACQKEDNAFKLILKKDENGDKSVMFTLTNLHQ (SEQ ID NO: 177)

mD2D-C2	YFGRLHCTTAVIRNINGQVLFVDKRQPVFTDMGARVQSASEPQTRLIYFYKDSE VRGLAVTLSVKDSKMYTLSCKNIIISFEEMDPHENIDDIQSDLIIFFLKPVPGDNLKEFESSLYEGHFLACQKESGAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQ\$ (SEQ ID NO: 178)
mD2D-F10	YFGRLHCTTAVIRNINGQVLFVDKRQPVFTDMGARVQSASEPQTRLIYFYKDSE VRGLAVTLSVKDSKMYTLSCKNIIISFEEMDPHENIDDIQSDLIIFFLKPVPGDNLKEFESSLYEGHFLACQKESGAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQ\$ (SEQ ID NO: 179)
mD2D-A2	DFGRLHCTTAVIRNINGQVLFVDKRQPVFGDMKATGQSASEPQTRLIYFYKDSE VRGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNIIISFEEMDPHENIDDIQSDLIIFFIKAVPGANKLKEFESSLYEGHFLACQKEAGAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQ\$ (SEQ ID NO: 180)
mD2D-F6	DFGRLHCTTAVIRNINGQVLFVDKRQPVFGDMKATGQSASEPQTRLIYFYKDSE VRGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNIIISFEEMDPHENIDDIQSDLIIFFIKAVPGANKLKEFESSLYEGHFLACQKEAGAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQ\$ (SEQ ID NO: 181)
mD2D-A1	DFGRLHCTTAVIRNINSQVLFVDKRQPVFRDMGSIHQ\$ASEPQTRLIYFYKDSEVRGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNIIISFEEMDPHENIDDIQSDLIIFFLKAVPGANKLEFESSLYEGHFLACQKEDGAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQ\$ (SEQ ID NO: 182)
mD2D-E6	DFGRLHCTTAVIRNINSQVLFVDKRQPVFRDMGSIHQ\$ASEPQTRLIYFYKDSEVRGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNIIISFEEMDPHENIDDIQSDLIIFFLKAVPGANKLEFESSLYEGHFLACQKEDGAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQ\$ (SEQ ID NO: 183)
mD2D-D4	YFGRLHCTTAVIRNINEQVLFVDKRQPVFKDMKDKLQLQSASEPQTRLIYFYKDSE VRGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNIIISFEEMDPHENIDDIQSDLIIFFLKGVPGDNLKEFESSLYEGHFLACQKEFGAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQ\$ (SEQ ID NO: 184)
mD2D-D6	YFGRLHCTTAVIRNINEQVLFVDKRQPVFKDMKDKLQLQSASEPQTRLIYFYKDSE VRGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNIIISFEEMDPHENIDDIQSDLIIFFLKGVPGDNLKEFESSLYEGHFLACQKEFGAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQ\$ (SEQ ID NO: 185)
mD2D-A3	YFGRLHCTTAVIRNINGQVLFVDKRQPVFADMMASTHQ\$ASEPQTRLIYFYKDSE VRGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNIIISFEEMDPHENIDDIQSDLIIFFLKGVPGANKI EFESSLYEGHFLACQKEDDAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQ\$ (SEQ ID NO: 186)
mD2D-A4	YFGRLHCTTAVIRNINGQVLFVDKRQPVFADMMASTHQ\$ASEPQTRLIYFYKDSE VRGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNIIISFEEMDPHENIDDIQSDLIIFFLKGVPGANKI EFESSLYEGHFLACQKEDDAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQ\$ (SEQ ID NO: 187)
mD2D-B10	YFGRLHCTTAVIRNINSQVLFVDKRQPVFGDMKYIVQSASEPQTRLIYFYKDSE VRGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNIIISFEEMDPHENIDDIQSDLIIFFLKGVPGDTKM EFESSLYEGHFLACQKESGAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQ\$ (SEQ ID NO: 188)
mD2D-B8	YFGRLHCTTAVIRNINSQVLFVDKRQPVFGDMKYIVQSASEPQTRLIYFYKDSE VRGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNIIISFEEMDPHENIDDIQSDLIIFFLKGVPGDTKM EFESSLYEGHFLACQKESGAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQ\$ (SEQ ID NO: 189)
mD2D-B9	YFGRLHCTTAVIRNINSQVLFVDKRQPVFGDMKYIVQSASEPQTRLIYFYKDSE VRGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNIIISFEEMDPHENIDDIQSDLIIFFLKGVPGDTKM EFESSLYEGHFLACQKESGAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQ\$ (SEQ ID NO: 190)

Aspectos não limitantes exemplares da descrição

[00376] Aspectos, incluindo modalidades, do presente assunto em questão descrito anteriormente podem ser benéficos sozinhos ou em combinação com um ou mais outros aspectos ou modalidades. Sem limitar a

descrição precedente, certos aspectos não limitantes da descrição são providos a seguir em CONJUNTO a e CONJUNTO B. Como será evidente para os versados na técnica, mediante leitura desta descrição, cada um dos aspectos numerados individualmente pode ser usado ou combinado com qualquer dos aspectos precedentes ou numerados individualmente a seguir. Isto é pretendido para prover auxílio para todas tais combinações de aspectos e não é limitado às combinações de aspectos explicitamente providas a seguir. Seria evidente para os versados na técnica que várias alterações e modificações podem ser realizadas sem fugir do espírito ou escopo da invenção.

CONJUNTO A

- [00377] 1. Uma composição que compreende um polipeptídeo variante de IL-18, em que o polipeptídeo variante de IL-18 se liga especificamente ao receptor de IL-18 (IL-18R), e em que o polipeptídeo variante de IL-18 exibe ligação substancialmente reduzida à proteína de ligação de IL-18 (IL-18BP).
- [00378] 2. A composição de 1, em que o polipeptídeo variante de IL-18 compreende pelo menos uma mutação relacionada à IL-18 tipo selvagem (WT).
- [00379] 3. A composição de 2, em que a IL-18 WT é IL-18 de humano compreendendo a sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 30.
- [00380] 4. A composição de 2, em que a IL-18 WT é IL-18 de murino compreendendo a sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 31.
- [00381] 5. A composição de 3, em que o polipeptídeo variante de IL-18 compreende pelo menos uma mutação selecionada a partir do grupo que consiste em Y1X, L5X, K8X, M51X, K53X, S55X, Q56X, P57X, G59X, M60X, E77X, Q103X, S105X, D110X, N111X, M113X, V153X, e N155X, com relação à SEQ ID NO: 30.
- [00382] 6. A composição de 3, em que o polipeptídeo variante de IL-18 compreende pelo menos uma mutação selecionada a partir do grupo que

consiste em Y1H, Y1R, L5H, L5I, L5Y, K8Q, K8R, M51T, M51K, M51D, M51N, M51E, M51R, K53R, K53G, K53S, K53T, S55K, S55R, Q56E, Q56A, Q56R, Q56V, Q56G, Q56K, Q56L, P57L, P57G, P57A, P57K, G59T, G59A, M60K, M60Q, M60R, M60L, E77D, Q103E, Q103K, Q103P, Q103A, Q103R, S105R, S105D, S105K, S105N, S105A, D110H, D110K, D110N, D110Q, D110E, D110S, D110G, N111H, N111Y, N111D, N111R, N111S, N111G, M113V, M113R, M113T, M113K, V153I, V153T, V153A, N155K, e N155H com relação à SEQ ID NO: 30.

[00383] 7. A composição de 2, em que o polipeptídeo variante de IL-18 compreende pelo menos um polipeptídeo variante de IL-18 selecionado a partir do grupo que consiste em SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 88, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 90, SEQ ID NO: 91, ou um fragmento dos mesmos.

[00384] 8. A composição de 4, em que o polipeptídeo variante de IL-18 compreende pelo menos uma mutação selecionada a partir do grupo que consiste em N1X, M50X, Y51X, K52X, S54X, E55X, V56X, R57X, G58X, L59X, R104X, N109X, e L151X com relação à SEQ ID NO: 31.

[00385] 9. A composição de 4, em que o polipeptídeo variante de IL-18 compreende pelo menos uma mutação selecionada a partir do grupo que consiste em N1H, N1Y, M50A, M50S, M50V, M50G, M50T, Y51R, K52V, K52S, K52T, K52G, K52A, S54R, S54K, S54G, S54N, E55R, E55H, E55N,

E55D, E55G, V56L, V56M, V56R, V56A, V56S, V56Q, R57G, R57K, G58A, L59K, L59R, L59V, R104K, R104L, R104Q, R104S, N109D, e L151V com relação à SEQ ID NO: 31.

[00386] 10. A composição de 2, em que o polipeptídeo variante de IL-18 compreende pelo menos um polipeptídeo variante de IL-18 selecionado a partir do grupo que consiste em SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 72, ou um fragmento dos mesmos.

[00387] 11. Uma composição que compreende um ácido nucleico que codifica pelo menos um dos polipeptídeos variantes de IL-18 de 1-10.

[00388] 12. Um método para tratar ou prevenir uma doença ou distúrbio em um indivíduo em necessidade do mesmo, compreendendo administrar ao indivíduo pelo menos uma composição de 1-11.

[00389] 13. O método de 12, em que a doença ou distúrbio é câncer.

[00390] 14. O método de 13, em que o câncer é um câncer que é resistente aos inibidores de ponto de controle imunológico (ICIs).

[00391] 15. O método de 13, em que o câncer é associado a um tumor que perdeu a expressão de MHC de classe I.

[00392] 16. O método de 12, em que a doença ou distúrbio é uma doença ou distúrbio metabólico.

[00393] 17. O método de 12, em que a doença ou distúrbio é uma doença infecciosa.

[00394] 18. O método de 12, compreendendo administrar adicionalmente ao indivíduo pelo menos um outro agente.

[00395] 19. O método de 18, em que o pelo menos um outro agente compreende um inibidor de uma ou mais citocinas secundárias.

[00396] 20. O método de 19, em que a uma ou mais citocinas secundárias é pelo menos uma selecionada a partir do grupo que consiste em

IL-17, IL-5, e IL-13.

[00397] 21. O método de 19, em que o inibidor de uma ou mais citocinas secundárias compreende pelo menos um selecionado a partir do grupo que consiste em: um composto químico, um polipeptídeo, um peptídeo, um peptidomimético, um anticorpo, uma ribozima, um composto químico de molécula pequena, e uma molécula de ácido nucleico anti-sentido.

[00398] 22. Uma composição que compreende um inibidor de IL-18BP ou antagonista de IL-18BP, em que o inibidor ou antagonista inibe a capacidade de IL18BP neutralizar IL-18 endógena.

[00399] 23. A composição de 22, em que o inibidor ou antagonista compreende pelo menos um selecionado a partir do grupo que consiste em: um composto químico, um polipeptídeo, um peptídeo, um peptidomimético, um anticorpo, uma ribozima, um composto químico de molécula pequena, e uma molécula de ácido nucleico anti-sentido.

[00400] 24. A composição de 22 compreendendo um polipeptídeo variante de IL-18, em que o polipeptídeo variante de IL-18 se liga especificamente a proteína de ligação de IL-18 (IL-18BP), e em que o polipeptídeo variante de IL-18 exibe ligação substancialmente reduzida ao receptor de IL-18 (IL-18R).

[00401] 25. A composição de 24, em que o polipeptídeo variante de IL-18 compreende pelo menos uma mutação relacionada à IL-18 tipo selvagem (WT).

[00402] 26. A composição de 24, em que a IL-18 WT é IL-18 de humano compreendendo a sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 30.

[00403] 27. A composição de 24, em que a IL-18 WT é IL-18 de murino compreendendo a sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 31.

[00404] 28. A composição de 26, em que o polipeptídeo variante de IL-18 compreende pelo menos uma mutação selecionada a partir do grupo que consiste em Y1X, L5X, D17X, E31X, T34X, D35X, S36X, D37X, D40X,

N41X, M51X, Q56X, M60X, Q103X, H109X, M113X, e R131X com relação à SEQ ID NO: 30.

[00405] 29. A composição de 26, em que o polipeptídeo variante de IL-18 compreende pelo menos uma mutação selecionada a partir do grupo que consiste em Y1D, Y1F, Y1H, Y1L, L5F, L5H, D17A, D17G, D17R, D17H, E31A, E31T, E31G, E31K, E31R, T34A, T34K T34E, D35S, D35A, D35Y, S36N, S36K, S36R, D37P, D37A, D37R, D37H, D37L, D37V, D40Y D40S, D40A, N41K, N41S, N41R, M51F, M51L, M51I, Q56H, M60L, M60F, M60I, Q103L, Q103I, H109A, H109P, H109D, M113L, M113I, M113F, e R131S com relação à SEQ ID NO: 30.

[00406] 30. A composição de 24, em que o polipeptídeo variante de IL-18 compreende pelo menos um polipeptídeo variante de IL-18 selecionado a partir do grupo que consiste em SEQ ID NO: 92, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 94, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 96, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 98, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 100, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 102, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 106, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 108, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 110, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 115, SEQ ID NO: 116, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 121, SEQ ID NO: 122, SEQ ID NO: 123, SEQ ID NO: 124, SEQ ID NO: 125, ou um fragmento dos mesmos.

[00407] 31. A composição de 27, em que o polipeptídeo variante de IL-18 compreende pelo menos uma mutação selecionada a partir do grupo que consiste em N1X, L5X, D17X, E30X, T33X, D34X, I35X, D36X, M50X, Q102X, R104, H108X, N109X, M111X, D129X, e D130X com relação à SEQ ID NO: 31.

[00408] 32. A composição de 4, em que o polipeptídeo variante de IL-18 compreende pelo menos uma mutação selecionada a partir do grupo que consiste em N1Y, N1D, N1H, N1L, N1F, N1V, N1I, L5Y, L5H, D17Q,

D17G, D17A, D17E, D17S, D17N, E30A, E30R, E30K, E30T, E30G, T33G, T33A, T33E, T33R, T33K, D34Y, D34S, D34A, I35T, I35K, I35R, D36V, D36A, D36G, D36H, D36P, D36R, D36L, M50F, M50L, Q102L, Q102I, R104E, R104A, R104P, R104G, R104Q, R104H, H108D, H108A, N109R, N109S, N109T, N109I, M111L, M111I, D129A, D129F, D129V, D129Y, D129S, D130E, D130T, D130G, D130N, D130R, D130S, D130Q, e D130H com relação à SEQ ID NO: 31.

[00409] 33. A composição de 2, em que o polipeptídeo variante de IL-18 compreende pelo menos um polipeptídeo variante de IL-18 selecionado a partir do grupo que consiste em SEQ ID NO: 126, SEQ ID NO: 127, SEQ ID NO: 128, SEQ ID NO: 129, SEQ ID NO: 130, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 132, SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 134, SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 136, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 138, SEQ ID NO: 139, SEQ ID NO: 140, SEQ ID NO: 141, SEQ ID NO: 142, SEQ ID NO: 143, SEQ ID NO: 144, SEQ ID NO: 145, SEQ ID NO: 146, SEQ ID NO: 147, SEQ ID NO: 148, SEQ ID NO: 149, SEQ ID NO: 150, SEQ ID NO: 151, SEQ ID NO: 152, SEQ ID NO: 153, SEQ ID NO: 154, SEQ ID NO: 155, SEQ ID NO: 156, SEQ ID NO: 157, SEQ ID NO: 158, SEQ ID NO: 159, SEQ ID NO: 160, SEQ ID NO: 161, SEQ ID NO: 162, SEQ ID NO: 163, SEQ ID NO: 164, SEQ ID NO: 165, SEQ ID NO: 166, SEQ ID NO: 167, SEQ ID NO: 168, SEQ ID NO: 169, SEQ ID NO: 170, SEQ ID NO: 171, SEQ ID NO: 172, SEQ ID NO: 173, SEQ ID NO: 174, SEQ ID NO: 175, SEQ ID NO: 176, SEQ ID NO: 177, SEQ ID NO: 178, SEQ ID NO: 179, SEQ ID NO: 180, SEQ ID NO: 181, SEQ ID NO: 182, SEQ ID NO: 183, SEQ ID NO: 184, SEQ ID NO: 185, SEQ ID NO: 186, SEQ ID NO: 187, SEQ ID NO: 188, SEQ ID NO: 189, SEQ ID NO: 190, ou um fragmento dos mesmos.

[00410] 34. Uma composição que compreende um ácido nucleico que codifica pelo menos um dos polipeptídeos variantes de IL-18 de 24-33.

[00411] 35. Um método para tratar ou prevenir uma doença ou

distúrbio em um indivíduo em necessidade do mesmo, compreendendo administrar ao indivíduo pelo menos uma composição de 22-34.

- [00412] 36. O método de 35, em que a doença ou distúrbio é câncer.
- [00413] 37. O método de 36, em que o câncer é um câncer que é resistente aos inibidores de ponto de controle imunológico (ICIs).
- [00414] 38. O método de 36, em que o câncer é associado a um tumor que perdeu a expressão de MHC de classe I.
- [00415] 39. O método de 35, em que a doença ou distúrbio é uma doença ou distúrbio metabólico.
- [00416] 40. O método de 35, em que a doença ou distúrbio é uma doença infecciosa.
- [00417] 41. O método de 35, compreendendo administrar adicionalmente ao indivíduo pelo menos um outro agente.
- [00418] 42. O método de 41, em que o pelo menos um outro agente compreende um inibidor de uma ou mais citocinas secundárias.
- [00419] 43. O método de 42, em que a uma ou mais citocinas secundárias é pelo menos uma selecionada a partir do grupo que consiste em IL-17, IL-5, e IL-13.
- [00420] 44. O método de 42, em que o inibidor de uma ou mais citocinas secundárias compreende pelo menos um selecionado a partir do grupo que consiste em: um composto químico, um polipeptídeo, um peptídeo, um peptidomimético, um anticorpo, uma ribozima, um composto químico de molécula pequena, e uma molécula de ácido nucleico anti-sentido.

CONJUNTO B

- [00421] 1. Uma composição que compreende um polipeptídeo variante de IL-18, em que o polipeptídeo variante de IL-18 se liga especificamente ao receptor de IL-18 (IL-18R), e em que o polipeptídeo variante de IL-18 exibe ligação substancialmente reduzida à proteína de ligação de IL-18 (IL-18BP).
- [00422] 2. A composição de 1, em que o polipeptídeo variante de IL-18

compreende pelo menos uma mutação relacionada à IL-18 tipo selvagem (WT).

[00423] 3. A composição de 2, em que a IL-18 WT é IL-18 de humano compreendendo a sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 30.

[00424] 4. A composição de 2, em que a IL-18 WT é IL-18 de murino compreendendo a sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 31.

[00425] 5. A composição de 3, em que o polipeptídeo variante de IL-18 compreende pelo menos uma mutação selecionada a partir do grupo que consiste em Y1X, L5X, K8X, M51X, K53X, S55X, Q56X, P57X, G59X, M60X, E77X, Q103X, S105X, D110X, N111X, M113X, V153X, e N155X com relação à SEQ ID NO: 30.

[00426] 6. A composição de 3, em que o polipeptídeo variante de IL-18 compreende pelo menos uma mutação selecionada a partir do grupo que consiste em Y1H, Y1R, L5H, L5I, L5Y, K8Q, K8R, M51T, M51K, M51D, M51N, M51E, M51R, K53R, K53G, K53S, K53T, S55K, S55R, Q56E, Q56A, Q56R, Q56V, Q56G, Q56K, Q56L, P57L, P57G, P57A, P57K, G59T, G59A, M60K, M60Q, M60R, M60L, E77D, Q103E, Q103K, Q103P, Q103A, Q103R, S105R, S105D, S105K, S105N, S105A, D110H, D110K, D110N, D110Q, D110E, D110S, D110G, N111H, N111Y, N111D, N111R, N111S, N111G, M113V, M113R, M113T, M113K, V153I, V153T, V153A, N155K, e N155H com relação à SEQ ID NO: 30.

[00427] 7. A composição de 3, em que o polipeptídeo variante de IL-18 compreende as mutações M51X, M60X, S105X, D110X, e N111X com relação à SEQ ID NO: 30.

[00428] 8. A composição de 3, em que o polipeptídeo variante de IL-18 compreende as mutações M51X, K53X, Q56X, S105X, e N111X com relação à SEQ ID NO: 30.

[00429] 9. A composição de 2, em que o polipeptídeo variante de IL-18 compreende a sequência de aminoácido apresentada em qualquer uma das

SEQ ID NOs.: 34-59, 73-91, e 191-193, ou um fragmento dos mesmos.

[00430] 10. A composição de 4, em que o polipeptídeo variante de IL-18 compreende pelo menos uma mutação selecionada a partir do grupo que consiste em N1X, M50X, Y51X, K52X, S54X, E55X, V56X, R57X, G58X, L59X, R104X, N109X, e L151X com relação à SEQ ID NO: 31.

[00431] 11. A composição de 4, em que o polipeptídeo variante de IL-18 compreende pelo menos uma mutação selecionada a partir do grupo que consiste em N1H, N1Y, M50A, M50S, M50V, M50G, M50T, Y51R, K52V, K52S, K52T, K52G, K52A, S54R, S54K, S54G, S54N, E55R, E55H, E55N, E55D, E55G, V56L, V56M, V56R, V56A, V56S, V56Q, R57G, R57K, G58A, L59K, L59R, L59V, R104K, R104L, R104Q, R104S, N109D, e L151V com relação à SEQ ID NO: 31.

[00432] 12. A composição de 2, em que o polipeptídeo variante de IL-18 compreende a sequência de aminoácido apresentada em qualquer uma das SEQ ID NOs.: 60-72, ou um fragmento dos mesmos.

[00433] 13. Uma composição que compreende um ácido nucleico que codifica o polipeptídeo variante de IL-18 da composição de qualquer um de 1-12.

[00434] 14. A composição de qualquer um de 1-13, compreendendo adicionalmente um ou mais agentes selecionados a partir de: (i) um inibidor do ponto de controle imunológico; (ii) um agente que inibe uma ou mais proteínas selecionadas a partir de PD-L1, PD1, CTLA4, TIM3, TIGIT, LAG3, B7H3, B7H4, VISTA, ICOS, GITR, 41BB, OX40, e CD40; (iii) um agente de opsonização de células de câncer; e (iv) um agente que alveja um ou mais抗ígenos selecionados a partir de: CD19, CD20, CD22, CD24, CD25, CD30, CD33, CD37, CD38, CD44, CD45, CD47, CD51, CD52, CD56, CD62L, CD70, CD74, CD79, CD80, CD96, CD97, CD99, CD123, CD134, CD138, CD152 (CTLA-4), CD200, CD213A2, CD221, CD248, CD276 (B7-H3), B7-H4, CD279 (PD-1), CD274 (PD-L1), CD319, EGFR, EPCAM, 17-1A, HER1,

HER2, HER3, CD117, C-Met, HGFR, PDGFRA, AXL, TWEAKR, PTHR2, HAVCR2 (TIM3), gangliosídeo GD2, MUC1, mucina CanAg, mesotelina, endoglina, antígeno de Lewis-Y, CEA, CEACAM1, CEACAM5, CA-125, PSMA, BAFF, FGFR2, MARCAÇÃO-72, gelatinase B, glipicana 3, nectina-4, BCMA, CSF1R, SLAMF7, integrina $\alpha_v\beta_3$, TYRP1, GP NMB, CLDN18.2, FOLR1, CCR4, CXCR4, MICA, antígeno C242, DLL3, DLL4, EGFL7, vimentina, domínio extra de fibronectina B, TROP-2, LRRC15, FAP, SLTRK6, NOTCH2, NOTCH3, Tenascina-3, STEAP1, e NRP1.

[00435] 15. Um método para tratar ou prevenir uma doença ou distúrbio em um indivíduo em necessidade do mesmo, compreendendo administrar ao indivíduo a composição de qualquer um de 1-14.

[00436] 16. O método de 15, em que a doença ou distúrbio é câncer.

[00437] 17. O método de 16, em que o câncer é um câncer que é resistente aos inibidores de ponto de controle imunológico (ICIs).

[00438] 18. O método de 16, em que o câncer é associado a um tumor que perdeu a expressão de MHC de classe I.

[00439] 19. O método de 15, em que a doença ou distúrbio é uma doença ou distúrbio metabólico.

[00440] 20. O método de 15, em que a doença ou distúrbio é uma doença infecciosa.

[00441] 21. O método de qualquer um de 15-20, em que o método compreende administrar ao indivíduo o polipeptídeo variante de IL-18 e pelo menos um outro agente.

[00442] 22. O método de 21, em que o pelo menos um outro agente compreende um inibidor do ponto de controle imunológico.

[00443] 23. O método de 22, em que o inibidor do ponto de controle imunológico é um agente que inibe PD-L1, PD1, CTLA4, TIM3, TIGIT, LAG3, B7H3, B7H4, VISTA, ICOS, GITR, 41BB, OX40, ou CD40, ou qualquer combinação dos mesmos.

[00444] 24. O método de 21, em que o pelo menos um outro agente compreende um agente de opsonização de células de câncer.

[00445] 25. O método de 24, em que o pelo menos um outro agente alveja um ou mais抗ígenos selecionados a partir de: CD19, CD20, CD22, CD24, CD25, CD30, CD33, CD37, CD38, CD44, CD45, CD47, CD51, CD52, CD56, CD62L, CD70, CD74, CD79, CD80, CD96, CD97, CD99, CD123, CD134, CD138, CD152 (CTLA-4), CD200, CD213A2, CD221, CD248, CD276 (B7-H3), B7-H4, CD279 (PD-1), CD274 (PD-L1), CD319, EGFR, EPCAM, 17-1A, HER1, HER2, HER3, CD117, C-Met, HGFR, PDGFRA, AXL, TWEAKR, PTHR2, HAVCR2 (TIM3), gangliosídeo GD2, MUC1, mucina CanAg, mesotelina, endoglinina, antígeno de Lewis-Y, CEA, CEACAM1, CEACAM5, CA-125, PSMA, BAFF, FGFR2, MARCAÇÃO-72, gelatinase B, glipicana 3, nectina-4, BCMA, CSF1R, SLAMF7, integrina $\alpha_v\beta_3$, TYRP1, GP NMB, CLDN18.2, FOLR1, CCR4, CXCR4, MICA, antígeno C242, DLL3, DLL4, EGFL7, vimentina, domínio extra de fibronectina B, TROP-2, LRRC15, FAP, SLITRK6, NOTCH2, NOTCH3, Tenascina-3, STEAP1, e NRP1.

[00446] 26. O método de qualquer um de 21-25, em que o pelo menos um outro agente é conjugado com o polipeptídeo variante de IL-18.

[00447] 27. O método de 21, em que o pelo menos um outro agente é uma célula T ou célula NK alterada.

[00448] 28. O método de 21, em que o pelo menos um outro agente é um vírus oncolítico.

[00449] 29. Uma composição que compreende um inibidor de IL-18BP ou antagonista de IL-18BP, em que o inibidor ou antagonista inibe a capacidade de IL18BP to neutralize IL-18 endógena.

[00450] 30. A composição de 29, em que o inibidor ou antagonista compreende pelo menos um selecionado a partir do grupo que consiste em: um composto químico, um polipeptídeo, um peptídeo, um peptidomimético,

um anticorpo, uma ribozima, um composto químico de molécula pequena, e uma molécula de ácido nucleico anti-sentido.

[00451] 31. A composição de 30, compreendendo um polipeptídeo variante de IL-18, em que o polipeptídeo variante de IL-18 se liga especificamente a proteína de ligação de IL-18 (IL-18BP), e em que o polipeptídeo variante de IL-18 exibe ligação substancialmente reduzida ao receptor de IL-18 (IL-18R).

[00452] 32. A composição de 31, em que o polipeptídeo variante de IL-18 compreende pelo menos uma mutação relacionada à IL-18 tipo selvagem (WT).

[00453] 33. A composição de 32, em que a IL-18 WT é IL-18 de humano compreendendo a sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 30.

[00454] 34. A composição de 32, em que a IL-18 WT é IL-18 de murino compreendendo a sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 31.

[00455] 35. A composição de 33, em que o polipeptídeo variante de IL-18 compreende pelo menos uma mutação selecionada a partir do grupo que consiste em Y1X, L5X, D17X, E31X, T34X, D35X, S36X, D37X, D40X, N41X, M51X, Q56X, M60X, Q103X, H109X, M113X, e R131X com relação à SEQ ID NO: 30.

[00456] 36. A composição de 33, em que o polipeptídeo variante de IL-18 compreende pelo menos uma mutação selecionada a partir do grupo que consiste em Y1D, Y1F, Y1H, Y1L, L5F, L5H, D17A, D17G, D17R, D17H, E31A, E31T, E31G, E31K, E31R, T34A, T34K T34E, D35S, D35A, D35Y, S36N, S36K, S36R, D37P, D37A, D37R, D37H, D37L, D37V, D40Y D40S, D40A, N41K, N41S, N41R, M51F, M51L, M51I, Q56H, M60L, M60F, M60I, Q103L, Q103I, H109A, H109P, H109D, M113L, M113I, M113F, e R131S com relação à SEQ ID NO: 30.

[00457] 37. A composição de 33, em que o polipeptídeo variante de IL-18 compreende a sequência de aminoácido apresentada em qualquer uma das

SEQ ID NOs.: 92-125, ou um fragmento dos mesmos.

[00458] 38. A composição de 33, em que o polipeptídeo variante de IL-18 compreende as mutações D17X, E30X, e Q103X com relação à SEQ ID NO: 30.

[00459] 39. A composição de 33, em que o polipeptídeo variante de IL-18 compreende as mutações D17X, E30X, D35X, M51X, e Q103X com relação à SEQ ID NO: 30.

[00460] 40. A composição de 34, em que o polipeptídeo variante de IL-18 compreende pelo menos uma mutação selecionada a partir do grupo que consiste em N1X, L5X, D17X, E30X, T33X, D34X, I35X, D36X, M50X, Q102X, R104, H108X, N109X, M111X, D129X, e D130X com relação à SEQ ID NO: 31.

[00461] 41. A composição de 34, em que o polipeptídeo variante de IL-18 compreende pelo menos uma mutação selecionada a partir do grupo que consiste em N1Y, N1D, N1H, N1L, N1F, N1V, N1I, L5Y, L5H, D17Q, D17G, D17A, D17E, D17S, D17N, E30A, E30R, E30K, E30T, E30G, T33G, T33A, T33E, T33R, T33K, D34Y, D34S, D34A, I35T, I35K, I35R, D36V, D36A, D36G, D36H, D36P, D36R, D36L, M50F, M50L, Q102L, Q102I, R104E, R104A, R104P, R104G, R104Q, R104H, H108D, H108A, N109R, N109S, N109T, N109I, M111L, M111I, D129A, D129F, D129V, D129Y, D129S, D130E, D130T, D130G, D130N, D130R, D130S, D130Q, e D130H com relação à SEQ ID NO: 31.

[00462] 42. A composição de 34, em que o polipeptídeo variante de IL-18 compreende a sequência de aminoácido apresentada em qualquer uma das SEQ ID NOs.: 126-190, ou um fragmento dos mesmos.

[00463] 43. Uma composição que compreende um ácido nucleico que codifica o polipeptídeo variante de IL-18 da composição de qualquer um de 31-42.

[00464] 44. A composição de qualquer um de 19-43, compreendendo

adicionalmente um ou mais agentes selecionados a partir de: (i) um inibidor do ponto de controle imunológico; (ii) um agente que inibe uma ou mais proteínas selecionadas a partir de PD-L1, PD1, CTLA4, TIM3, TIGIT, LAG3, B7H3, B7H4, VISTA, ICOS, GITR, 41BB, OX40, e CD40; (iii) um agente de opsonização de células de câncer; e (iv) um agente que alveja um ou mais抗ígenos selecionados a partir de: CD19, CD20, CD22, CD24, CD25, CD30, CD33, CD37, CD38, CD44, CD45, CD47, CD51, CD52, CD56, CD62L, CD70, CD74, CD79, CD80, CD96, CD97, CD99, CD123, CD134, CD138, CD152 (CTLA-4), CD200, CD213A2, CD221, CD248, CD276 (B7-H3), B7-H4, CD279 (PD-1), CD274 (PD-L1), CD319, EGFR, EPCAM, 17-1A, HER1, HER2, HER3, CD117, C-Met, HGFR, PDGFRA, AXL, TWEAKR, PTHR2, HAVCR2 (TIM3), gangliosídeo GD2, MUC1, mucina CanAg, mesotelina, endoglinina, antígeno de Lewis-Y, CEA, CEACAM1, CEACAM5, CA-125, PSMA, BAFF, FGFR2, MARCAÇÃO-72, gelatinase B, glipicana 3, nectina-4, BCMA, CSF1R, SLAMF7, integrina $\alpha_v\beta_3$, TYRP1, GP NMB, CLDN18.2, FOLR1, CCR4, CXCR4, MICA, antígeno C242, DLL3, DLL4, EGFL7, vimentina, domínio extra de fibronectina B, TROP-2, LRRC15, FAP, SLTRK6, NOTCH2, NOTCH3, Tenascina-3, STEAP1, e NRP1.

[00465] 45. Um método para tratar ou prevenir uma doença ou distúrbio em um indivíduo em necessidade do mesmo, compreendendo administrar ao indivíduo a composição de qualquer um de 29-44.

[00466] 46. O método de 45, em que a doença ou distúrbio é câncer.

[00467] 47. O método de 46, em que o câncer é um câncer que é resistente aos inibidores de ponto de controle imunológico (ICIs).

[00468] 48. O método de 46, em que o câncer é associado a um tumor que perdeu a expressão de MHC de classe I.

[00469] 49. O método de 45, em que a doença ou distúrbio é uma doença ou distúrbio metabólico.

[00470] 50. O método de 45, em que a doença ou distúrbio é uma

doença infecciosa.

[00471] 51. O método de qualquer um de 45-50, em que o método compreende administrar ao indivíduo o polipeptídeo variante de IL-18 e pelo menos um outro agente.

[00472] 52. O método de 51, em que o pelo menos um outro agente compreende um inibidor do ponto de controle imunológico.

[00473] 53. O método de 52, em que o inibidor do ponto de controle imunológico é um agente que inibe PD-L1, PD1, CTLA4, TIM3, TIGIT, LAG3, B7H3, B7H4, VISTA, ICOS, GITR, 41BB, OX40, ou CD40, ou qualquer combinação dos mesmos.

[00474] 54. O método de 51, em que o pelo menos um outro agente compreende um agente de opsonização de células de câncer.

[00475] 55. O método de 51, em que o pelo menos um outro agente alveja um ou mais抗ígenos selecionados a partir de: CD19, CD20, CD22, CD24, CD25, CD30, CD33, CD37, CD38, CD44, CD45, CD47, CD51, CD52, CD56, CD62L, CD70, CD74, CD79, CD80, CD96, CD97, CD99, CD123, CD134, CD138, CD152 (CTLA-4), CD200, CD213A2, CD221, CD248, CD276 (B7-H3), B7-H4, CD279 (PD-1), CD274 (PD-L1), CD319, EGFR, EPCAM, 17-1A, HER1, HER2, HER3, CD117, C-Met, HGFR, PDGFRA, AXL, TWEAKR, PTHR2, HAVCR2 (TIM3), gangliosídeo GD2, MUC1, mucina CanAg, mesotelina, endogolina, antígeno de Lewis-Y, CEA, CEACAM1, CEACAM5, CA-125, PSMA, BAFF, FGFR2, MARCAÇÃO-72, gelatinase B, glipicana 3, nectina-4, BCMA, CSF1R, SLAMF7, integrina $\alpha_v\beta_3$, TYRP1, GP NMB, CLDN18.2, FOLR1, CCR4, CXCR4, MICA, antígeno C242, DLL3, DLL4, EGFL7, vimentina, domínio extra de fibronectina B, TROP-2, LRRC15, FAP, SLITRK6, NOTCH2, NOTCH3, Tenascina-3, STEAP1, e NRP1.

[00476] 56. O método de qualquer um de 51-55, em que o pelo menos um outro agente é conjugado com o polipeptídeo variante de IL-18.

[00477] 57. O método de 51, em que o pelo menos um outro agente é uma célula T ou célula NK alterada.

[00478] 58. O método de 51, em que o pelo menos um outro agente é um vírus oncolítico.

[00479] As descrições de cada patente, pedido de patente e publicação aqui citadas são aqui incorporadas pela referência na sua íntegra. Embora esta invenção seja descrita com referência às modalidades específicas, é evidente que outras modalidades e variações desta possam ser inventadas por outros versados na técnica sem fugir do verdadeiro espírito e escopo da invenção. Pretende-se que as reivindicações em anexo sejam interpretadas para incluir todas as tais modalidades e variações equivalentes.

REIVINDICAÇÕES

1. Composição, caracterizada pelo fato de que compreende um polipeptídeo variante de IL-18, em que o polipeptídeo variante de IL-18 se liga especificamente ao receptor de IL-18 (IL-18R), e em que o polipeptídeo variante de IL-18 exibe ligação substancialmente reduzida à proteína de ligação de IL-18 (IL-18BP).

2. Composição de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que o polipeptídeo variante de IL-18 compreende pelo menos uma mutação relacionada à IL-18 tipo selvagem (WT).

3. Composição de acordo com a reivindicação 2, caracterizada pelo fato de que a IL-18 WT é IL-18 de humano compreendendo a sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 30.

4. Composição de acordo com a reivindicação 2, caracterizada pelo fato de que a IL-18 WT é IL-18 de murino compreendendo a sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 31.

5. Composição de acordo com a reivindicação 3, caracterizada pelo fato de que o polipeptídeo variante de IL-18 compreende pelo menos uma mutação selecionada a partir do grupo que consiste em Y1X, L5X, K8X, M51X, K53X, S55X, Q56X, P57X, G59X, M60X, E77X, Q103X, S105X, D110X, N111X, M113X, V153X, e N155X com relação à SEQ ID NO: 30.

6. Composição de acordo com a reivindicação 3, caracterizada pelo fato de que o polipeptídeo variante de IL-18 compreende pelo menos uma mutação selecionada a partir do grupo que consiste em Y1H, Y1R, L5H, L5I, L5Y, K8Q, K8R, M51T, M51K, M51D, M51N, M51E, M51R, K53R, K53G, K53S, K53T, S55K, S55R, Q56E, Q56A, Q56R, Q56V, Q56G, Q56K, Q56L, P57L, P57G, P57A, P57K, G59T, G59A, M60K, M60Q, M60R, M60L, E77D, Q103E, Q103K, Q103P, Q103A, Q103R, S105R, S105D, S105K, S105N, S105A, D110H, D110K, D110N, D110Q, D110E, D110S, D110G, N111H, N111Y, N111D, N111R, N111S, N111G, M113V, M113R,

M113T, M113K, V153I, V153T, V153A, N155K, e N155H com relação à SEQ ID NO: 30.

7. Composição de acordo com a reivindicação 3, caracterizada pelo fato de que o polipeptídeo variante de IL-18 compreende as mutações M51X, M60X, S105X, D110X, e N111X com relação à SEQ ID NO: 30.

8. Composição de acordo com a reivindicação 3, caracterizada pelo fato de que o polipeptídeo variante de IL-18 compreende as mutações M51X, K53X, Q56X, S105X, e N111X com relação à SEQ ID NO: 30.

9. Composição de acordo com a reivindicação 2, caracterizada pelo fato de que o polipeptídeo variante de IL-18 compreende a sequência de aminoácido apresentada em qualquer uma das SEQ ID NOs.: 34-59, 73-91, 191-193, ou um fragmento dos mesmos.

10. Composição de acordo com a reivindicação 4, caracterizada pelo fato de que o polipeptídeo variante de IL-18 compreende pelo menos uma mutação selecionada a partir do grupo que consiste em N1X, M50X, Y51X, K52X, S54X, E55X, V56X, R57X, G58X, L59X, R104X, N109X, e L151X com relação à SEQ ID NO: 31.

11. Composição de acordo com a reivindicação 4, caracterizada pelo fato de que o polipeptídeo variante de IL-18 compreende pelo menos uma mutação selecionada a partir do grupo que consiste em N1H, N1Y, M50A, M50S, M50V, M50G, M50T, Y51R, K52V, K52S, K52T, K52G, K52A, S54R, S54K, S54G, S54N, E55R, E55H, E55N, E55D, E55G, V56L, V56M, V56R, V56A, V56S, V56Q, R57G, R57K, G58A, L59K, L59R, L59V, R104K, R104L, R104Q, R104S, N109D, e L151V com relação à SEQ ID NO: 31.

12. Composição de acordo com a reivindicação 2, caracterizada pelo fato de que o polipeptídeo variante de IL-18 compreende a sequência de aminoácido apresentada em qualquer uma das SEQ ID NOs.: 60-72, ou um fragmento dos mesmos.

13. Composição, caracterizada pelo fato de que compreende um ácido nucleico que codifica o polipeptídeo variante de IL-18 da composição como definida em qualquer uma das reivindicações 1 a 12.

14. Composição de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 13, caracterizada pelo fato de que compreende adicionalmente um ou mais agentes selecionados a partir de: (i) um inibidor do ponto de controle imunológico; (ii) um agente que inibe uma ou mais proteínas selecionadas a partir de PD-L1, PD1, CTLA4, TIM3, TIGIT, LAG3, B7H3, B7H4, VISTA, ICOS, GITR, 41BB, OX40, e CD40; (iii) um agente de opsonização de células de câncer; e (iv) um agente que alveja um ou mais抗ígenos selecionados a partir de: CD19, CD20, CD22, CD24, CD25, CD30, CD33, CD37, CD38, CD44, CD45, CD47, CD51, CD52, CD56, CD62L, CD70, CD74, CD79, CD80, CD96, CD97, CD99, CD123, CD134, CD138, CD152 (CTLA-4), CD200, CD213A2, CD221, CD248, CD276 (B7-H3), B7-H4, CD279 (PD-1), CD274 (PD-L1), CD319, EGFR, EPCAM, 17-1A, HER1, HER2, HER3, CD117, C-Met, HGFR, PDGFRA, AXL, TWEAKR, PTHR2, HAVCR2 (TIM3), gangliosídeo GD2, MUC1, mucina CanAg, mesotelina, endoglin, antígeno de Lewis-Y, CEA, CEACAM1, CEACAM5, CA-125, PSMA, BAFF, FGFR2, MARCAÇÃO-72, gelatinase B, glipicana 3, nectina-4, BCMA, CSF1R, SLAMF7, integrina $\alpha\beta 3$, TYRP1, GP NMB, CLDN18.2, FOLR1, CCR4, CXCR4, MICA, antígeno C242, DLL3, DLL4, EGFL7, vimentina, domínio extra de fibronectina B, TROP-2, LRRC15, FAP, SLTRK6, NOTCH2, NOTCH3, Tenascina-3, STEAP1, e NRP1.

15. Método para tratar ou prevenir uma doença ou distúrbio em um indivíduo em necessidade do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende administrar ao indivíduo a composição como definida em qualquer uma das reivindicações 1 a 14.

16. Método de acordo com a reivindicação 15, caracterizado pelo fato de que a doença ou distúrbio é câncer.

17. Método de acordo com a reivindicação 16, caracterizado pelo fato de que o câncer é um câncer que é resistente aos inibidores de ponto de controle imunológico (ICIs).

18. Método de acordo com a reivindicação 16, caracterizado pelo fato de que o câncer é associado a um tumor que perdeu a expressão de MHC de classe I.

19. Método de acordo com a reivindicação 15, caracterizado pelo fato de que a doença ou distúrbio é uma doença ou distúrbio metabólico.

20. Método de acordo com a reivindicação 15, caracterizado pelo fato de que a doença ou distúrbio é uma doença infecciosa.

21. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 15 a 20, caracterizado pelo fato de que o método compreende administrar ao indivíduo o polipeptídeo variante de IL-18 e pelo menos um outro agente.

22. Método de acordo com a reivindicação 21, caracterizado pelo fato de que o pelo menos um outro agente compreende um inibidor do ponto de controle imunológico.

23. Método de acordo com a reivindicação 22, caracterizado pelo fato de que o inibidor do ponto de controle imunológico é um agente que inibe PD-L1, PD1, CTLA4, TIM3, TIGIT, LAG3, B7H3, B7H4, VISTA, ICOS, GITR, 41BB, OX40, ou CD40, ou qualquer combinação dos mesmos.

24. Método de acordo com a reivindicação 21, caracterizado pelo fato de que o pelo menos um outro agente compreende um agente de opsonização de células de câncer.

25. Método de acordo com a reivindicação 24, caracterizado pelo fato de que o pelo menos um outro agente alveja um ou mais抗ígenos selecionados a partir de: CD19, CD20, CD22, CD24, CD25, CD30, CD33, CD37, CD38, CD44, CD45, CD47, CD51, CD52, CD56, CD62L, CD70, CD74, CD79, CD80, CD96, CD97, CD99, CD123, CD134, CD138, CD152 (CTLA-4), CD200, CD213A2, CD221, CD248, CD276 (B7-H3), B7-H4,

CD279 (PD-1), CD274 (PD-L1), CD319, EGFR, EPCAM, 17-1A, HER1, HER2, HER3, CD117, C-Met, HGFR, PDGFRA, AXL, TWEAKR, PTHR2, HAVCR2 (TIM3), gangliosídeo GD2, MUC1, mucina CanAg, mesotelina, endoglin, antígeno de Lewis-Y, CEA, CEACAM1, CEACAM5, CA-125, PSMA, BAFF, FGFR2, MARCAÇÃO-72, gelatinase B, glipicana 3, nectina-4, BCMA, CSF1R, SLAMF7, integrina $\alpha\beta 3$, TYRP1, GP NMB, CLDN18.2, FOLR1, CCR4, CXCR4, MICA, antígeno C242, DLL3, DLL4, EGFL7, vimentina, domínio extra de fibronectina B, TROP-2, LRRC15, FAP, SLTRK6, NOTCH2, NOTCH3, Tenascina-3, STEAP1, e NRP1.

26. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 21 a 25, caracterizado pelo fato de que o pelo menos um outro agente é conjugado com o polipeptídeo variante de IL-18.

27. Método de acordo com a reivindicação 21, caracterizado pelo fato de que o pelo menos um outro agente é uma célula T ou célula NK alterada.

28. Método de acordo com a reivindicação 21, caracterizado pelo fato de que o pelo menos um outro agente é um vírus oncolítico.

29. Composição, caracterizada pelo fato de que compreende um inibidor de IL-18BP ou antagonista de IL-18BP, em que o inibidor ou antagonista inibe a capacidade de IL18BP neutralizar IL-18 endógena.

30. Composição de acordo com a reivindicação 29, caracterizada pelo fato de que o inibidor ou antagonista compreende pelo menos um selecionado a partir do grupo que consiste em: um composto químico, um polipeptídeo, um peptídeo, um peptidomimético, um anticorpo, uma ribozima, um composto químico de molécula pequena, e uma molécula de ácido nucleico anti-sentido.

31. Composição de acordo com a reivindicação 30, caracterizada pelo fato de que compreende um polipeptídeo variante de IL-18, em que o polipeptídeo variante de IL-18 se liga especificamente a proteína de

ligação de IL-18 (IL-18BP), e em que o polipeptídeo variante de IL-18 exibe ligação substancialmente reduzida ao receptor de IL-18 (IL-18R).

32. Composição de acordo com a reivindicação 31, caracterizada pelo fato de que o polipeptídeo variante de IL-18 comprehende pelo menos uma mutação relacionada à IL-18 tipo selvagem (WT).

33. Composição de acordo com a reivindicação 32, caracterizada pelo fato de que a IL-18 WT é IL-18 de humano compreendendo a sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 30.

34. Composição de acordo com a reivindicação 32, caracterizada pelo fato de que a IL-18 WT é IL-18 de murino compreendendo a sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 31.

35. Composição de acordo com a reivindicação 33, caracterizada pelo fato de que o polipeptídeo variante de IL-18 comprehende pelo menos uma mutação selecionada a partir do grupo que consiste em Y1X, L5X, D17X, E31X, T34X, D35X, S36X, D37X, D40X, N41X, M51X, Q56X, M60X, Q103X, H109X, M113X, e R131X com relação à SEQ ID NO: 30.

36. Composição de acordo com a reivindicação 33, caracterizada pelo fato de que o polipeptídeo variante de IL-18 comprehende pelo menos uma mutação selecionada a partir do grupo que consiste em Y1D, Y1F, Y1H, Y1L, L5F, L5H, D17A, D17G, D17R, D17H, E31A, E31T, E31G, E31K, E31R, T34A, T34K T34E, D35S, D35A, D35Y, S36N, S36K, S36R, D37P, D37A, D37R, D37H, D37L, D37V, D40Y D40S, D40A, N41K, N41S, N41R, M51F, M51L, M51I, Q56H, M60L, M60F, M60I, Q103L, Q103I, H109A, H109P, H109D, M113L, M113I, M113F, e R131S com relação à SEQ ID NO: 30.

37. Composição de acordo com a reivindicação 33, caracterizada pelo fato de que o polipeptídeo variante de IL-18 comprehende a sequência de aminoácido apresentada em qualquer uma das SEQ ID NOs.: 92-125, ou um fragmento dos mesmos.

38. Composição de acordo com a reivindicação 33, caracterizada pelo fato de que o polipeptídeo variante de IL-18 compreende as mutações D17X, E30X, e Q103X com relação à SEQ ID NO: 30.

39. Composição de acordo com a reivindicação 33, caracterizada pelo fato de que o polipeptídeo variante de IL-18 compreende as mutações D17X, E30X, D35X, M51X, e Q103X com relação à SEQ ID NO: 30.

40. Composição de acordo com a reivindicação 34, caracterizada pelo fato de que o polipeptídeo variante de IL-18 compreende pelo menos uma mutação selecionada a partir do grupo que consiste em N1X, L5X, D17X, E30X, T33X, D34X, I35X, D36X, M50X, Q102X, R104, H108X, N109X, M111X, D129X, e D130X com relação à SEQ ID NO: 31.

41. Composição de acordo com a reivindicação 34, caracterizada pelo fato de que o polipeptídeo variante de IL-18 compreende pelo menos uma mutação selecionada a partir do grupo que consiste em N1Y, N1D, N1H, N1L, N1F, N1V, N1I, L5Y, L5H, D17Q, D17G, D17A, D17E, D17S, D17N, E30A, E30R, E30K, E30T, E30G, T33G, T33A, T33E, T33R, T33K, D34Y, D34S, D34A, I35T, I35K, I35R, D36V, D36A, D36G, D36H, D36P, D36R, D36L, M50F, M50L, Q102L, Q102I, R104E, R104A, R104P, R104G, R104Q, R104H, H108D, H108A, N109R, N109S, N109T, N109I, M111L, M111I, D129A, D129F, D129V, D129Y, D129S, D130E, D130T, D130G, D130N, D130R, D130S, D130Q, e D130H com relação à SEQ ID NO: 31.

42. Composição de acordo com a reivindicação 34, caracterizada pelo fato de que o polipeptídeo variante de IL-18 compreende a sequência de aminoácido apresentada em qualquer uma das SEQ ID NOs.: 126-190, ou um fragmento dos mesmos.

43. Composição, caracterizada pelo fato de que compreende um ácido nucleico que codifica o polipeptídeo variante de IL-18 da

composição de acordo com qualquer uma das reivindicações 31-42.

44. Composição de acordo com qualquer uma das reivindicações 29 a 43, caracterizada pelo fato de que compreende adicionalmente um ou mais agentes selecionados a partir de: (i) um inibidor do ponto de controle imunológico; (ii) um agente que inibe uma ou mais proteínas selecionadas a partir de PD-L1, PD1, CTLA4, TIM3, TIGIT, LAG3, B7H3, B7H4, VISTA, ICOS, GITR, 41BB, OX40, e CD40; (iii) um agente de opsonização de células de câncer; e (iv) um agente que alveja um ou mais抗ígenos selecionados a partir de: CD19, CD20, CD22, CD24, CD25, CD30, CD33, CD37, CD38, CD44, CD45, CD47, CD51, CD52, CD56, CD62L, CD70, CD74, CD79, CD80, CD96, CD97, CD99, CD123, CD134, CD138, CD152 (CTLA-4), CD200, CD213A2, CD221, CD248, CD276 (B7-H3), B7-H4, CD279 (PD-1), CD274 (PD-L1), CD319, EGFR, EPCAM, 17-1A, HER1, HER2, HER3, CD117, C-Met, HGFR, PDGFRA, AXL, TWEAKR, PTHR2, HAVCR2 (TIM3), gangliosídeo GD2, MUC1, mucina CanAg, mesotelina, endoglin, antígeno de Lewis-Y, CEA, CEACAM1, CEACAM5, CA-125, PSMA, BAFF, FGFR2, MARCAÇÃO-72, gelatinase B, glipicana 3, nectina-4, BCMA, CSF1R, SLAMF7, integrina $\alpha\beta 3$, TYRP1, GP NMB, CLDN18.2, FOLR1, CCR4, CXCR4, MICA, antígeno C242, DLL3, DLL4, EGFL7, vimentina, domínio extra de fibronectina B, TROP-2, LRRC15, FAP, SLTRK6, NOTCH2, NOTCH3, Tenascina-3, STEAP1, e NRP1.

45. Método para tratar ou prevenir uma doença ou distúrbio em um indivíduo em necessidade do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende administrar ao indivíduo a composição como definida em qualquer uma das reivindicações 29 a 44.

46. Método de acordo com a reivindicação 45, caracterizado pelo fato de que a doença ou distúrbio é câncer.

47. Método de acordo com a reivindicação 46, caracterizado pelo fato de que o câncer é um câncer que é resistente aos inibidores de ponto

de controle imunológico (ICIs).

48. Método de acordo com a reivindicação 46, caracterizado pelo fato de que o câncer é associado a um tumor que perdeu a expressão de MHC de classe I.

49. Método de acordo com a reivindicação 45, caracterizado pelo fato de que a doença ou distúrbio é uma doença ou distúrbio metabólico.

50. Método de acordo com a reivindicação 45, caracterizado pelo fato de que a doença ou distúrbio é uma doença infecciosa.

51. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 45 a 50, caracterizado pelo fato de que o método compreende administrar ao indivíduo pelo menos um outro agente além do inibidor de IL-18BP ou antagonista de IL-18BP.

52. Método de acordo com a reivindicação 51, caracterizado pelo fato de que o pelo menos um outro agente compreende um inibidor do ponto de controle imunológico.

53. Método de acordo com a reivindicação 52, caracterizado pelo fato de que o inibidor do ponto de controle imunológico é um agente que inibe PD-L1, PD1, CTLA4, TIM3, TIGIT, LAG3, B7H3, B7H4, VISTA, ICOS, GITR, 41BB, OX40, ou CD40, ou qualquer combinação dos mesmos.

54. Método de acordo com a reivindicação 51, caracterizado pelo fato de que o pelo menos um outro agente compreende um agente de opsonização de células de câncer.

55. Método de acordo com a reivindicação 51, caracterizado pelo fato de que o pelo menos um outro agente alveja um ou mais抗ígenos selecionados a partir de: CD19, CD20, CD22, CD24, CD25, CD30, CD33, CD37, CD38, CD44, CD45, CD47, CD51, CD52, CD56, CD62L, CD70, CD74, CD79, CD80, CD96, CD97, CD99, CD123, CD134, CD138, CD152 (CTLA-4), CD200, CD213A2, CD221, CD248, CD276 (B7-H3), B7-H4, CD279 (PD-1), CD274 (PD-L1), CD319, EGFR, EPCAM, 17-1A, HER1,

HER2, HER3, CD117, C-Met, HGFR, PDGFRA, AXL, TWEAKR, PTHR2, HAVCR2 (TIM3), gangliosídeo GD2, MUC1, mucina CanAg, mesotelina, endoglina, antígeno de Lewis-Y, CEA, CEACAM1, CEACAM5, CA-125, PSMA, BAFF, FGFR2, MARCAÇÃO-72, gelatinase B, glipicana 3, nectina-4, BCMA, CSF1R, SLAMF7, integrina $\alpha v\beta 3$, TYRP1, GP NMB, CLDN18.2, FOLR1, CCR4, CXCR4, MICA, antígeno C242, DLL3, DLL4, EGFL7, vimentina, domínio extra de fibronectina B, TROP-2, LRRC15, FAP, SLTRK6, NOTCH2, NOTCH3, Tenascina-3, STEAP1, e NRP1.

56. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 51 a 55, caracterizado pelo fato de que o inibidor ou antagonista é um polipeptídeo variante de IL-18, e o pelo menos um outro agente é conjugado com o polipeptídeo variante de IL-18.

57. Método de acordo com a reivindicação 51, caracterizado pelo fato de que o pelo menos um outro agente é uma célula T ou célula NK alterada.

58. Método de acordo com a reivindicação 51, caracterizado pelo fato de que o pelo menos um outro agente é um vírus oncolítico.

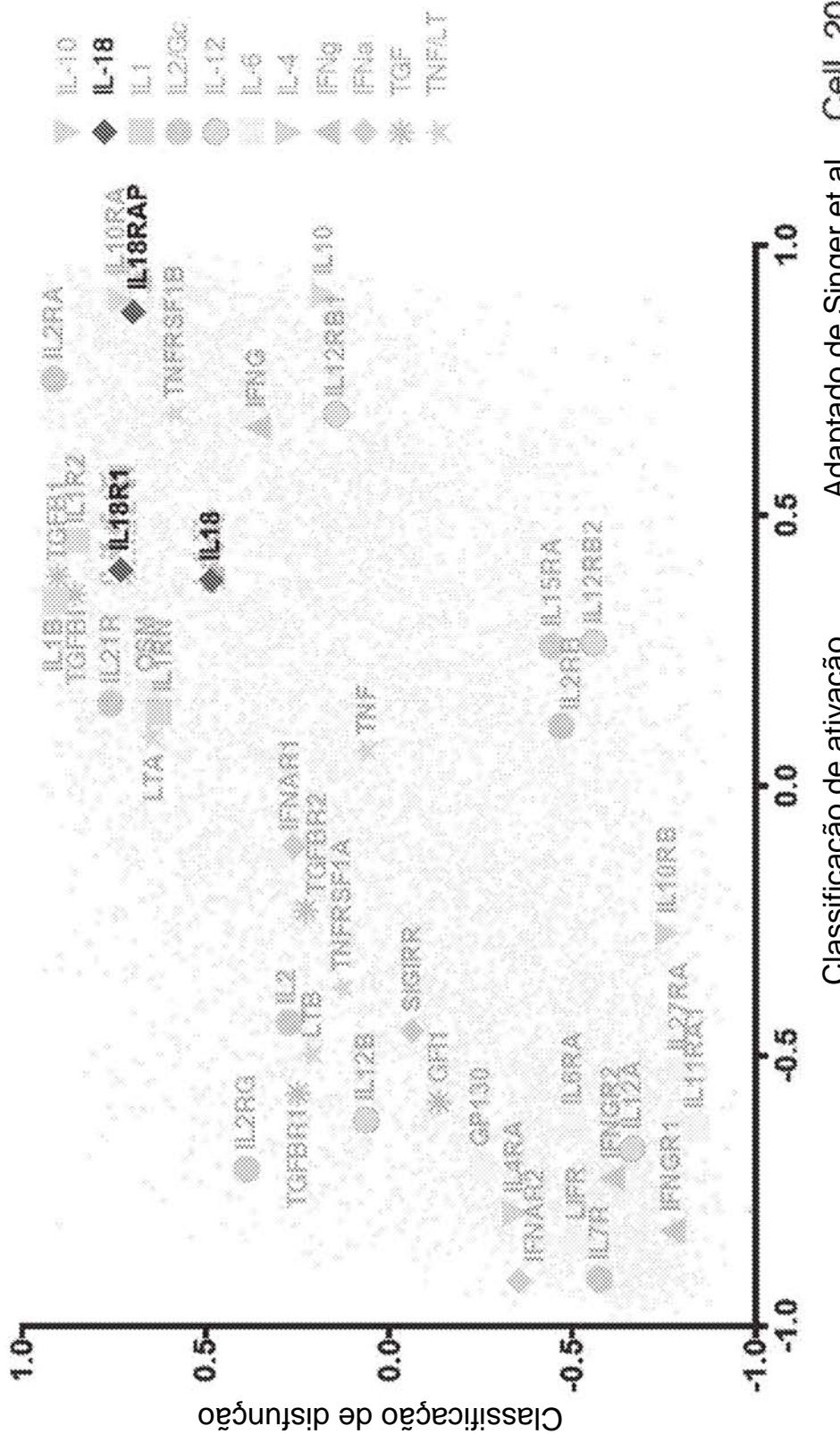


FIG. 1A

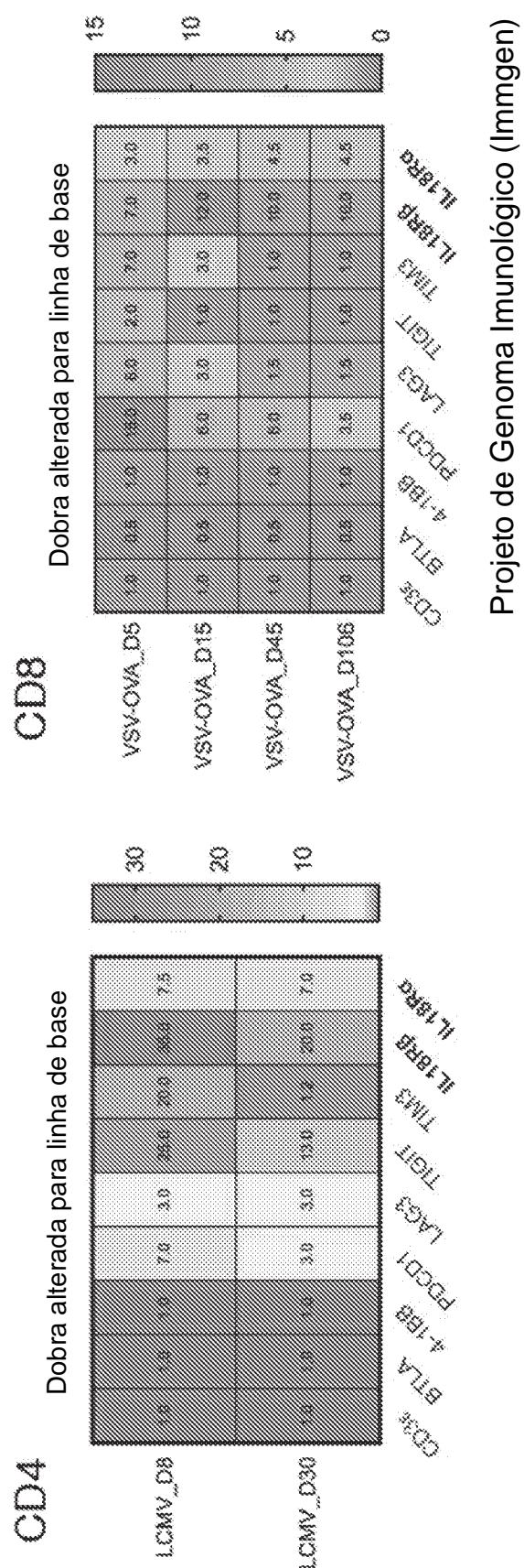


FIG. 1B

FIG. 2A



FIG. 2B

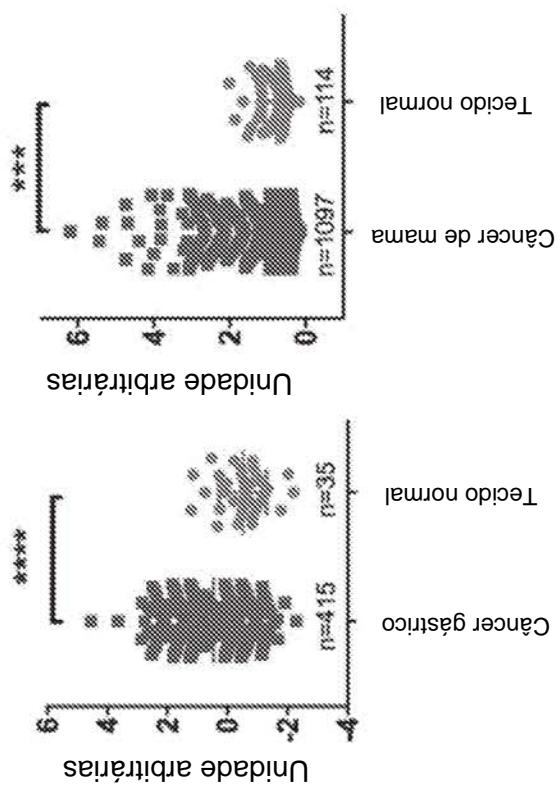
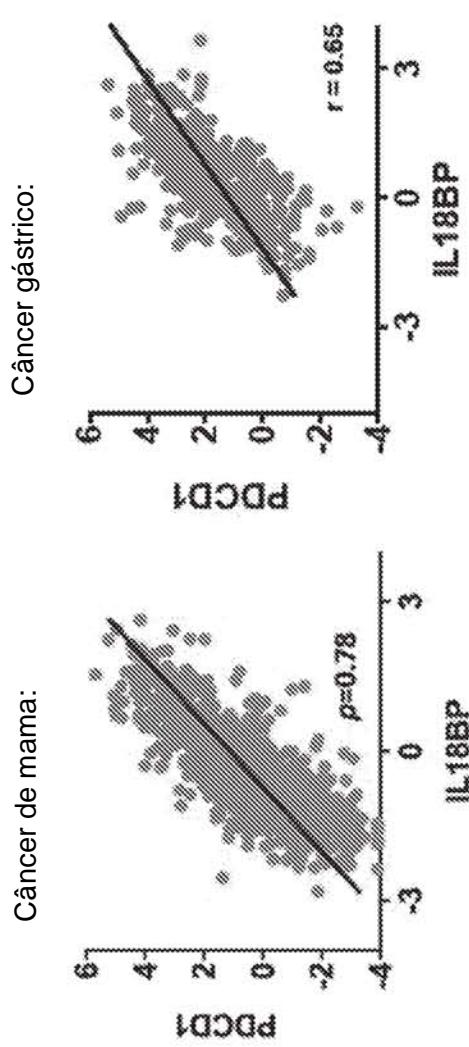


FIG. 2C



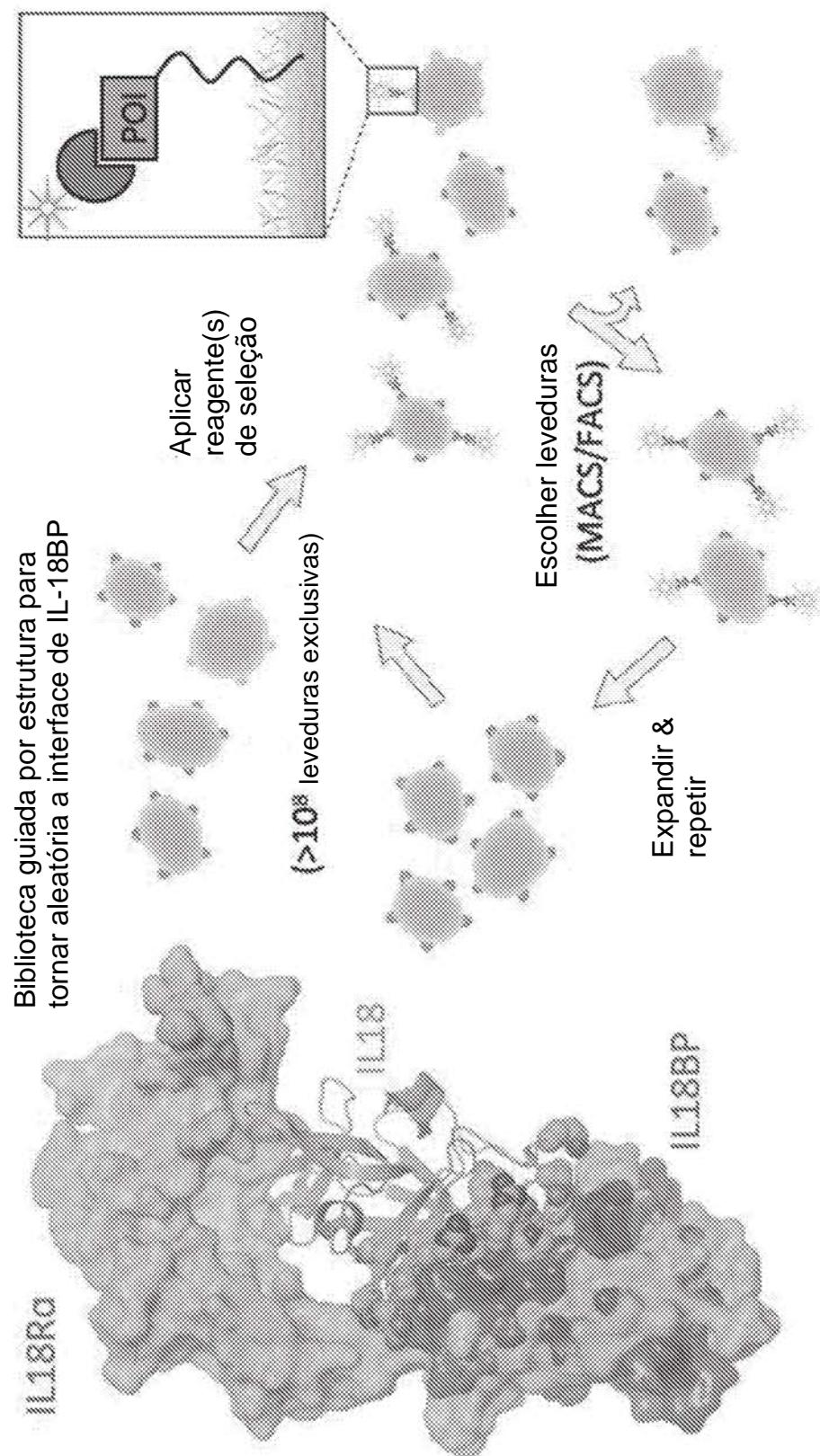
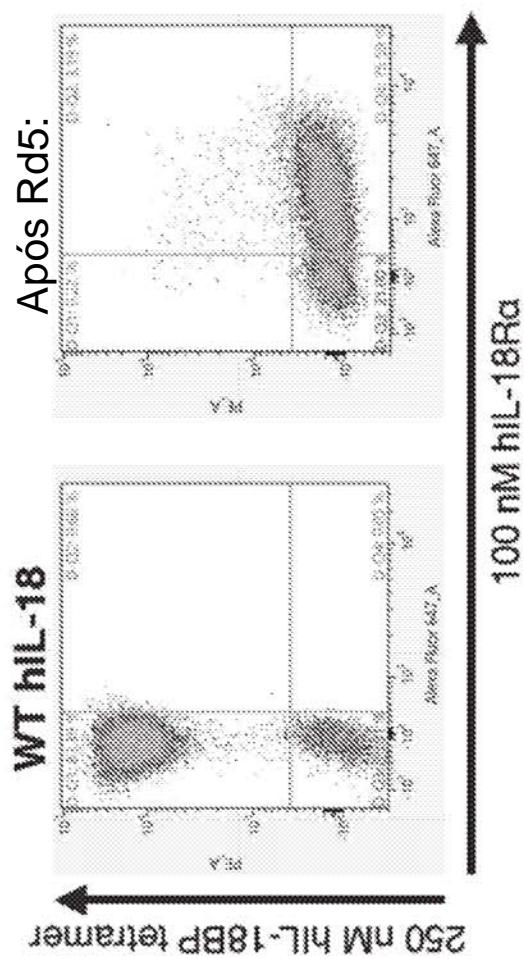
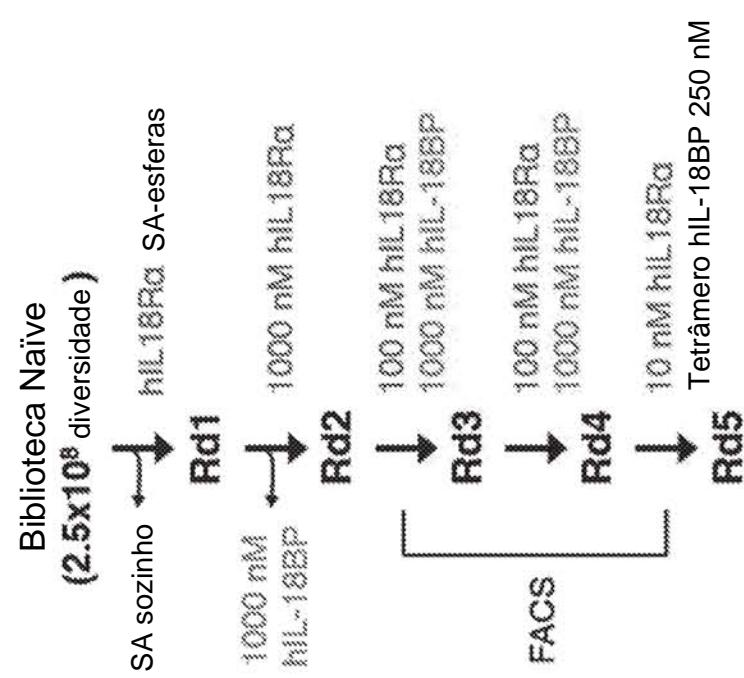


FIG. 3A

FIG. 3B

FIG. 3C



100 nM hIL-18Ra

250 nM hIL-18BP tetramer

Sumário de sequência de variantes de DR-II-18 de humano

WT hll-18	1	6	8	51	53	65	69	80	77	103	105	110	111	133	155
	Y	L	K	R	S	G	M	E	Q	S	D	N	V	W	N
hC4	C	T												X	
hA8	R	R	D	T											
hD6	R	R	T												
hH12	H	I	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
hB11				R										A	
hC3				R											
hC2				X											
hG10				X											
hG1				X											
hF1				R											
hD2				R											
hA1				R											
hB3				R											
hB4				R											
hH3				R											
hC5				R											
hH4				R											
hE1				R											
hG2				H											
hE12				Y											
hCS1				T											
hCS2				T											
hCS3				T											
hCS4				T											

Variantes selecionados

Variantes consensuais

FIG. 4

FIG. 5A

Isotermas de ligação em variantes de DR-hIL-18 exibido em leveduras hIL-18Ra:

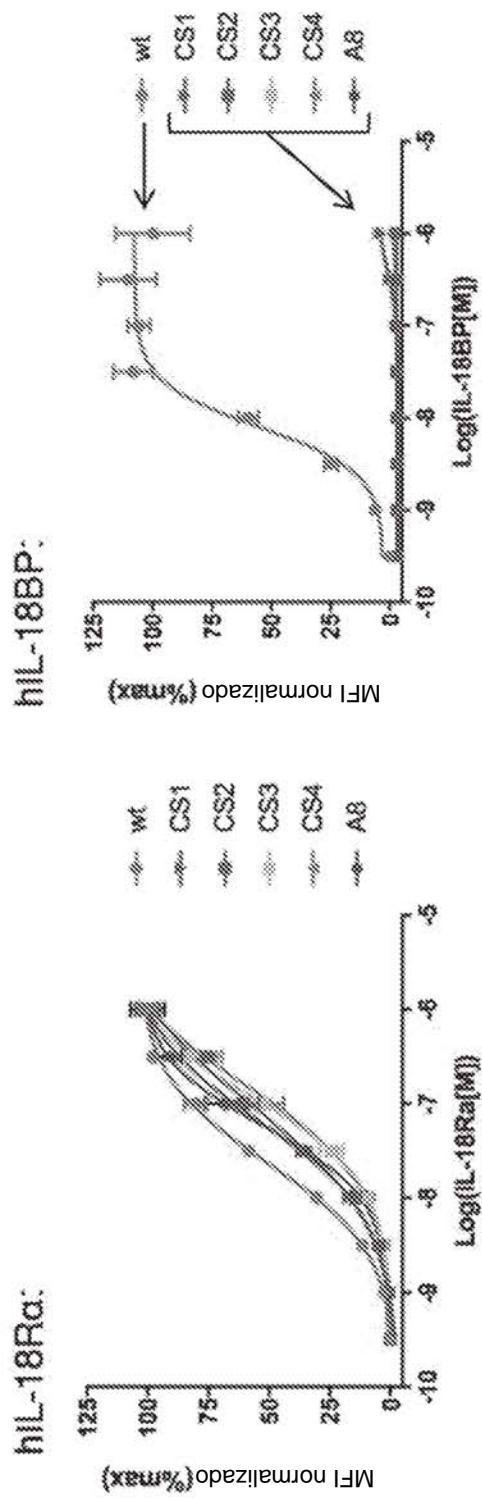


FIG. 5B

Medição de ressonância plasmática de superfície (SPR) de ligação de hIL-18BP hIL-18 (WT):hIL-18BP

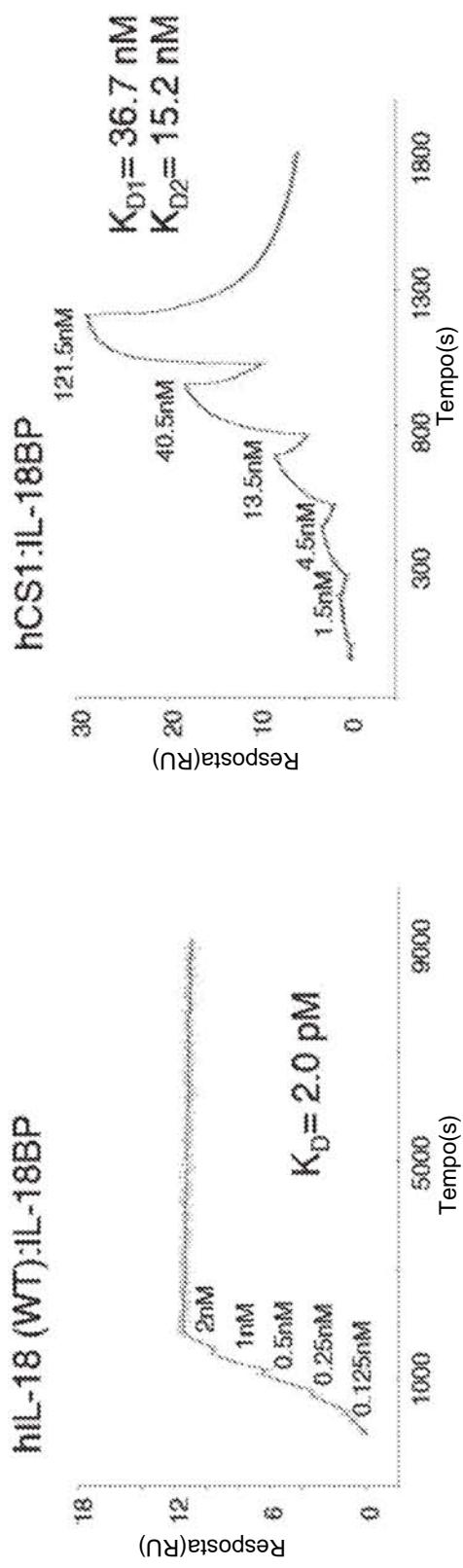


FIG. 6A

Ensaio de ligação de hIL-18Ra em leveduras

Variantes de DR-hIL18

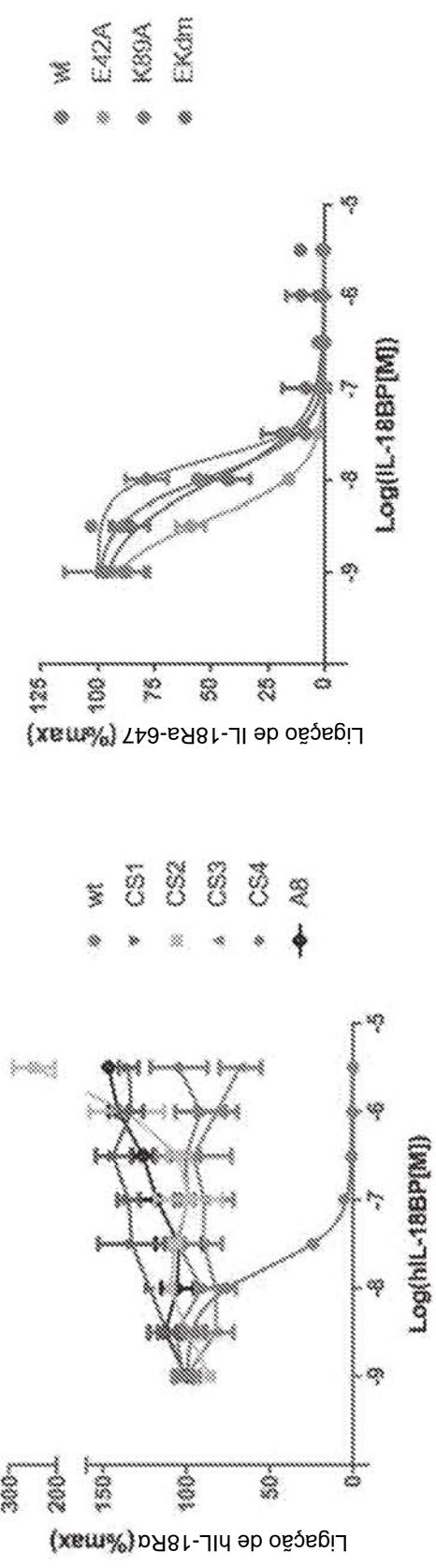
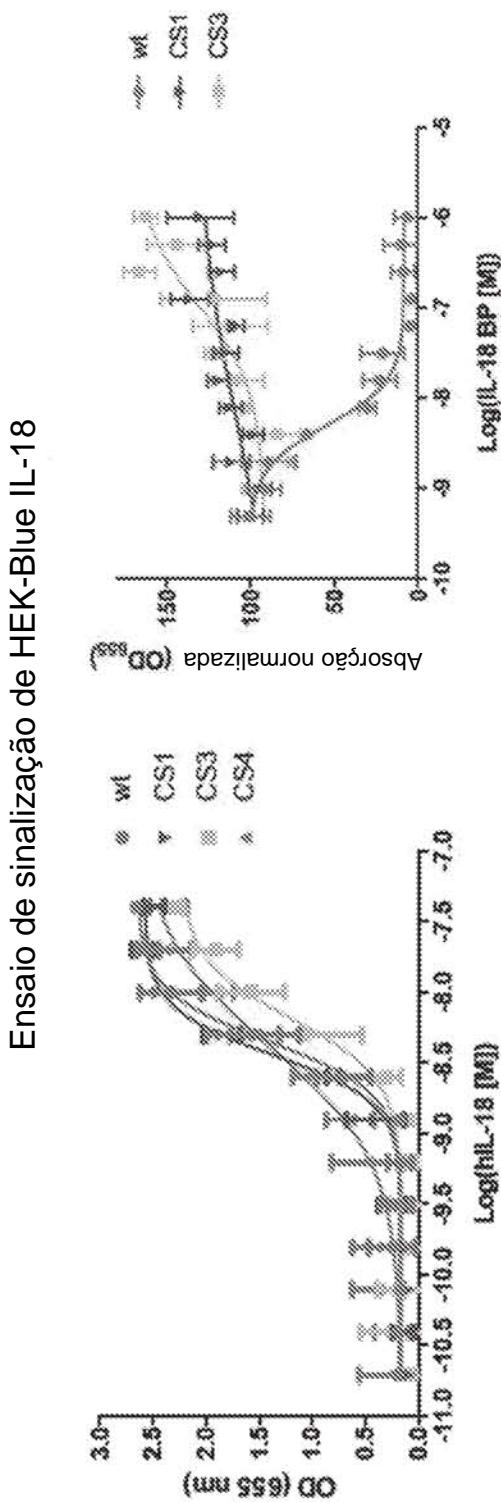
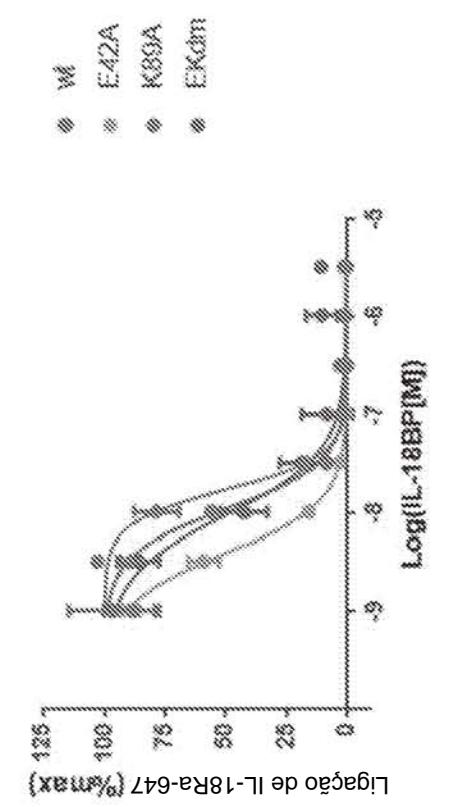


FIG. 6B

Ensaio de sinalização de HEK-Blue IL-18

Variantes Kim et al:



		AA
Resíduo	Códon	
1Y	NWT	FYLHINVD
51M	RNG	MTKRVVAEG
53K	VNS	LPHQRMITNSRVADEG
56Q	VNA	LPQRITTKRVVAEG
57P	VNA	LPQRITTKRVVAEG
60M	MDG	MKRLQR
103Q	VVR	QKERRGPTA
105S	DMT	SYTNAD
110D	RRW	DEKNNSRGG
111N	VRW	HQNKKDERRSRGG
113M	RNG	MTKRVVAEG

FIG. 7A

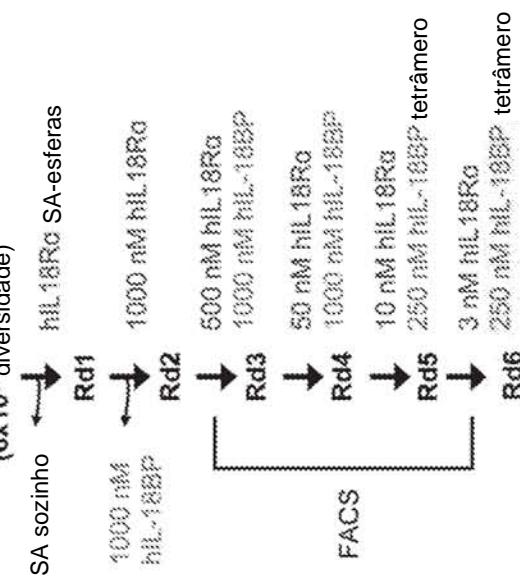
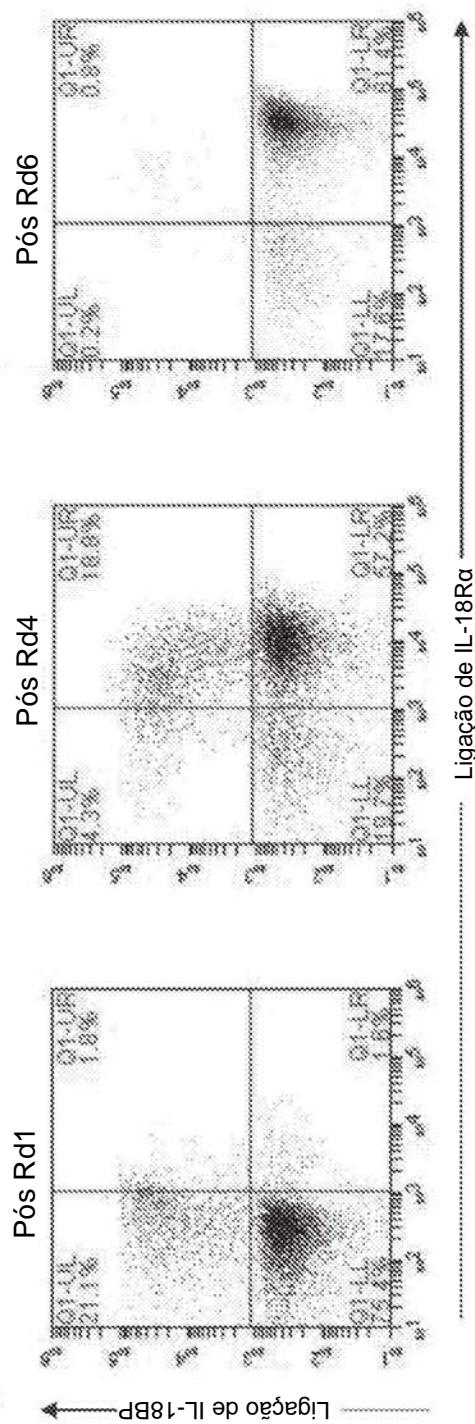
FIG. 7B Biblioteca Náïve
(6x10⁸ diversidade)

FIG. 7C



WT Hill-18	M	K	Q	P	M	Q	S	D	N	M	113
											113
5-18	E	E	L	R	P	A	N	R	V		
5-29	K	G	A	G	L	E	D	S	S	R	
5-8	K	G	A	A	L	E	D	N	S	R	
5-6	K	G	R	G	L	A	A	S	R	T	
5-26	K	G	V	G	L	A	A	G	R	T	
5-20	K	S	G	A	L	A	A	D	S	R	
5-2	K	S	K	A	L	A	D	S	S	R	
5-9	K	S	L	A	L		D	S	R		
5-42	K	S	R	A	L		N	G	R		
5-17	K	S	R	A	L	A		G	R	T	
5-41	K	S	R	A	L	A	D	S	G	R	
5-1	K	T	T	R	L	E	D	S	S	K	
5-33	K	T	R	A	L	E	D	N	D	R	
5-21	R	G	K	L	R		S	R	V		
6-31	K	G	G	A	L	E	D	S	G	V	
6-20	K	G	R				A	N	R		
6-12	K	S	L	A	L		D	S	R		
6-27	K	S	R	A	L	A		G	R	T	
6-29	K	S	R	A	L		N	G	R		

Variantes do ciclo 5

Variantes do ciclo 6

FIG. 8

FIG. 9A

Ligaçāo à IL-18Ra:

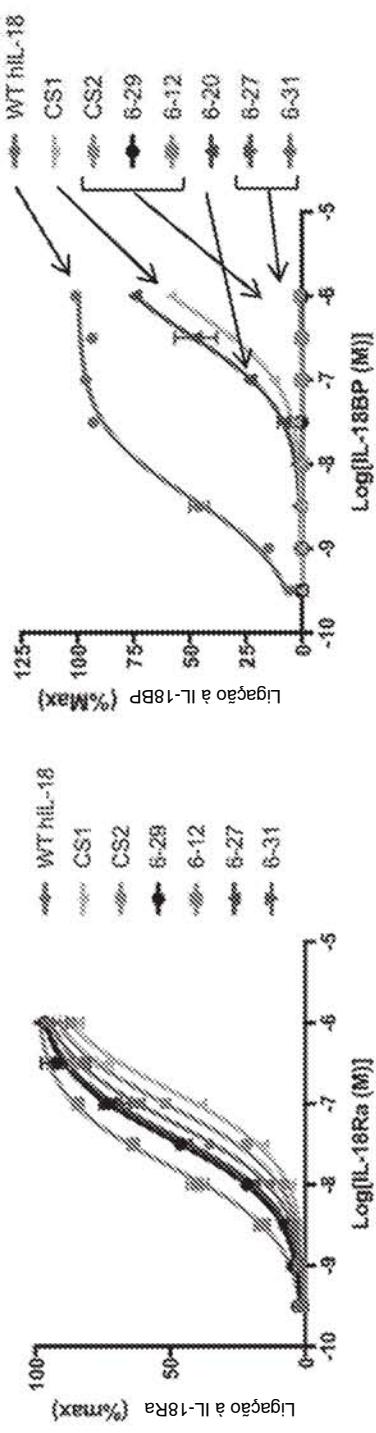


FIG. 9B

Ligaçāo à IL-18BP:

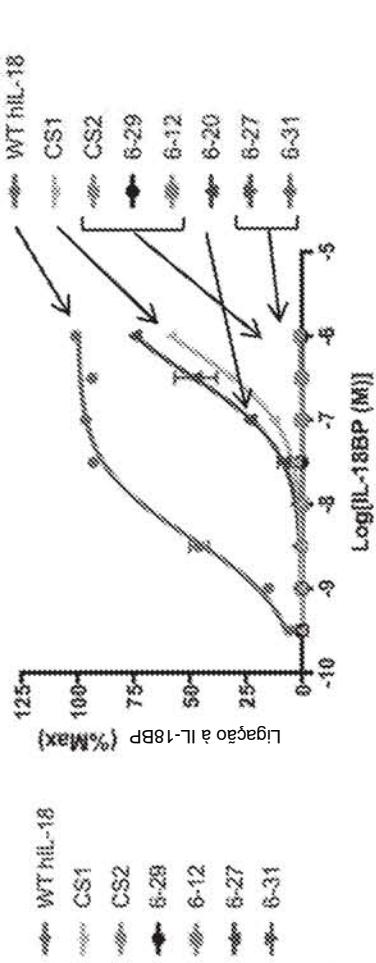


FIG. 9C

Estabilidade térmica:

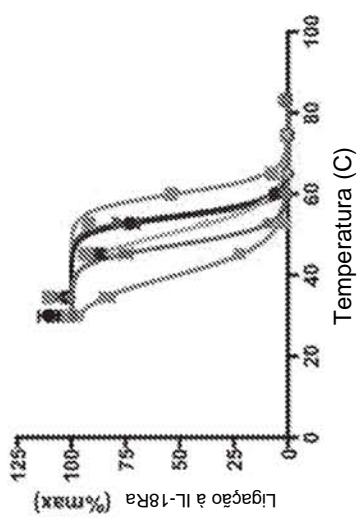


FIG. 9D

Variante	IL18Ra [KD]	IL18BP [KD]	Razão Ra:BP (norm. para WT)	Tm (°C)
WT hIL-18	WT IL18	62 nM	2.1 nM	47.6
hCS1				50.9
hCS2				40.2
6-29	hCS1	146 nM	710 nM	140
6-12	hCS2	92 nM	N.D.	>3,200
6-27	6-31	41 nM	N.D.	>7,200
6-31	6-20	N.D.	340 nM	N.D.
6-12		17 nM	N.D.	>17,000
6-27		42 nM	N.D.	>7,000
6-29		37 nM	N.D.	>8,000

FIG. 10A

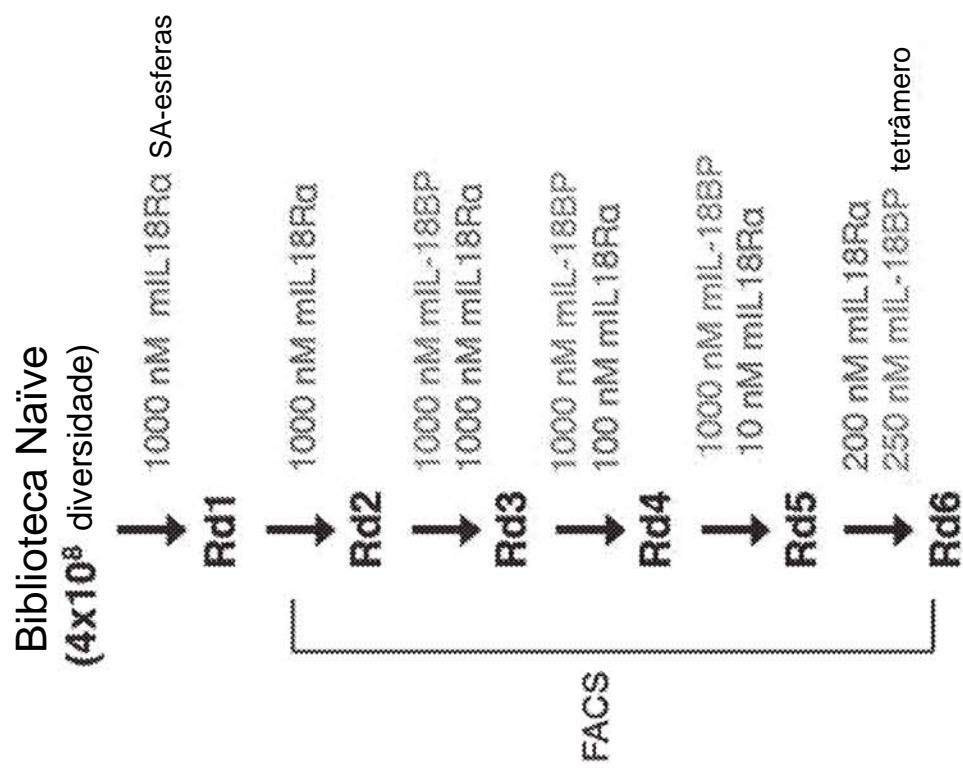


FIG. 10B

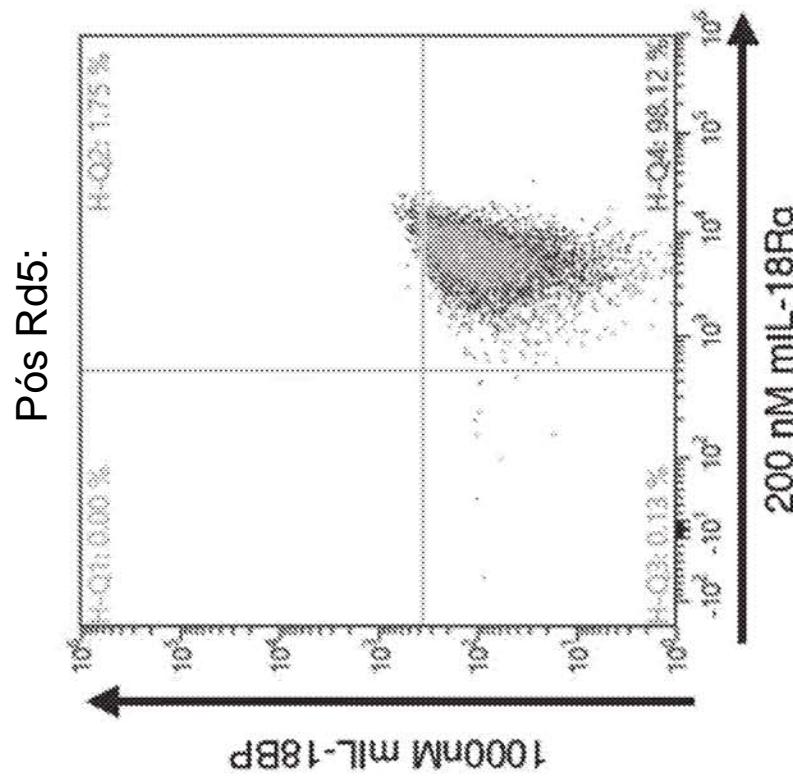


FIG. 10C

mIL-18	Sumário de sequência de variantes de DR-IL-18 de murino												
	1	50	51	52	54	55	56	57	58	59	104	109	151
	N	M	Y	K	S	E	V	R	G	L	R	N	L
mC1	A	V	R	R	L					K	K		
mA12	S	S	K	H	M					K	L		
mE8	V	T	G	R	R					K	D		
mC10	H	A	G	H	M					K	Q		
mB7	H	A	G	N	A	G				R	K		
mB1	H	G	A	D	A	A				K	S		
mD1	H	G	S	R	G	S				K	Q		
mH7	Y	A	A	R	R	A				K	D		
mA7	Y	G	G	N	R	R				K	R		
me1	Y	T	R	T	G	G				G	V		
mH3	Y	T	R	T	G	G				K	K		
mCS1	G	A	A	R						K			
mCS2	H	A	G	R	A					K			

Variantes selecionados

Variantes consensuais

FIG. 11A

Isotermas de ligação em citocinas exibidos em levedura

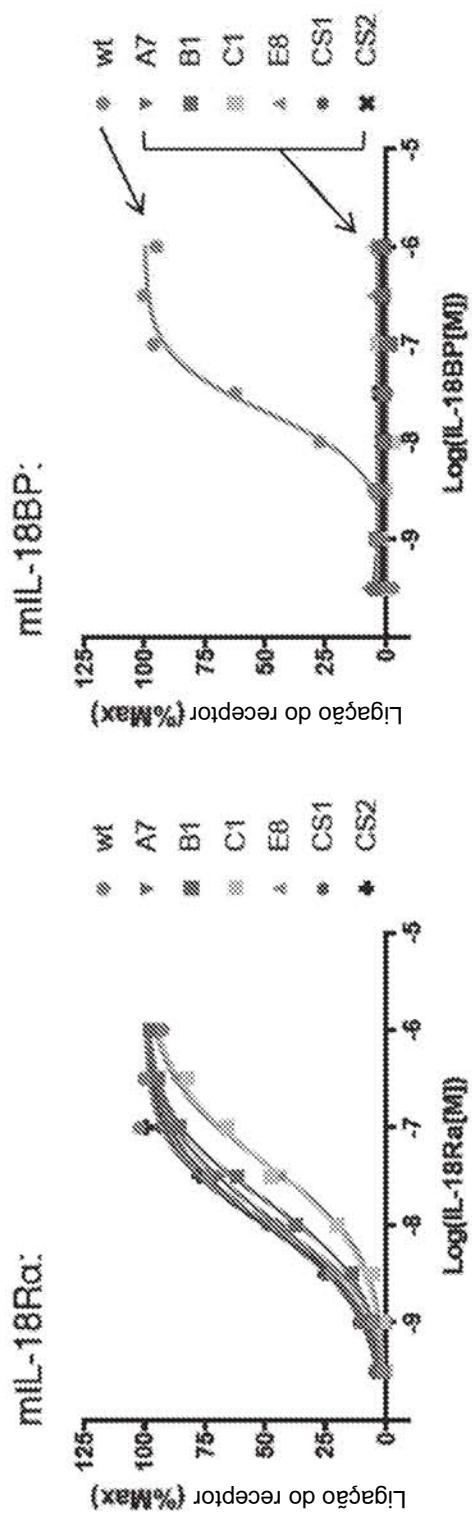


FIG. 11B

Medição de ressonância plasmática de superfície (SPR) de ligação à mIL-18BP

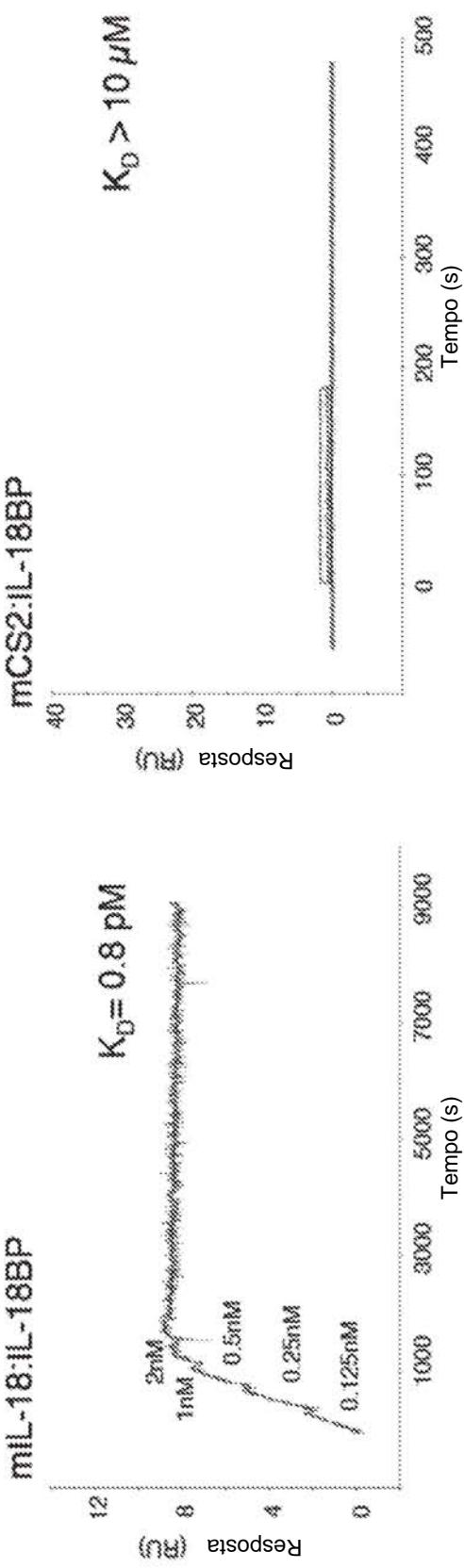


FIG. 12A

Desenho de estudo de farmacodinâmica (dosagem diária)

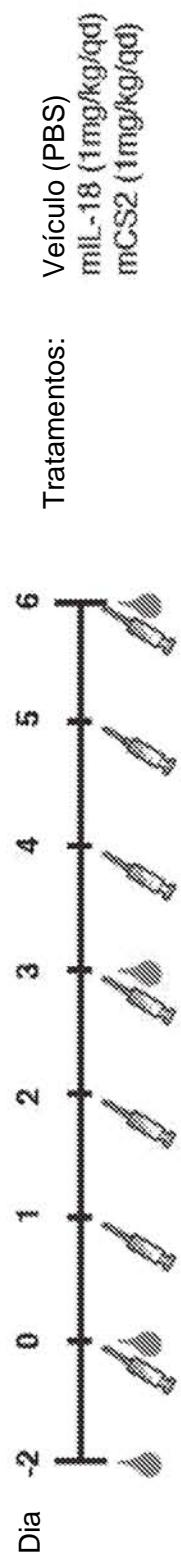


FIG. 12B

Contagens de célula de sangue periférico

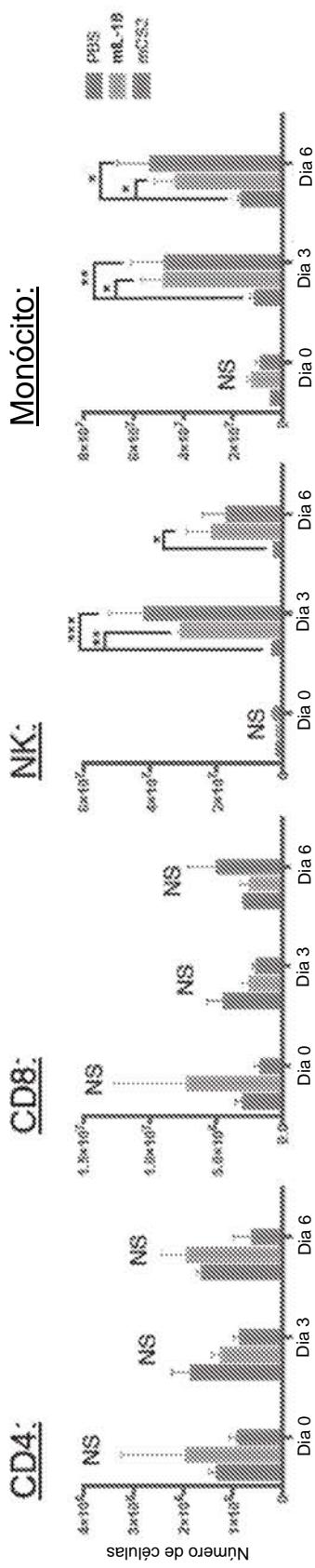


FIG. 12C

Expressão de CD69 em células de sangue periférico

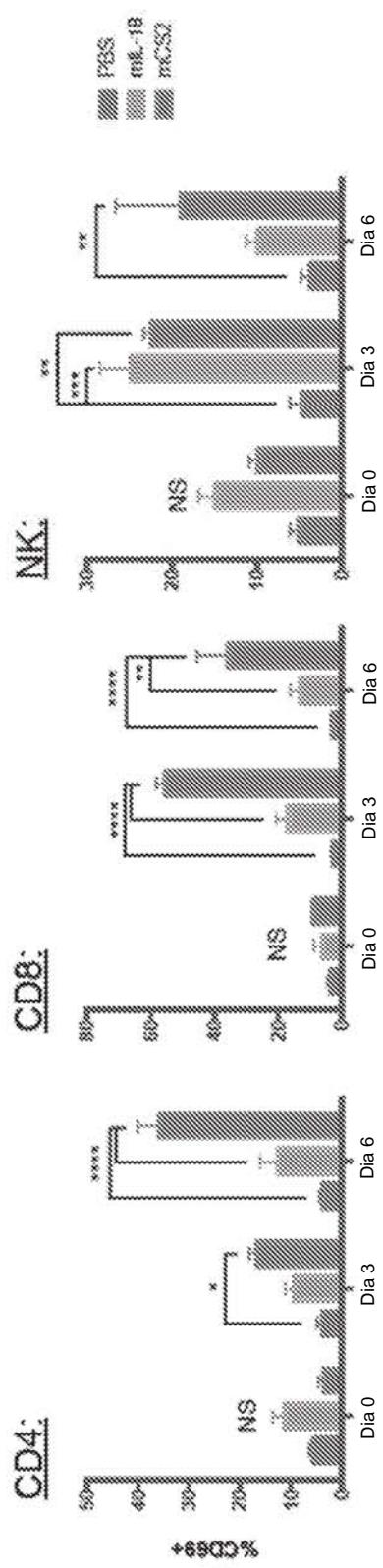
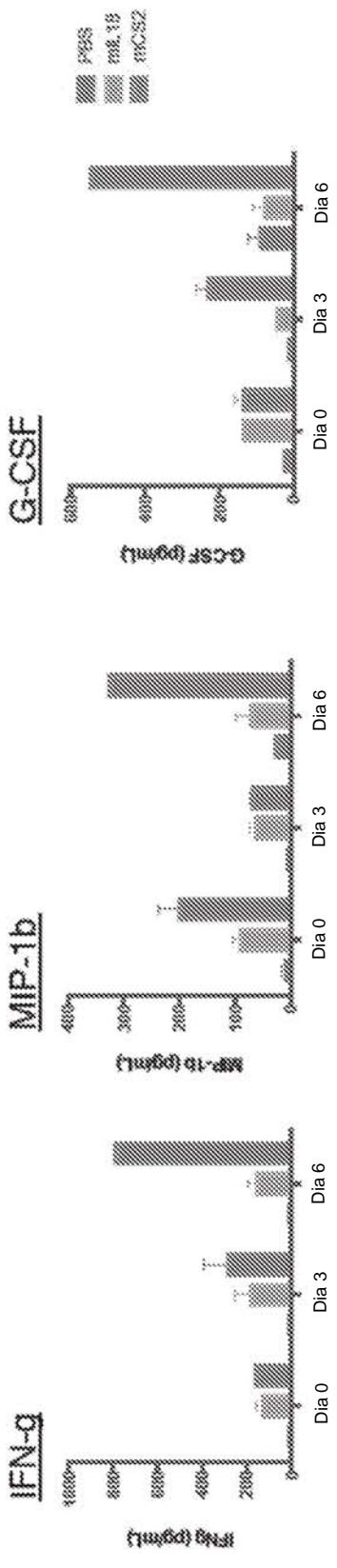


FIG. 12D

Níveis de citocina sérica



Análise de composição corporal Echo MRI

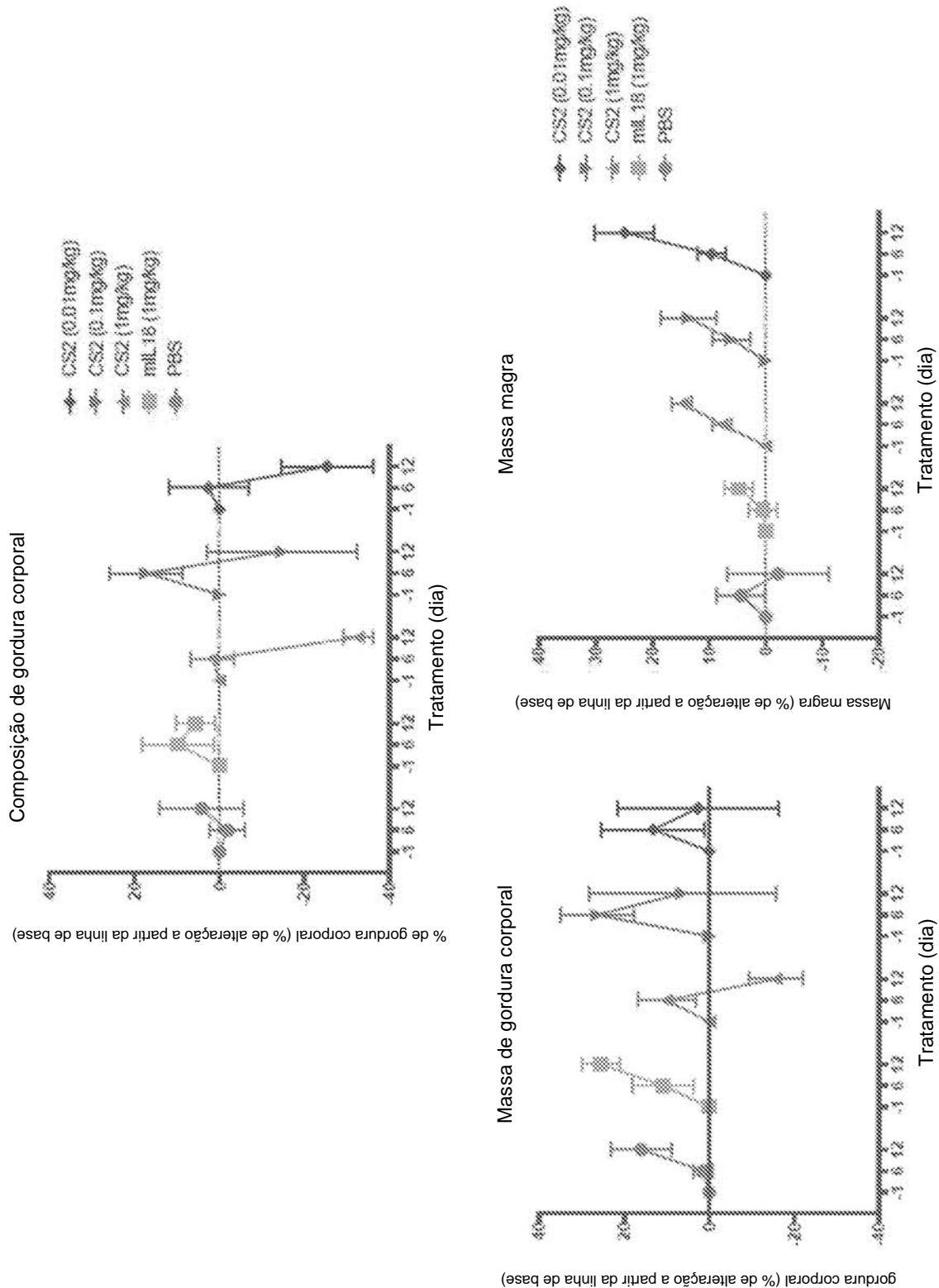


FIG. 13

Modelo de tratamento de melanoma Yummmer1.7-Crescimento de tumor

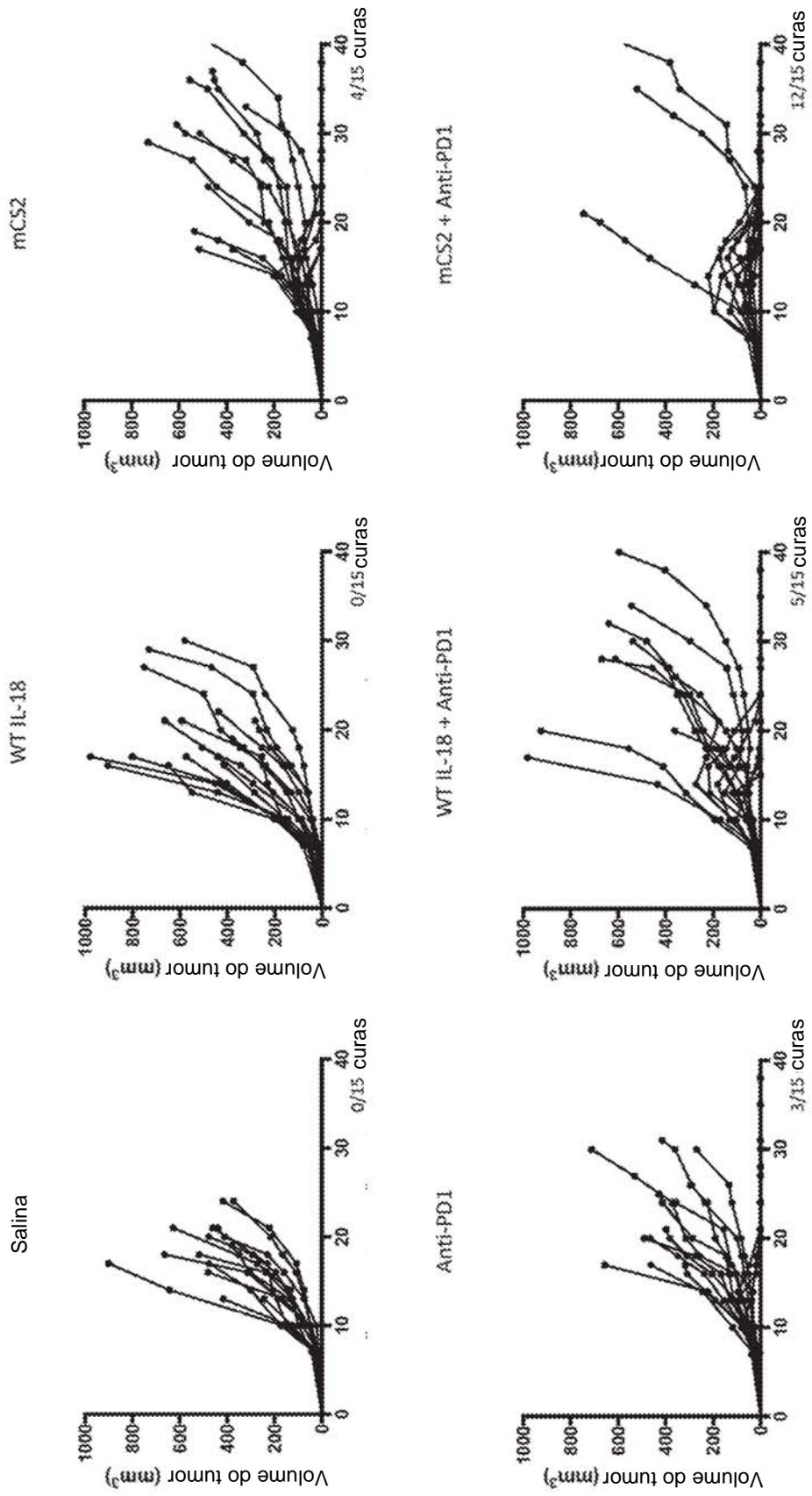


FIG. 14A

Modelo de tratamento de melanoma Yummmer1.7-Sobrevivência

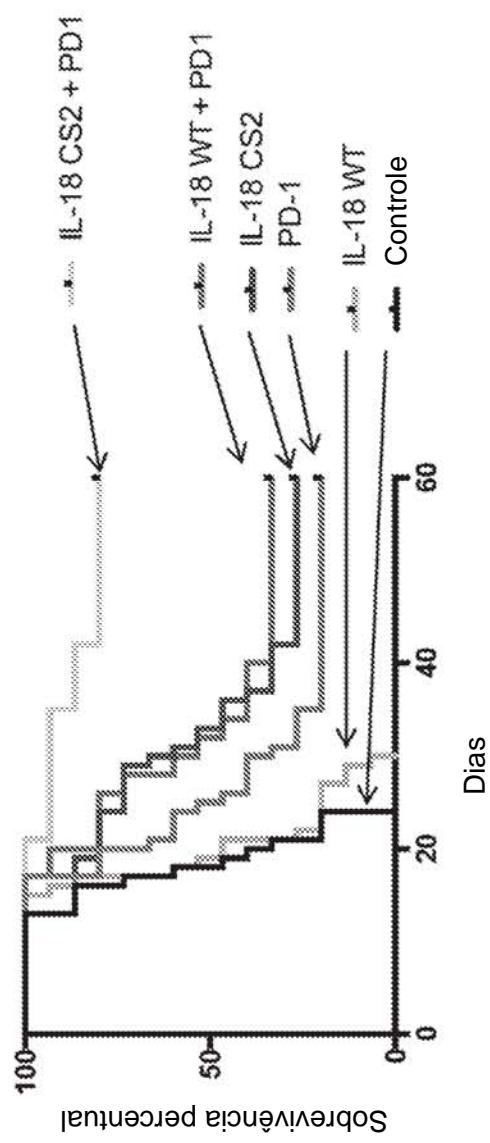


FIG. 14B

FIG. 15A

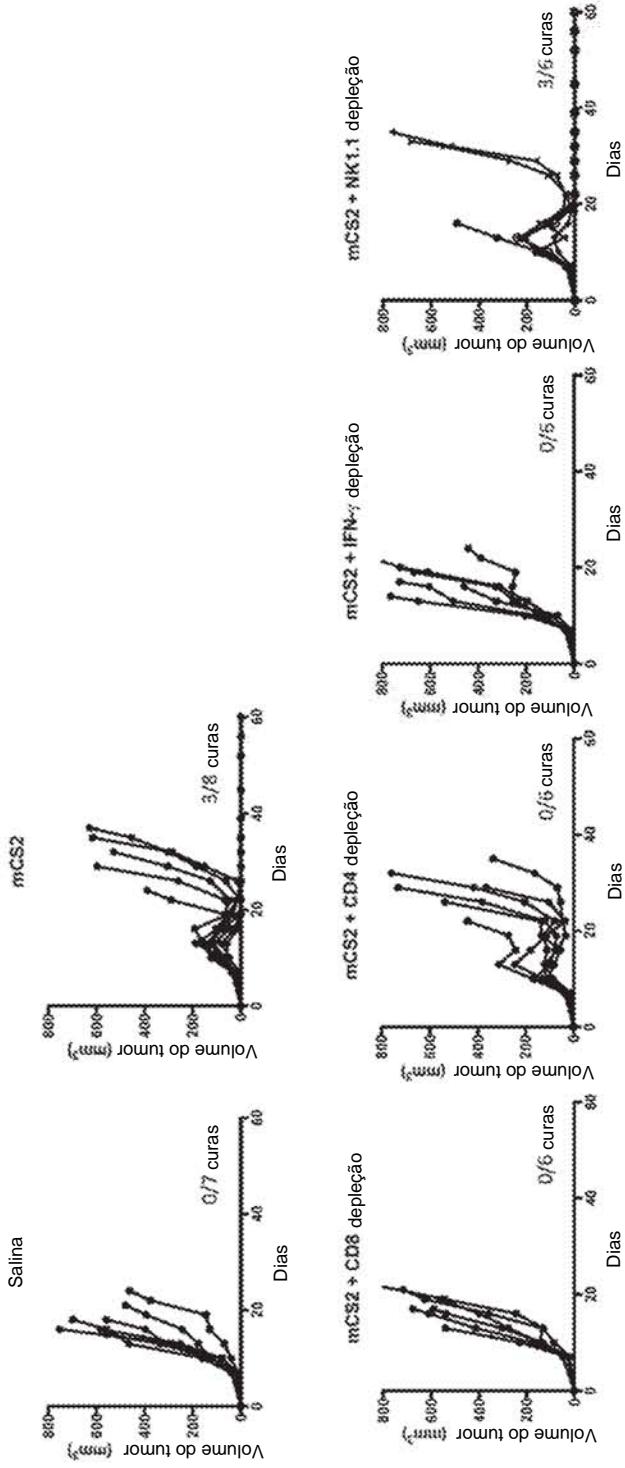
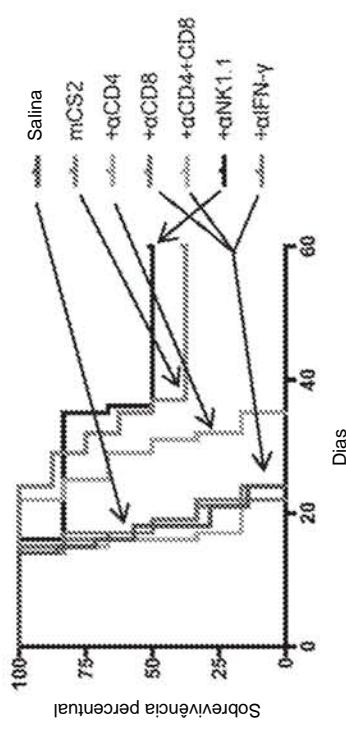


FIG. 15B



Modelo de tratamento de tumor MC38-crescimento de tumor

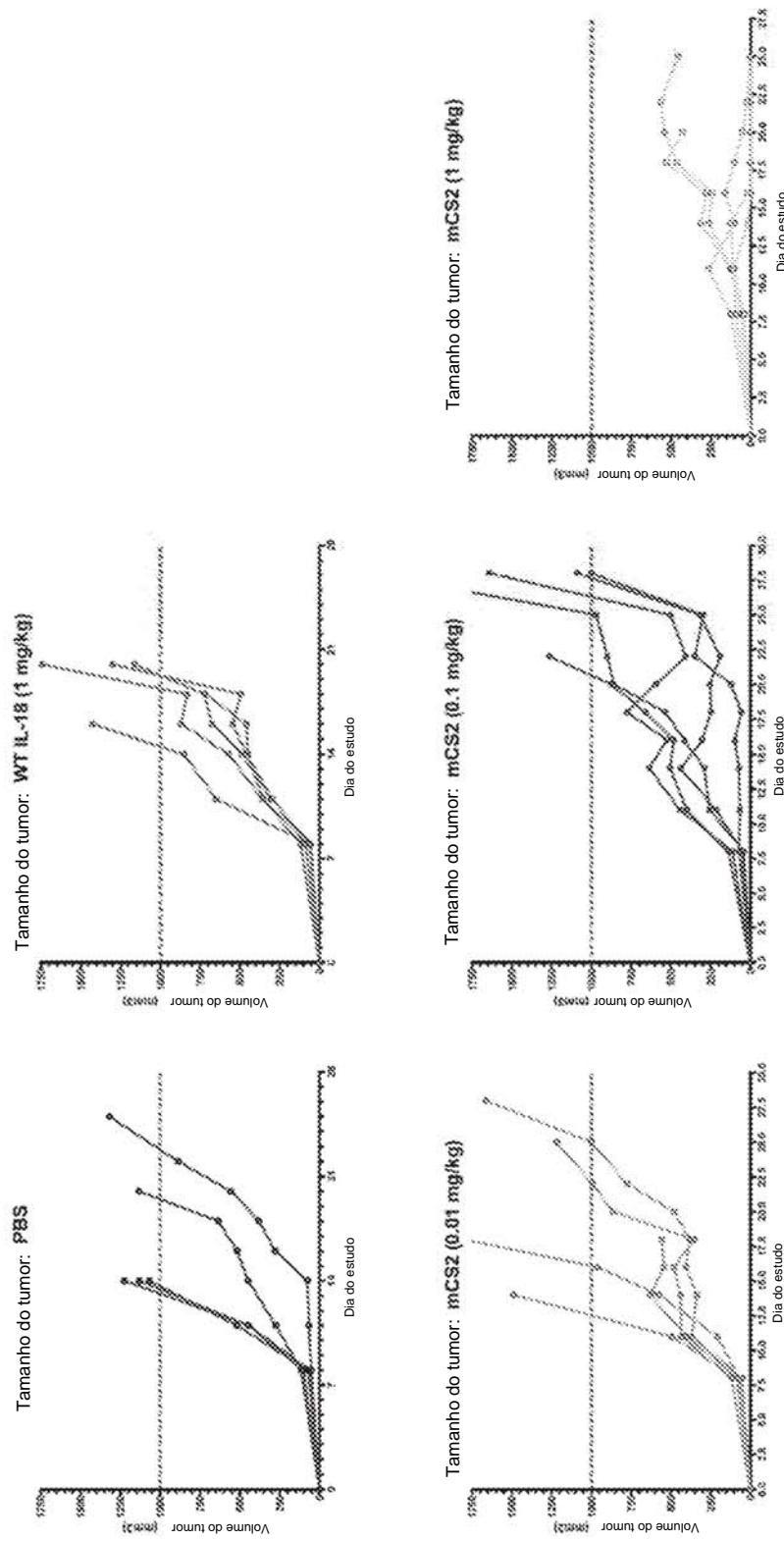


FIG. 16

Cortes de tratamento de MC38 expandido-crescimento do tumor

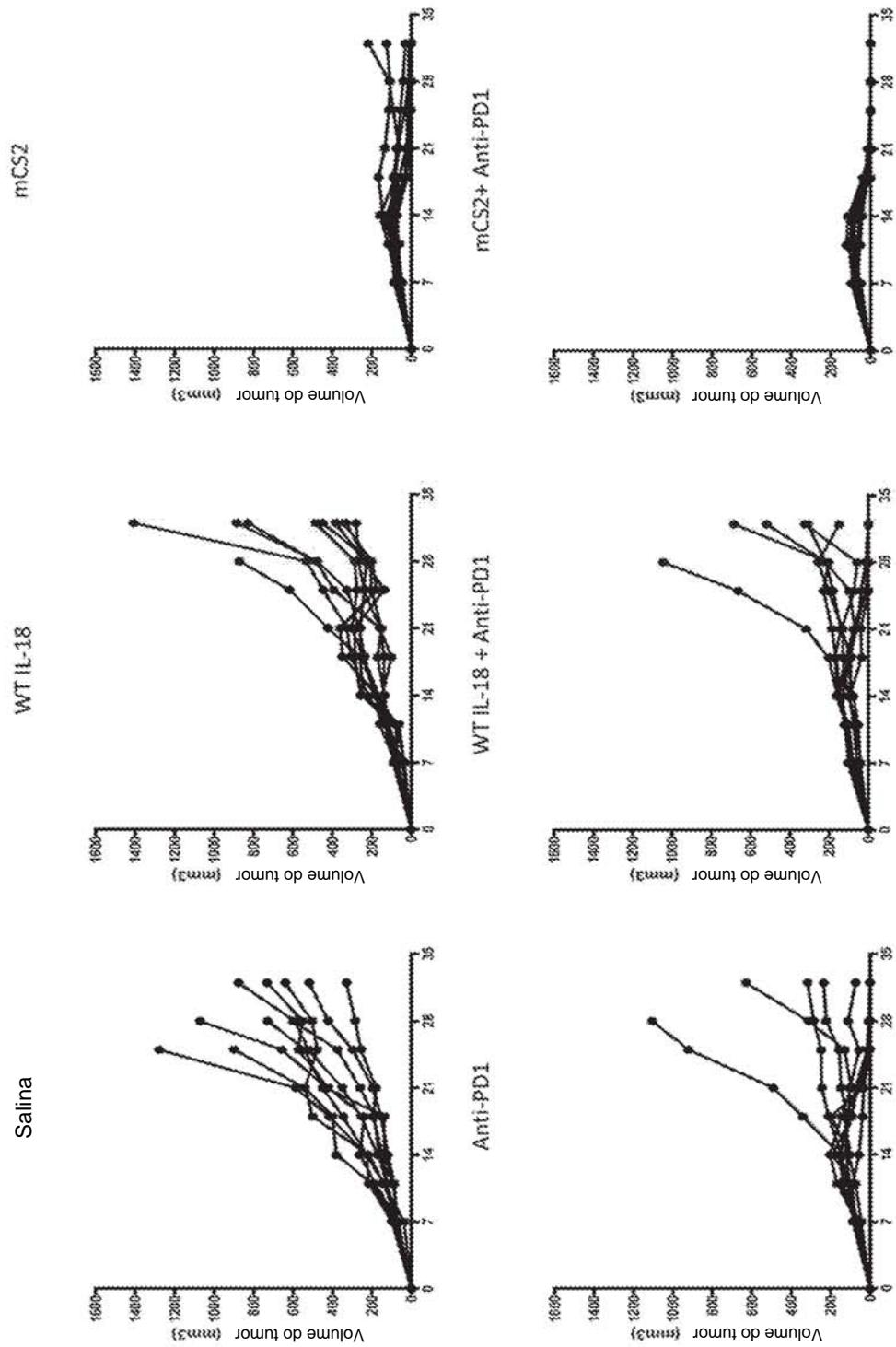


FIG. 17

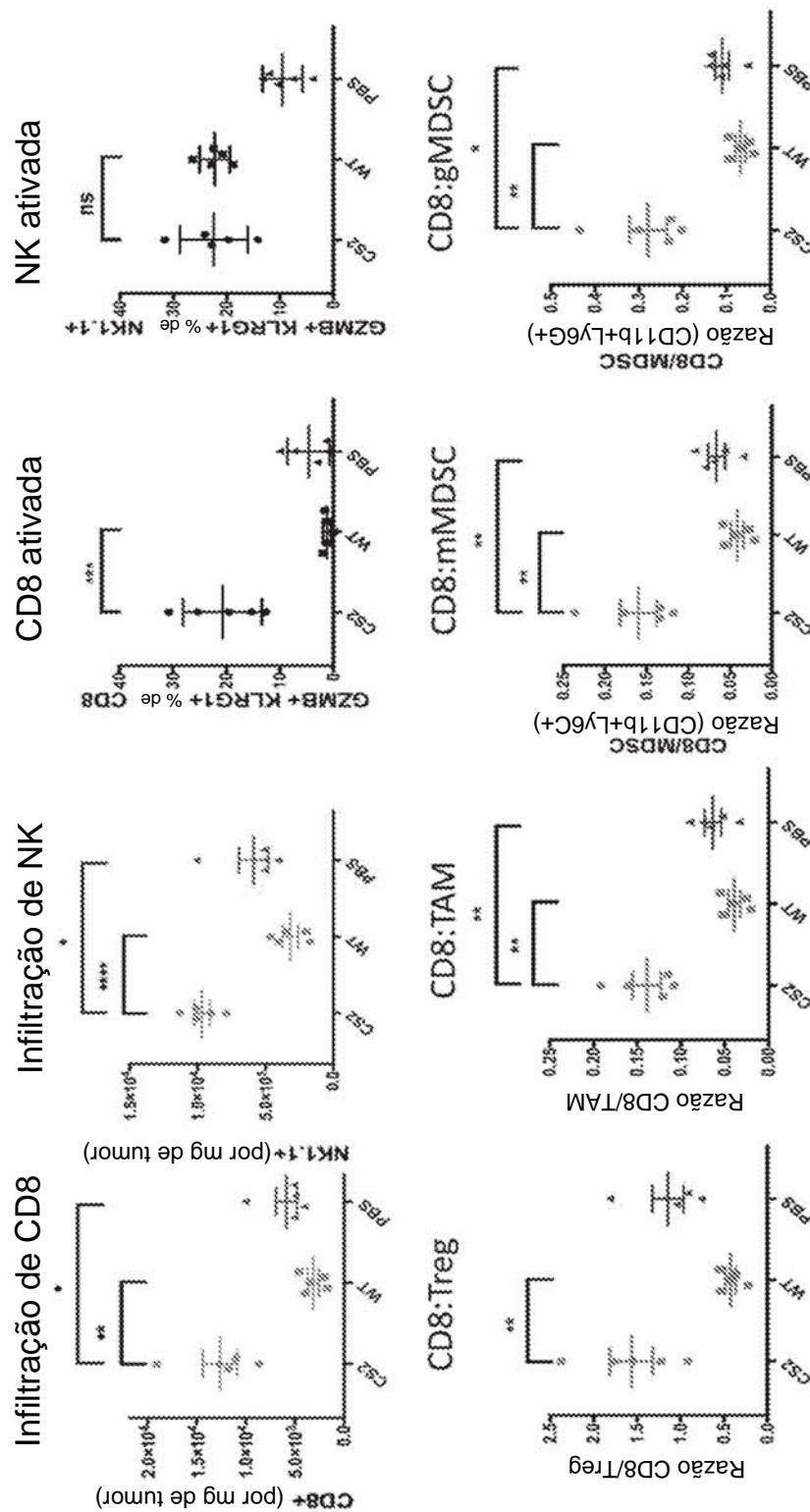


FIG. 18A

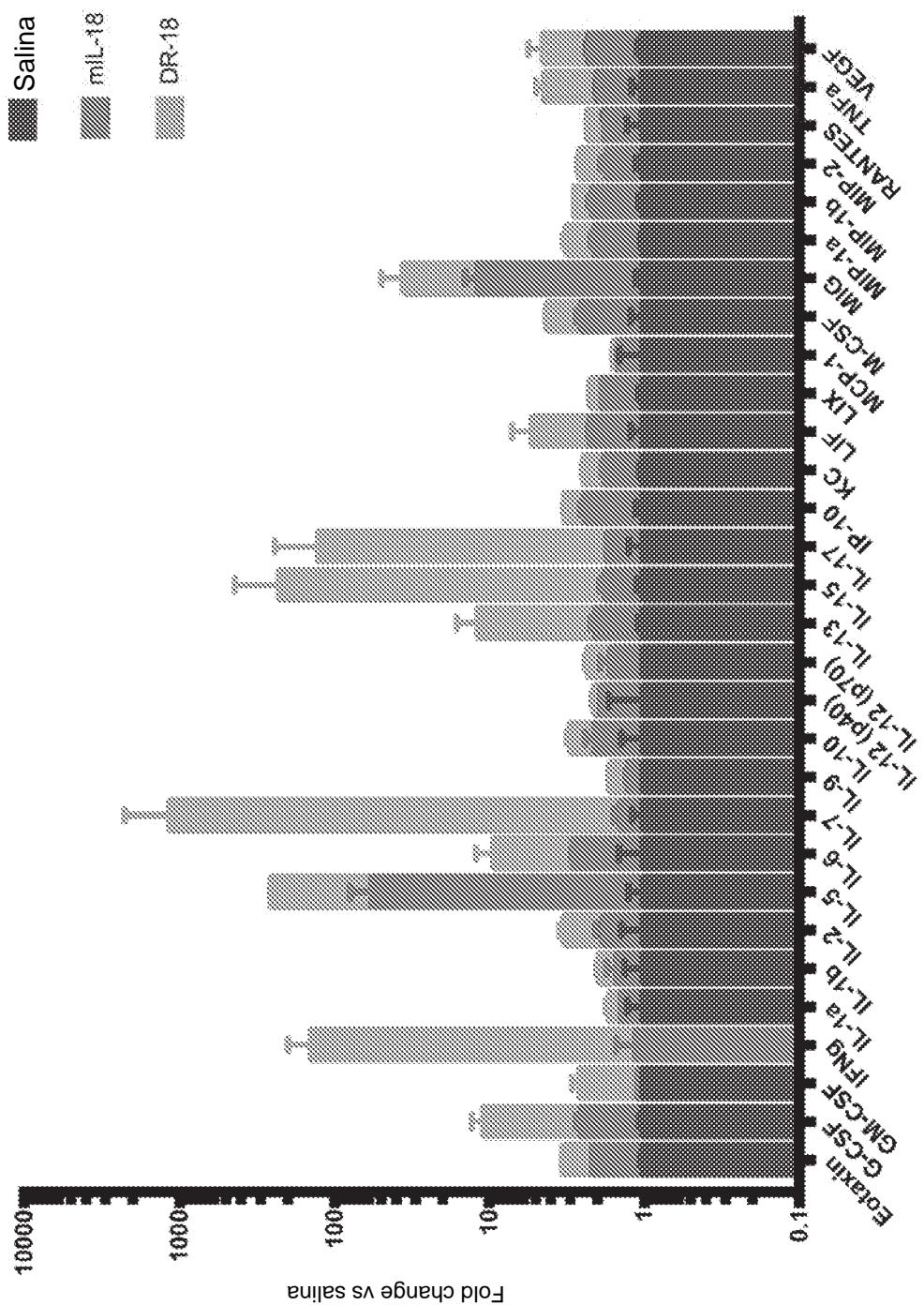


FIG. 18B

FIG. 19A

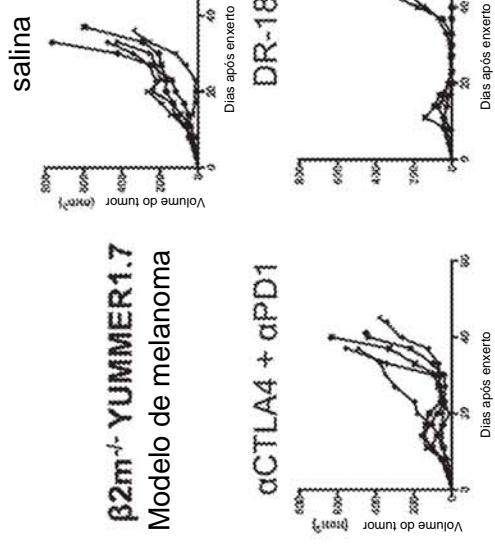


FIG. 19B

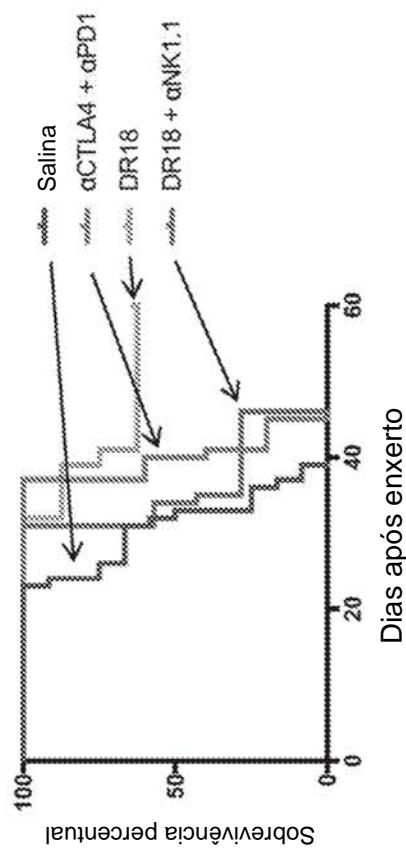


FIG. 19C

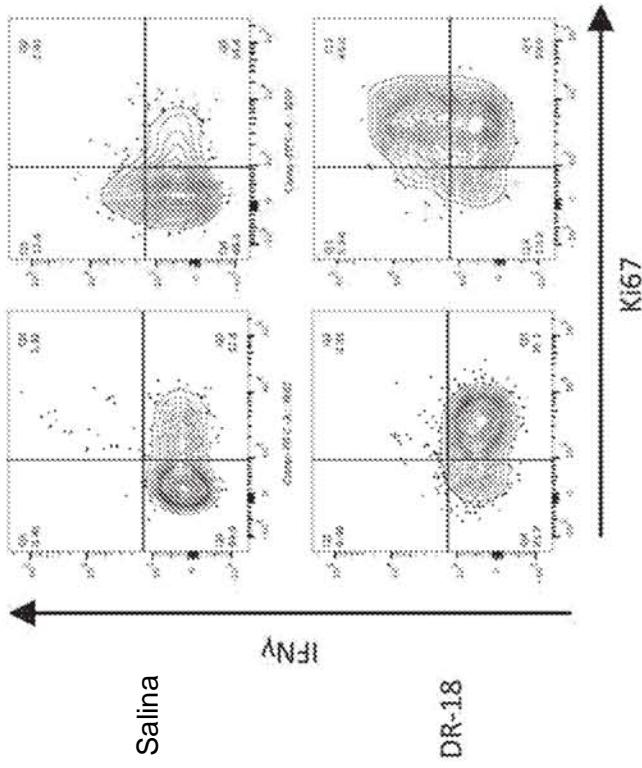


FIG. 20A

Resíduo	Aminoácido	Códon
Y3	YFLHVD	BWT
I5	L,F,Y,H,R,C	YDT
D17	D,A,G,R,H,P	SVT
E31	E,A,G,T,K,R	RVA
T34	T,A,E,K	RMA
D35	D,A,S,Y	KMT
S36	S,N,K,R	ARW
D37	D,A,Y,S	SNT
D40	D,A,Y,S	KMT
N41	N,K,S,R	ARW
M51	M,J,L,F	WTS
M60	M,J,L,F	WTS
Q103	Q,L,I,K	MWA
H109	H,D,A,P	SMT
M113	M,J,L,F	WTS
D132	D,A,Y,S,V,F	KHY

FIG. 20B

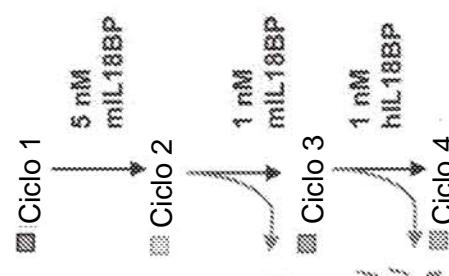
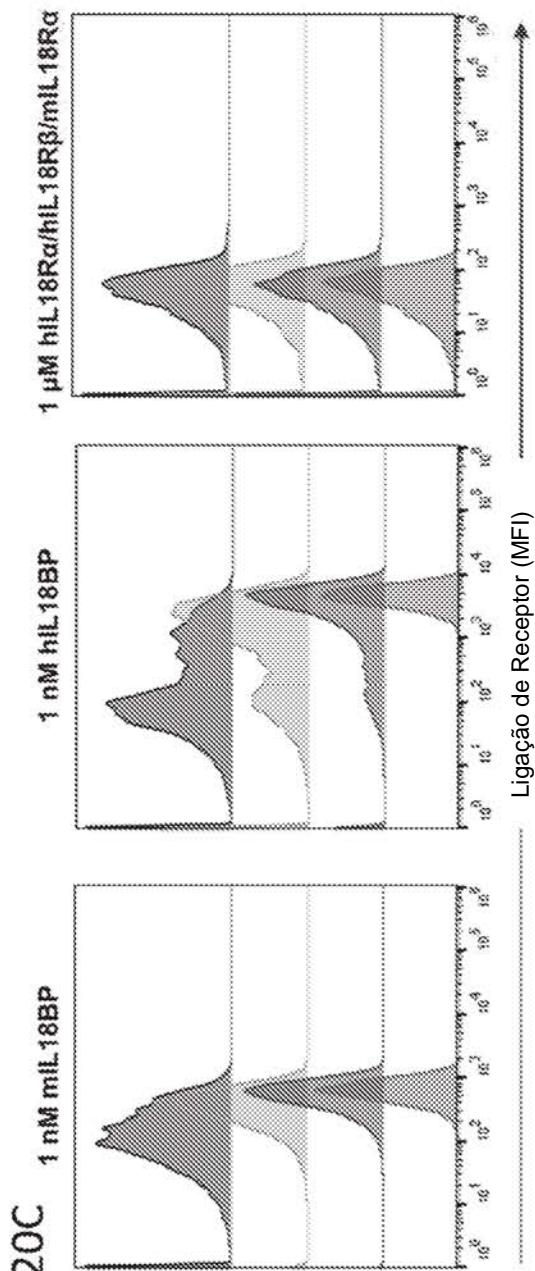


FIG. 20C 1 nM mIL18BP



1 nM mIL18BP

1 nM mIL18BP/mIL18R3/mIL18R4

	Y	L	D	E	T	S	D	N	M	O	Q	H	M	R
WT hIL-18														
hD2D-5D02														
hD2D-5D08														
hD2D-5A02														
hD2D-5B02														
hD2D-5B10														
hD2D-5C03														
hD2D-5C08														
hD2D-5E08														
hD2D-5C04														
hD2D-5C06														
hD2D-5D05														
hD2D-5F04														
hD2D-5F11														
hD2D-5B11														
hD2D-5E03														
hD2D-5B05														
hD2D-5B06														
hD2D-5F06														
hD2D-5C09														
hD2D-5D10														
hD2D-5E10														
hD2D-5F02														
hD2D-5E02														
hD2D-5F12														
hD2D-5D03														
hD2D-5F10														
hD2D-5G02														
hD2D-5F11														
hD2D-5C10														
hD2D-5D06														
hD2D-5F08														
hD2D-5A09														
hD2D-CS1														
hD2D-CS2														
hD2D-CS3														

FIG. 21

FIG. 22A

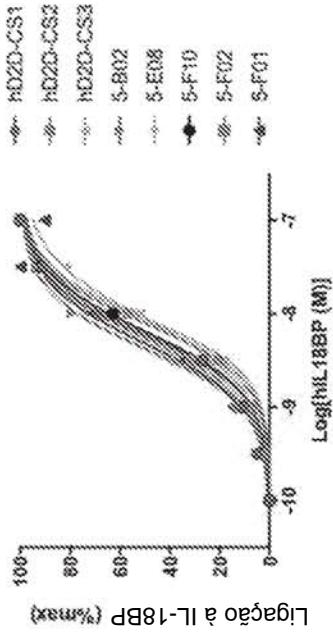


FIG. 22B

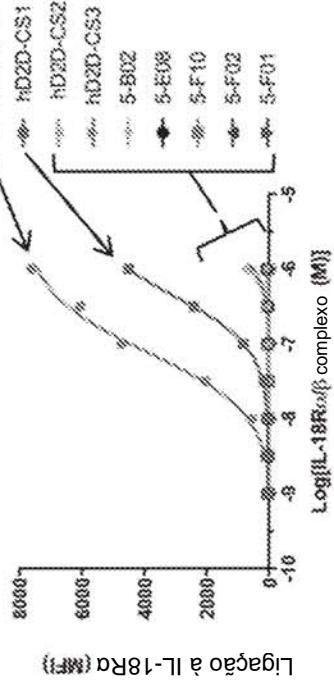


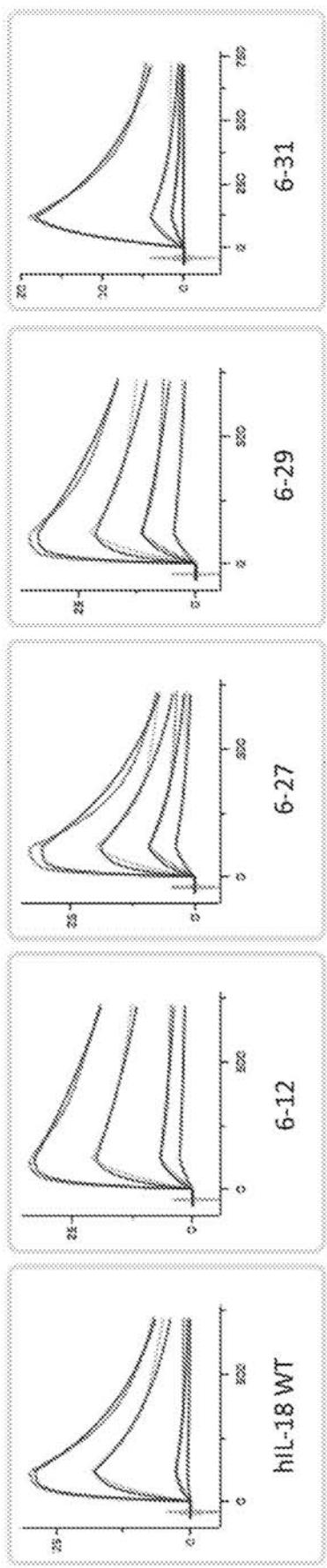
FIG. 22C

Variante	IL18R α (KD)	IL18BP (KD)	Razão BP: R α (norm. para WT)
WT IL18	62 nM	2.1 nM	1
hD2D-CS1	430 nM	5.9 nM	2.5
hD2D-CS2	21 μ M	7.9 nM	90
hD2D-CS3	9.7 μ M	8.9 nM	37
5-B02	NBD	4.2 nM	>170
5-E08	NBD	8.8 nM	>81
5-F10	NBD	6.4 nM	>110
5-F02	NBD	5.4 nM	>130
5-F01	NBD	4.8 nM	>150

	1	S	17	30	33	34	35	36	50	102	104	108	109	111	129	130
WTmIL-18	N	L	D	E	T	D	I	D	M	Q	R	H	N	M	D	D
mD2D-A5	Y	Y	Q	A	G	Y	T	V	L	E	R	L		E		
mD2D-A6	D			A	G	S		A	F	L	A	D		I	A	T
mD2D-A7	Y		G	R	A		T	V	F	I	P	A	S		A	G
mD2D-A8	H		K	E	Y	T	V		I	A	D	R	I		N	
mD2D-A9	Y		A	A	A		K	G	L	P	D	T		F	G	
mD2D-A11	Y		E	A	G		R	H		I	P	A	S	L		
mD2D-A12	H		R	G	A		G	F	I	P	D	S	L	V		
mD2D-B4	H	S	T	G	S		V		I	G	D		I		R	
mD2D-B7	Y	S	R	E		T	P	F	I	D	D	S	L	F	E	
mD2D-B11	H	A	G		A	T	V	F	I	P	D	S	L	Y	E	
mD2D-B12		N	K	E	Y	T	L	F	I	P	D	S	L			
mD2D-C1	Y	G	A	E	A	T	R	F	I	G	A		L		G	
mD2D-C3		G	A	R	A		L	F	L	G	D				R	
mD2D-C5	Y	A	A	E	A	T	A	F	I	G	A	S		A	S	
mD2D-C6	L	G	A	G	A	T	L		L	P	D	T				
mD2D-C9		G	A	A	Y	T	V	F	I	G	D	S	L	Y		
mD2D-C10	D		K	E	S	K	P	F	L	A	A	S	L	A	N	
mD2D-C11	L	G	A	G		K	V		I	P	D		L		E	
mD2D-D1	Y	H	Q	R	A	A	T	R	L	G	D					
mD2D-D9		Q	T	E	S		G	F	L	A	A	S	L		S	
mD2D-D12	F	H	G	G	G		R	V	I	A	D	S	I		G	
mD2D-E3	V	H	G	K		Y			L	A	D	T	I	A	Q	
mD2D-E4		G	A		A	T	R		I	Q	A		I	F	R	
mD2D-E5	D	G	G	A	Y		G	F	I	A	A	S	I	S	G	
mD2D-E7	Y		R	G	S		G		I	P	A	T	L		G	
mD2D-E8	Y	E	T	E	A	Y	R	L	L	P	D	R	L		G	
mD2D-E9	F	N	N	E	Y		R	L	L	G	D	S	L	S	H	
mD2D-E10	Y	N	A	E			T	L	L	P	D	T	I			
mD2D-E11	Y	A	B	G	Y		T	A	F	I	P	D	S	I	N	
mD2D-E12	Y		G	A		Y	A	F	I	P	D	S	I	A		
mD2D-F3	D	G	A	A	Y		T	A	F	I	P	D	S	I	Y	G
mD2D-F4	D	E	R	K	Y		L	F	I	G	D		L		T	
mD2D-F5	D	E	T	A	Y		T	L	F	I	A	D	S	L	A	G
mD2D-F7	D	N	K	E	S	T	A	G	F	I	G	D	T	L		
mD2D-F8	H	E	A	E	A	T	G	F	I	G	D	T	L	A	G	
mD2D-F9	I	E	K	R	Y		V	F	I	E	A	S	L		E	
mD2D-G1	Y	A	T	G	Y	T	L	L	I	P			I		R	
mD2D-G7		N	R	A	S	T	A	I	G							
mD2D-G9	D	G	K		R	A	F	L	A		S				E	
mD2D-H7		E	A			T	A		L	P	D	I		Y	G	
mD2D-E1	Y	E	A				L	F	L	G	D		I		T	
mD2D-A10	H	G	K	K	Y		V		L	A		S	I		S	
mD2D-F12	Y	G	K	K	A	K	A	F	I	P	A	S			G	
mD2D-E2	L	G	G	G	S		P	F	I	H	A	T			N	
mD2D-C4	Y	S	T	A	Y	T	V	F	I	A	D	S	L	S	N	
mD2D-C2	Y	G	T	G	A	R	V	F	L	P	D		L	S	G	
mD2D-A2	D	G	G	K	A	T	G	F	I	A	A		L	A	G	
mD2D-A1	D	S	B	G	S		H	F	L	A	A		L		G	
mD2D-D4	Y	E	K	K		K	L	F	L	G	D		L	F	G	
mD2D-A3	Y	G	A	A	S	T	H	F	L	G	A		I		S	
mD2D-B9	Y	S	G	K	Y		V	F	L	G	D	T	I	S	G	

FIG. 23

Ligaçāo à hLL-18R α



Ligaçāo à hLL-18BP

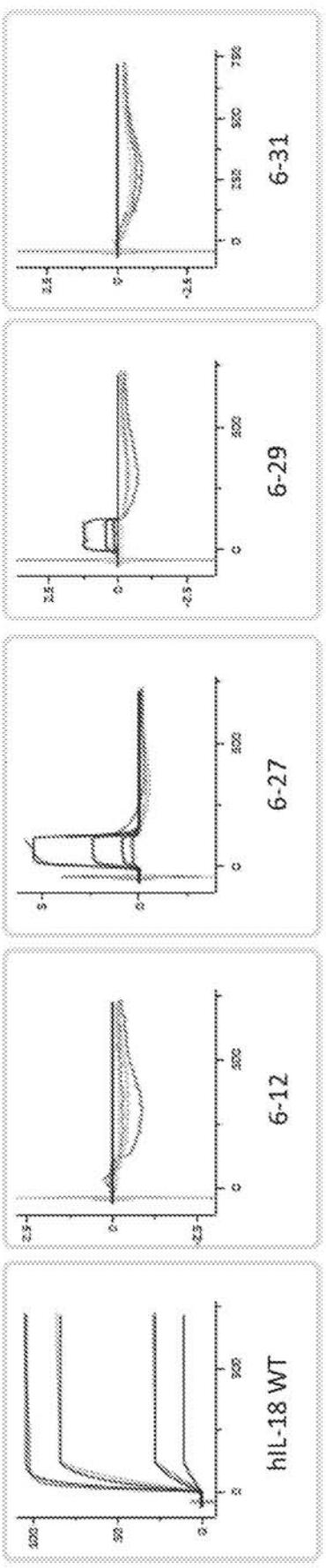


FIG. 24

FIG. 25A

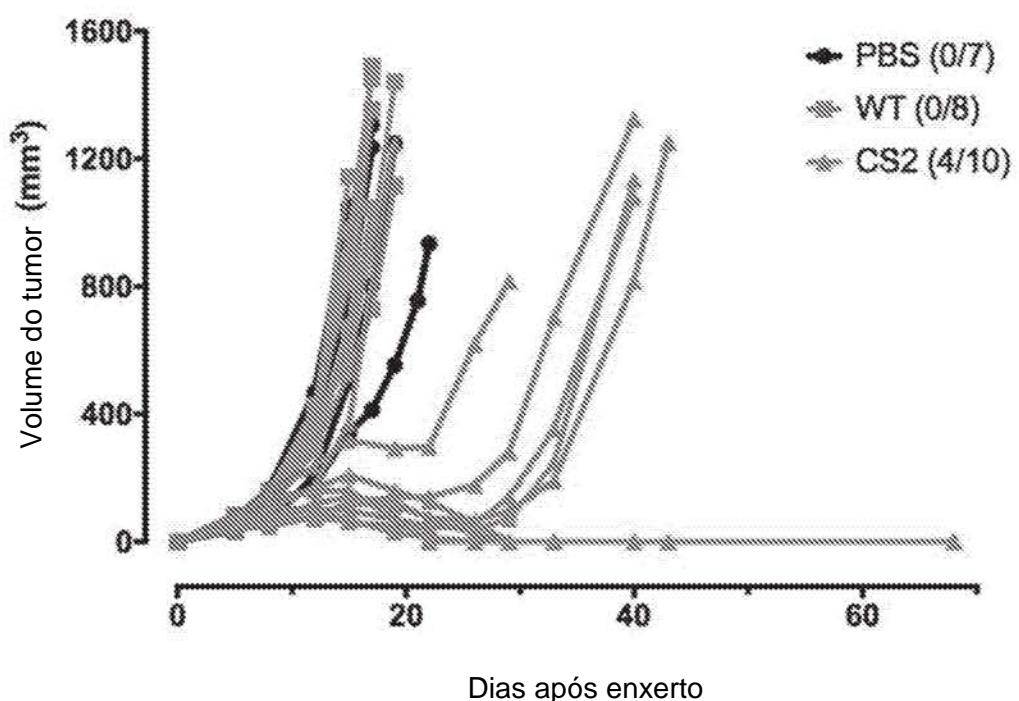


FIG. 25B

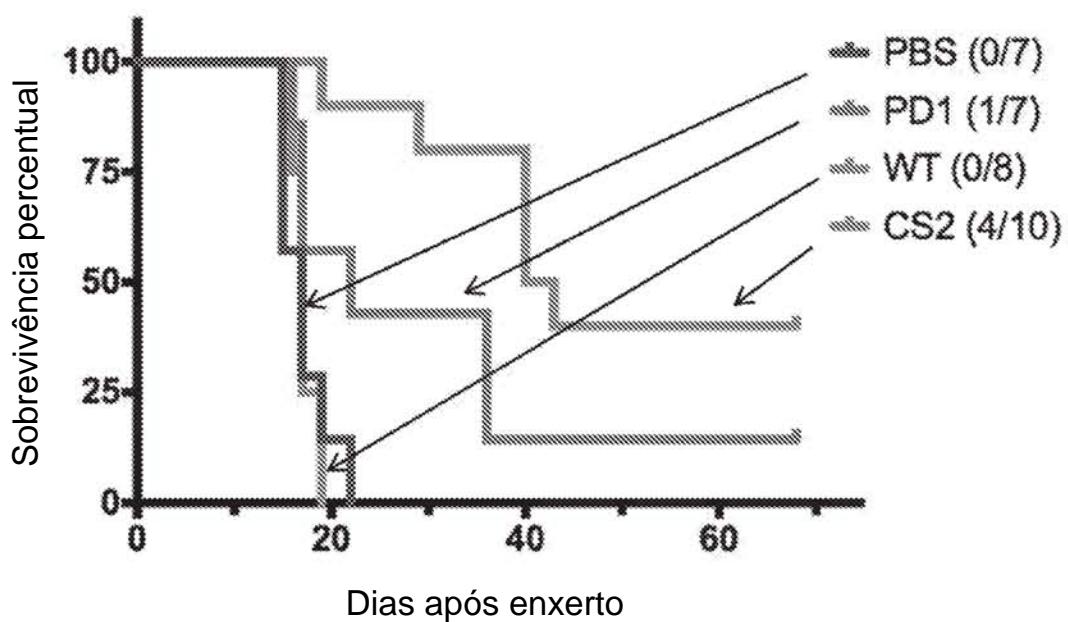


FIG. 26A

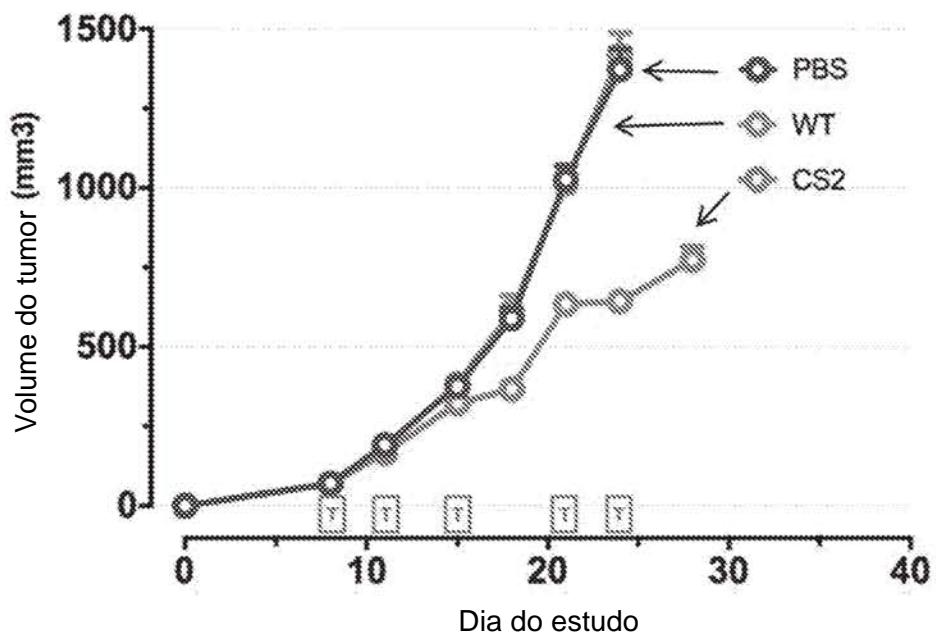
4T1

FIG. 26B

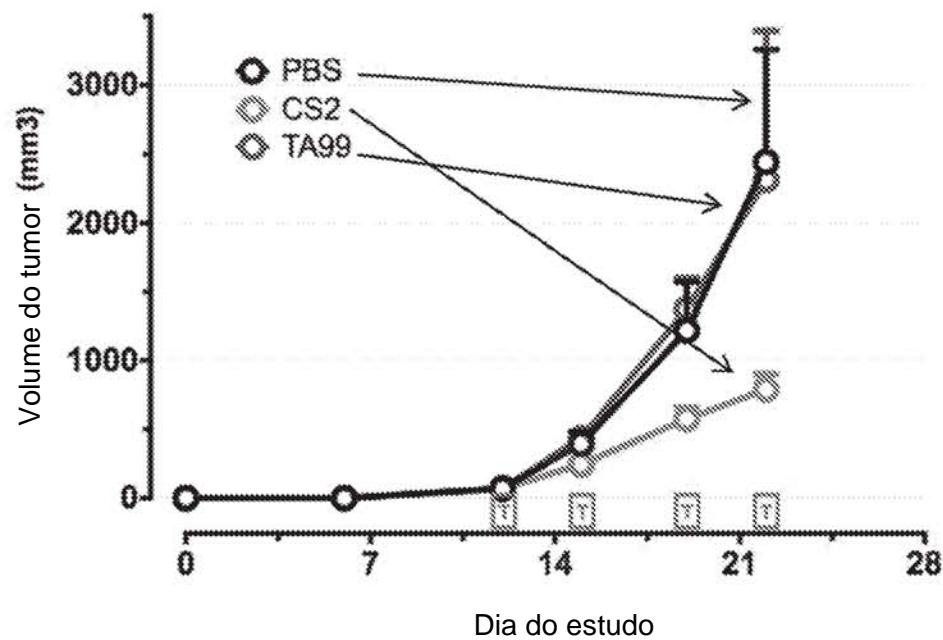
B16-F10

FIG. 27A

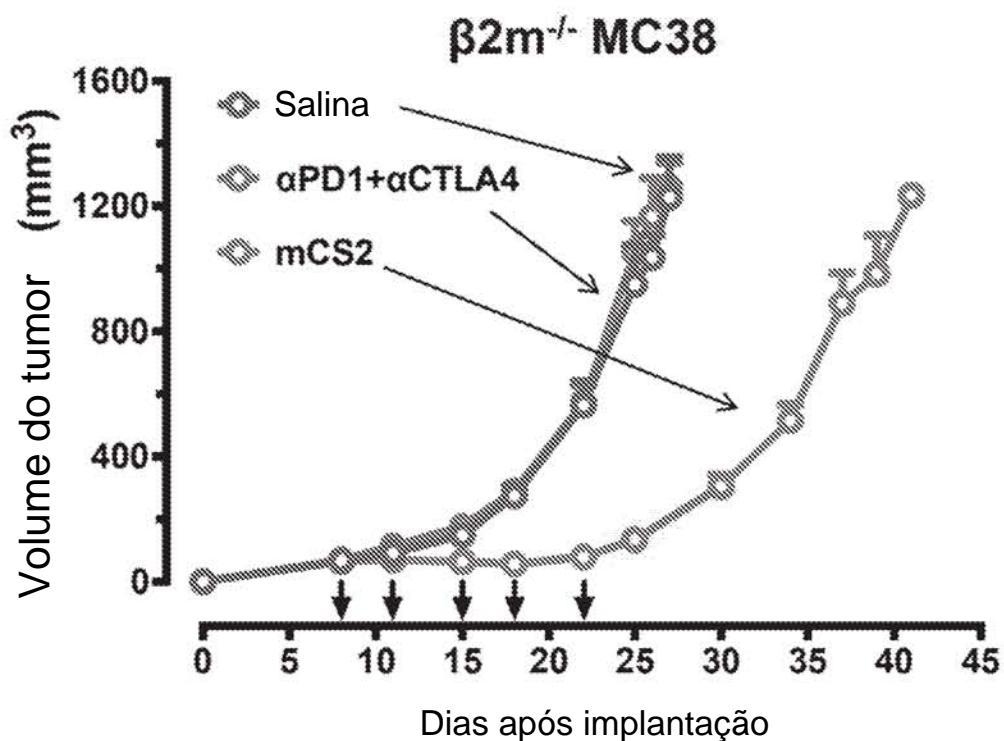


FIG. 27B

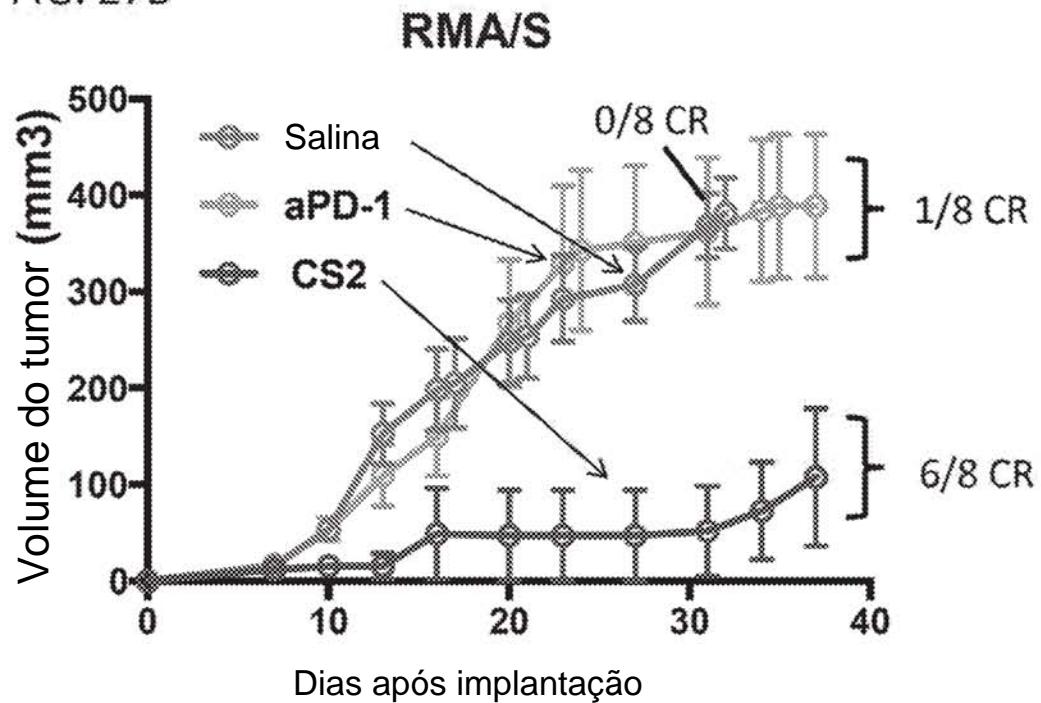


FIG. 28

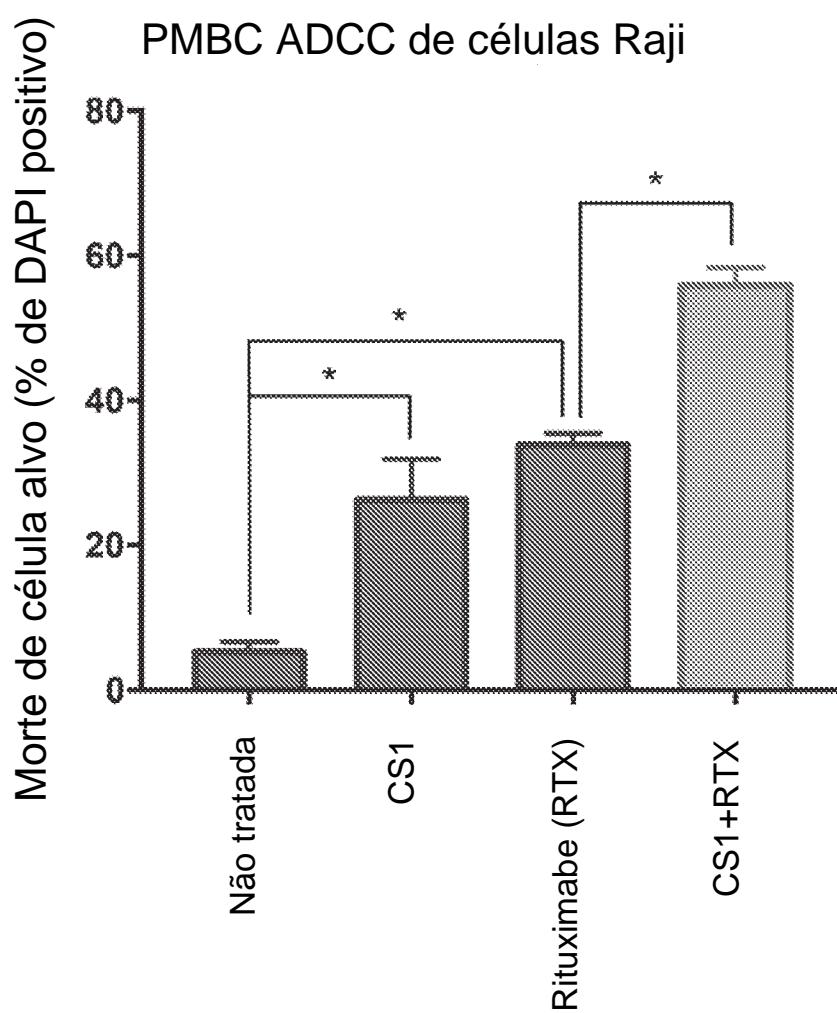
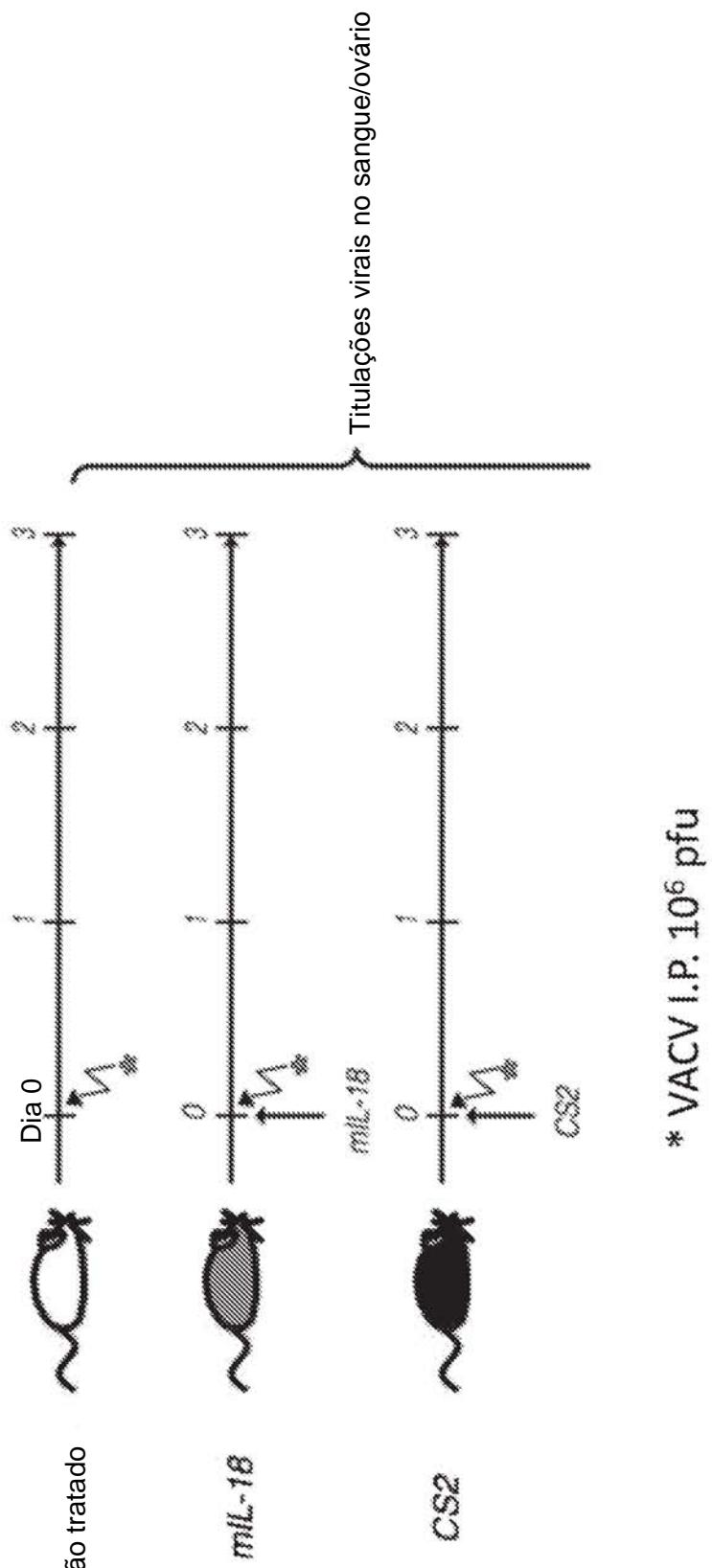


FIG. 29A



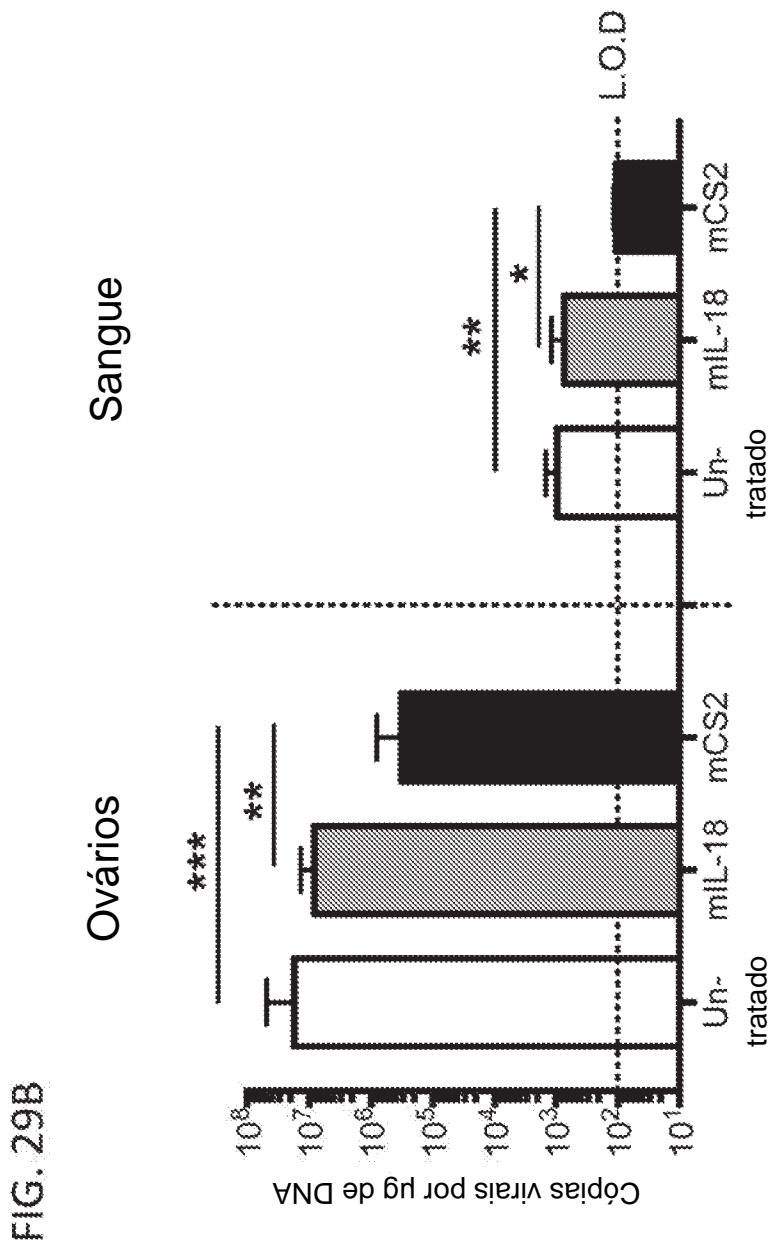
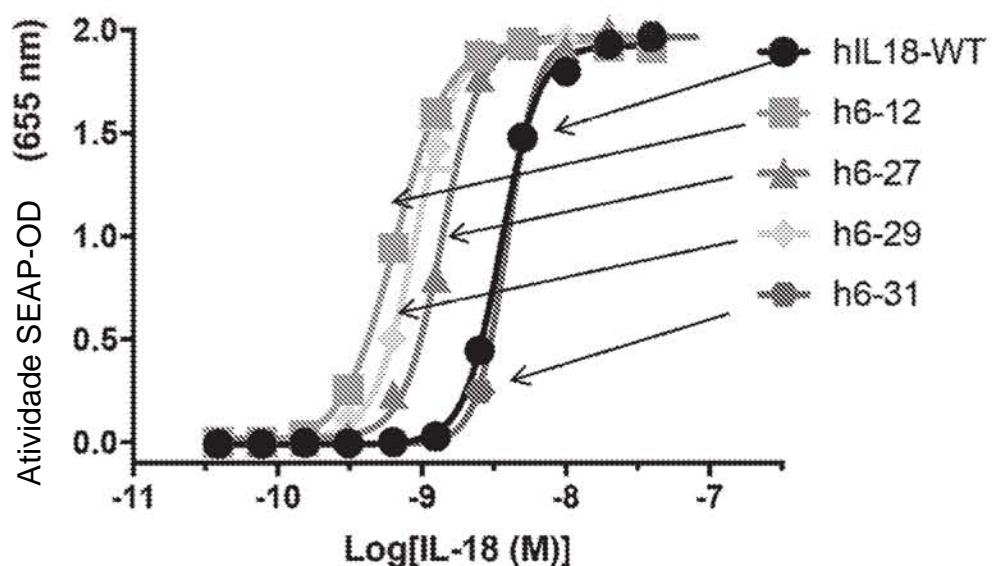


FIG. 30A

Ensaio de atividade de IL-18 HEK-Blue



RESUMO

COMPOSIÇÃO, E, MÉTODO PARA TRATAR OU PREVENIR UMA DOENÇA OU DISTÚRBIO EM UM INDIVÍDUO EM NECESSIDADE DO MESMO

A presente invenção provê composições e métodos compreendendo um ativador de atividade de IL-18 para uso em aplicações terapêuticas e não terapêuticas. O ativador provê sinalização da atividade de IL-18 mesmo na presença de uma molécula inibidora, tal como IL-18BP.

Este anexo apresenta o código de controle da listagem de sequências biológicas.

Código de Controle

Campo 1



Campo 2



Outras Informações:

- Nome do Arquivo: 140611.txt
- Data de Geração do Código: 04/03/2020
- Hora de Geração do Código: 15:52:02
- Código de Controle:
 - Campo 1: DA580BD2EC21F6C2
 - Campo 2: B0D0977B2B5E40A5