

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **020886**

(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2015.02.27

(21) Номер заявки
201070596

(22) Дата подачи заявки
2008.11.13

(51) Int. Cl. **C07K 16/28** (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61P 37/06 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(54) ГУМАНИЗИРОВАННЫЕ АНТИТЕЛА ПРОТИВ TL1A

(31) 60/987,651

(32) 2007.11.13

(33) US

(43) 2010.12.30

(86) PCT/US2008/083362

(87) WO 2009/064854 2009.05.22

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ТЕВА БИОФАРМАСЬЮТИКАЛЗ
ЮЭсЭй, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
Смит Роджер, Канакарадж
Паланисами, Рошке Виктор, Роузен
Крейг, Кукси Бриджет А. (US)

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(56) WO-A-2006127900

BAMIAS GIORGOS ET AL.: "Expression, localization, and functional activity of TL1A, a novel Th1-polarizing cytokine in inflammatory bowel disease", JOURNAL OF IMMUNOLOGY, AMERICAN ASSOCIATION OF IMMUNOLOGISTS, US, vol. 171, no. 9, 1 November 2003 (2003-11-01), pages 4868-4874, XP002425310, ISSN: 0022-1767, the whole document
WO-A-2005018571

YU Y. ET AL.: "Modulation of endothelial cell growth arrest and apoptosis by vascular endothelial growth inhibitor", CIRCULATION RESEARCH, GRUNE AND STRATTON, BALTIMORE, US, vol. 89, 1 January 2001 (2001-01-01), pages 1161-1167, XP002977779, ISSN: 0009-7330, the whole document
WO-A-2008106451

(57) В изобретении раскрыты гуманизированные антитела, которые специфично связываются с 15 членом надсемейства TNF (TNFSF 15), также известным как TL1A. Также описаны способы получения и применения антител против TL1A. Гуманизированные антитела могут представлять собой антагонисты и могут применяться для лечения или диагностирования заболеваний, связанных с функциями TL1A.

B1

020886

020886

B1

По данной заявке испрашивается преимущество приоритета к временной патентной заявке США № 60/987651, которая подана 13 ноября 2007 г. Таким образом, содержание этой заявки включено в качестве ссылки в полном объеме.

Краткое изложение сущности изобретения

Настоящее изобретение относится к антителам против TL1A и способам получения и применения таких антител. Ожидается, что эти антитела можно использовать, в частности, для лечения воспалительных состояний, таких как болезнь Крона.

Предпосылки создания изобретения

Белки, обладающие структурным сходством с фактором некроза опухоли (TNF), в совокупности обозначаются как надсемейство TNF. TL1A, член надсемейства TNF, представляет собой TNF-подобный цитокин, который связывается с рецептором с доменом смерти (DR)3 и предоставляет костимуляторные сигналы активированным лимфоцитам. Посредством этого взаимодействия TL1A индуцирует секрецию IFN- γ и, следовательно, может принимать участие в развитии эффекторных ответов Т-хелперов 1 типа.

TL1A представляет собой трансмембранный белок II типа и обозначается как 15 член надсемейства TNF (TNFSF15). TL1A экспрессируется преимущественно эндотелиальными клетками и моноцитами, и его экспрессия индуцируется под действием TNF- α и IL-1 α ; Migone et al., *Immunity*, 16:479-92 (2002). TL1A поддается повышающей регуляции провоспалительными цитокинами TNF и IL-1, а также иммунными комплексами (IC); Hsu et al., *Exp. Cell Res.*, 292:241-51 (2004).

TL1A опосредует передачу сигналов через свой рецептор узнавания - рецептор смерти DR3, активация которого, как известно, индуцирует как факторы смерти, так и факторы выживания. Также предполагается, что TL1A, подобно TNF, циркулирует в гомотримерной растворимой форме; Kim et al., *J. Immunol. Methods*, 298(1-2):1-8 (Mar. 2005).

TL1A с высокой аффинностью связывается рецептором смерти 3 (DR3), являющимся членом семейства рецепторов TNF, содержащих домен смерти, а также называется Wsl-1, Apo-3, TRAMP и LARD и в настоящее время обозначается как 25 член надсемейства рецепторов TNF (TNFRSF25). В зависимости от клеточного окружения связывание DR3 с TL1A может запускать один или два пути передачи сигнала, активацию фактора транскрипции NF- κ B или активацию каспаз и апоптоз. TL1 участвует в активации Т-клеток и поляризации Th1-клеток. На активированные Т-клетки TL1A действует, в частности, через свой поверхностный рецептор DR3, чтобы стимулировать клеточное выживание и секрецию провоспалительных цитокинов. Секретируемый рецептор-приманка 3 (DcR3), растворимый белок из семейства рецепторов фактора некроза опухоли (TNFR), блокирует действие TL1A; Kim et al., "Identification of naturally secreted soluble form of TL1A, a TNF-like cytokine", *J. Immunol. Methods*, 298:1-8 (2005).

Вероятные мишени терапевтического воздействия

Аллергия и астма.

Th2-поляризация CD4 Т-клеток при повышенных уровнях IgE и образовании IL-13 NKT-клетками является основной причиной воспаления легкого при аллергии и астме. TL1A играет основную роль в аллергическом воспалении легкого (Fang et al. *J. Exp. Med.* 2008). TL1A костимулирует образование IL-4 и IL-13 в NKT-клетках. Блокирование взаимодействия TL1A и DR3 антителами против TL1A или доминантным отрицательным мутантом TL1A снимает воспаление легкого.

Карцинома легких и карцинома толстой кишки.

Члены надсемейства TNF и надсемейства рецепторов TNF регулируют иммунологические реакции и индуцируют апоптоз. DR3 предпочтительно экспрессируется Т-лимфоцитами и подвергается повышающей регуляции в процессе активации Т-клеток. Лигандом для DR3 является TL1A. TL1A также связывается с рецептором-приманкой DcR3/TR6, который экспрессируется некоторыми карциномами легких и карциномами толстой кишки и в некоторых здоровых тканях. TL1A подвергается повышающей регуляции под действием провоспалительных цитокинов TNF и IL-1. TL1A является более длинным вариантом TL1 (также обозначается как VEGI).

Атеросклероз.

Кроме того, также сообщалось, что TL1A обладает ангиостатическим действием и индуцирует экспрессию генов металлопротеиназы и IL-8 (Su et al., *Exp. Cell Res.*, 312:266-277 (2006); Kang et al., *Cytokine*, 29:229-235 (2005)). Действительно, TL1A и DR3 могут быть вовлечены в патогенез атеросклероза путем увеличения образования провоспалительных цитокинов и хемокинов и снижения стабильности бляшек, индуцируя ферменты, разрушающие внеклеточный матрикс (Kang et al., *Cytokine*, 29:229-235 (2005)).

Ревматоидный артрит.

Также существуют данные, которые указывают на то, что TL1A/DR3 вовлечены в этиологию ревматоидного артрита (Bossen et al., *J. Biol. Chem.*, 281 (20):13964-13971 (May 19, 2006).

Воспалительное заболевание кишечника.

Исследователи обнаружили связь между экспрессией TL1A и воспалительным заболеванием кишечника (Prehn et al., *Clin. Immunol.*, 112:66-77 (2004); Bamias et al., *J. Immunol.* 171:4868-4874 (2003)).

Th1-опосредованные заболевания кишечника, такие как болезнь Крона.

Болезнь Крона представляет собой тяжелое воспалительное расстройство кишечника, которое поражает молодых взрослых людей (в возрасте от 20 до 30 лет). Полагают, что причинами этого состояния являются генетическая предрасположенность и факторы внешней среды, которые вызывают дисбаланс эффекторных (провоспалительных) и регуляторных реакций Т-клеток, что приводит к воспалению слизистой желудочно-кишечного тракта и расстройству.

Путь TL1A/DR3 играет важную роль в Th1-опосредованных заболеваниях кишечника, таких как болезнь Крона, Konstantinos et al., *The Journal of Immunology*, 2005, 174: 4985-4990 (2005); Bamias et al., *J. Immunol.* 171:4868-74 (2003). Следовательно, блокирование пути TL1A/DR3 может дать возможность лечения болезни Крона.

TL1A увеличивает образование IFN- γ посредством анти-CD3 плюс анти-CD28 и IL-12/IL-18-стимулированных Т-клеток периферической крови (ПК). Активация DR3 под действием TL1A индуцирует образование сигнального комплекса, включая TRADD, TRAF2 и RIP и активированные NF- κ B и ERK, JNK и p38 митоген-активированные протеинкиназные пути; Kang et al., *Cytokine*, 29:229-35 (2005). TL1A может высвобождаться и циркулировать в гомотримерной растворимой форме; Wen et al., "TL1A-induced NF- κ B activation and C-IAP2 production prevent DR3-mediated apoptosis in TF-1 cells", *J. Biol. Chem.*, 278:39251-8 (2003).

Рецепторы смерти и их лиганды играют ключевую роль в поддержании тканевого гомеостаза и физиологическом регулировании запрограммированной клеточной смерти. Связывание лигандов смерти индуцирует олигомеризацию рецептора, вовлечение адаптерного белка посредством консервативного цитоплазматического сигнального элемента, который называется доменом смерти, активацию каспаз и индукцию апоптоза; Young et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103(22):8303-8304 (May 30, 2006).

Хотя рецепторы смерти, такие как Fas/Apo-1/CD95, TNF-R1, TRAIL-R1, TRAIL-R2 или DR3, изначально были описаны как индукторы апоптоза, увеличивается количество свидетельств того, что эти рецепторы также имеют функции, не связанные с апоптозом, включая регуляцию адаптивного иммунного ответа. В статье Bamias et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103:8441-8446 (2006) сообщается о том, что TL1A экспрессируется дендритными клетками собственной пластинки слизистой, и о том, что он действует посредством усиления пролиферации клеток памяти, но не наивных CD4⁺ Т-клеток, и проявляет синергетический эффект вместе с IL-12 и/или в малых дозах стимулирует рецепторы Т-клеток для резкого повышения экспрессии гена IFN- γ . Полагают, что экспрессия IFN- γ в кишечнике является маркером воспаления и многие стратегии лечения болезни Крона основаны на многочисленных попытках подавлять активированное состояние иммунной системы. Однако такие попытки (лечение стероидами и иммуносупрессорными лекарственными средствами) не нацелены именно на кишечник и, таким образом, им присущи определенные сложности. Целенаправленная терапия, основанная на использовании антагонистов TNF- α , была успешно введена в 1990-х, и результаты, о которых сообщается в литературном источнике 1, говорят о том, что терапия, направленная именно против TL1A или его рецепторов, может обеспечить альтернативную целенаправленную терапию для этого изнуряющего заболевания.

Как сообщается в статье Bamias et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103:8441-8446 (2006), похоже, TL1A обладает самым сильным эффектом, когда он экспрессируется в кишечнике при воспалении. TL1A в сочетании с IL-12/18 проявляет синергетическое действие при индукции экспрессии IFN- γ Т-клетками человека, хотя увеличенная экспрессия также может наблюдаться в естественных киллерах (Migone et al., *Immunity*, 16:479-492 (2002); Papadakis et al., *J. Immunol.* 174:4985-4990 (2005); Papadakis et al., *J. Immunol.* 172:7002-7007 (2004)). В статье Bamias et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103:8441-8446 (2006) впервые сообщалось о схожих наблюдениях, сделанных на моделях болезни Крона на мышах, что расширяет ранее полученные данные, так как указывает на то, что синергизм возникает, когда Т-клеточный рецептор стимулирован слабо или когда Т-клетки подвергаются воздействию IL-12. Несмотря на то что исследователи Bamias et al. не наблюдали синергетического эффекта, когда обработку белком TL1A комбинировали с IL-18, этот результат можно не считать удивительным, поскольку как IL-18, так и TL1A передают сигналы через NF- κ B. Тогда как в исходном сообщении исследователей Migone et al. было показано, что TL1A являлся костимуляторным сигналом для Т-клеток, исследователи Bamias et al. показали, что она является Т-клеткой памяти, которая отвечала более выраженно, в соответствии с увеличенной способностью этой Т-клеточной популяции экспрессировать IFN- γ . В силу того, что эта популяция пролиферирует, она также проявляет более высокие уровни экспрессии рецептора TL1A, таким образом дополнительно увеличивая способность клеток пролиферировать и экспрессировать IFN- γ . Это открытие можно считать в некоторой степени неожиданным в связи с тем, что единственным известным рецептором TL1A является DR3-рецептор, содержащий домен смерти, и можно предположить, что включение этого рецептора приводит к клеточной смерти. (TL1A передает сигналы через DR3 - его единственный известный рецептор на поверхности клетки. TL1A также связывается с растворимым рецептором-приманкой (DcR3)). Однако было показано, что NF- κ B-зависимые антиапоптотические гены, такие как ингибитор апоптоза 2, индуцируются белком TL1A (Wen et al., *J. Biol. Chem.*, 278:39251-39258 (2003)), и, следовательно, включение апоптоза или пролиферации может зависеть от типа клеток.

Существующие в настоящее время варианты лечения болезни Крона включают моноклональные антитела против TNF- α , инфликсимаб (Ремикейд; Centocor, Inc., Horsham, PA), моноклональные антитела Адалимумаб (торговое название Humira; Abbott), а также противовоспалительные средства (например, сульфасалазин), кортизон или стероиды (например, преднизон), иммунодепрессанты (например, 6-меркаптопурин) и антибиотики. Однако инфликсимаб является единственным вариантом лечения, который обладает высокой степенью направленности; остальные варианты лечения обладают низкой направленностью; Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 103(22): 8303-8304 (May 30, 2006). Это означает, что лечение не нацелено на область заболевания. В то время как инфликсимаб обладает высокой направленностью и, как правило, хорошо переносится, инфликсимаб может вызывать рецидивы туберкулезной инфекции и ухудшения при сердечной недостаточности, демиелинизирующих заболеваниях и увеличение частоты возникновения лимфом.

Следовательно, в данной области сохраняется потребность в композициях, которые можно использовать для лечения и диагностики различных воспалительных и иммунных заболеваний и расстройств, таких как аллергия/астма, ревматоидный артрит, рассеянный склероз, болезнь Крона, воспалительное заболевание кишечника, хроническое обструктивное заболевание легких, псориаз, диабет 1-го типа и отторжение трансплантата. Настоящее изобретение относится к моноклональным антителам против TL1A и удовлетворяет эту потребность.

Краткое изложение сущности изобретения

Раскрыты молекулы антигенсвязывающего полипептида, который специфично связывается с TNF-подобным цитокином TL1A (см. GenBank, инвентарный номер AF520785).

Настоящее изобретение относится к выделенному антигенсвязывающему полипептиду, специфично связывающемуся с TL1A, который содержит:

- (a) вариабельную область тяжелой цепи гуманизированного антитела, которая содержит:
 - (1) CDR-H1, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:7;
 - (2) CDR-H2, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:8;
 - (3) CDR-H3, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:9;
- (b) вариабельную область легкой цепи гуманизированного антитела, которая содержит:
 - (1) CDR-L1, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:35;
 - (2) CDR-L2, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:36;
 - (3) CDR-L3, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:37.

В одном из вариантов осуществления полипептид по изобретению содержит вариабельную область тяжелой цепи гуманизированного антитела, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:10.

В другом варианте осуществления полипептид по изобретению содержит вариабельная область легкой цепи гуманизированного антитела, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:38.

Также настоящее изобретение относится к антигенсвязывающему полипептиду, специфично связывающемуся с TL1A, который содержит вариабельную область тяжелой цепи гуманизированного антитела, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:10, и вариабельную область легкой цепи гуманизированного антитела, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:38.

В одном из вариантов осуществления полипептид по изобретению относится к полипептиду, выбранному из группы, состоящей из молекулы антитела, фрагмента Fab, фрагмента Fab', фрагмента F(ab')₂ и молекулы scFv.

В другом варианте осуществления полипептид по изобретению представляет собой антитело.

Настоящее изобретение относится также к выделенному антигенсвязывающему полипептиду, специфично связывающемуся с TL1A, который содержит:

- (a) вариабельную область легкой цепи, имеющую последовательность SEQ ID NO:38;
- (b) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую последовательность SEQ ID NO:10.

Одним вариантом осуществления является также полипептид по изобретению, который представляет собой химерное антитело, содержащее константную область тяжелой цепи человека и константную область легкой цепи человека, предпочтительно указанное антитело представляет собой молекулу IgG (например, молекулу IgG1 или IgG4).

Еще одним вариантом осуществления является полипептид по изобретению, представляющий собой молекулу scFv, при этом предпочтительно scFv имеет формулу NH₂-L-VH-X-VK-COOH или NH₂-L-VK-X-VH-COOH; где L представляет собой лидерную последовательность; VH представляет собой вариабельную область тяжелой цепи гуманизированного антитела; X представляет собой линкерный полипептид и VK представляет собой вариабельную область легкой цепи гуманизированного антитела.

Другим вариантом осуществления является полипептид по изобретению, представляющий собой фрагмент Fab, слитый с HSA, при этом предпочтительно фрагмент Fab, слитый с HSA, содержит (i) тяжелую цепь, представленную NH₂-VH-CH1-HSA-COOH или NH₂-HSA-CH1-VH-COOH, и (ii) легкую цепь, представленную NH₂-VK-CK-COOH, где:

- (a) VH представляет собой вариабельную область тяжелой цепи гуманизированного антитела;

- (b) CН1 представляет собой константный домен 1 тяжелой цепи человека;
- (c) HSA представляет собой сывороточный альбумин человека;
- (d) VK представляет собой вариабельную область легкой цепи гуманизированного антитела;
- (e) СК представляет собой константный домен к-цепи человека.

Настоящее изобретение относится к также к полипептиду, конъюгированному с терапевтическим или диагностическим средством. Примерами терапевтического средства являются цитотоксическое средство, радиоактивная метка, иммуномодулятор, гормон, фермент, олигонуклеотид, фотоактивное терапевтическое средство или их сочетания. Примерами диагностического средства являются радиоактивная метка, фотоактивное диагностическое средство, активируемое ультразвуком средство или нерадиоактивная метка.

В одном из вариантов осуществления полипептид по изобретению является антагонистом TL1A.

В следующем варианте осуществления полипептид по изобретению не является агонистом TL1A.

В еще одном варианте осуществления полипептид по изобретению связывается с TL1A с константой связывания, составляющей по меньшей мере приблизительно 10^6M^{-1} , предпочтительно по меньшей мере приблизительно 10^7M^{-1} , более предпочтительно по меньшей мере приблизительно 10^8M^{-1} и наиболее предпочтительно по меньшей мере приблизительно 10^9M^{-1} .

Изобретение также относится к фармацевтической композиции для лечения или диагностирования воспалительного, иммунного или злокачественного заболеваний или состояний, содержащей полипептид по изобретению в эффективном количестве и носитель.

Фармацевтическая композиция по изобретению может также содержать дополнительное терапевтическое средство, выбранное из группы, состоящей из цитотоксического средства, радиоактивной метки, иммуномодулятора, гормона, фермента, олигонуклеотида, фотоактивного терапевтического средства или их сочетаний, или диагностическое средство, выбранное из группы, состоящей из радиоактивной метки, фотоактивного диагностического средства, активируемого ультразвуком средства или нерадиоактивной метки.

Настоящее изобретение также относится к применению фармацевтической композиции по изобретению для изготовления лекарственного средства для лечения или диагностирования воспалительного, иммунного, злокачественного заболеваний или состояний. Примерами заболеваний или состояний являются аутоиммунное заболевание (например, обыкновенная волчанка), воспалительное заболевание кишечника (IBD), хроническое обструктивное заболевание легких (COPD), артрит (например, ревматоидный артрит), рассеянный склероз, отторжение трансплантата, повреждение центральной нервной системы, Th1-опосредованные заболевания кишечника, такие как болезнь Крона, псориаз, лейкопения или лимфома (например, хронический лимфолейкоз (CLL)), атеросклероз, карцинома легких и карцинома толстой кишки.

Настоящее изобретение также относится к полинуклеотиду, кодирующему полипептид по изобретению, рекомбинантному полинуклеотиду, который содержит промоторную последовательность, функционально связанную с указанным полинуклеотидом, и выделенной клетке, трансформированной указанным рекомбинантным полинуклеотидом.

Также раскрыт способ получения полипептида, кодируемого рекомбинантным полинуклеотидом по изобретению, где способ включает:

- a) культивирование клетки, трансформированной рекомбинантным полинуклеотидом для того, чтобы экспрессировать кодируемый полипептид; и
- b) выделение экспрессированного таким образом полипептида.

Как предшествующее общее описание, так и следующее краткое описание чертежей и подробное описание являются иллюстративными и объяснительными и предназначены для того, чтобы предоставить дополнительное объяснение по изобретению, как заявлено. Другие объекты, преимущества и новые признаки будут без труда поняты специалистами в данной области из следующего подробного описания изобретения.

Краткое описание чертежей

На фиг. 1 показано ингибирование активности каспаз, индуцированных с использованием TL1A человека (huTL1A), в клетках TF-1 антителами мыши и хомяка против TL1A. AT № 1 - 19E06; AT № 2 - 12D01; AT № 3 - 15E09; AT № 4 - 16H02; AT № 5 - 14A03; AT № 6 - 04H08A; AT № 7 - 12F11; AT № 8 - 12D08.

На фиг. 2 показано выравнивание домена VH антитела мыши 16H02 против TL1A с ближайшим геном зародышевой линии человека, IGHV7-4-1-02. Выравнивание использовали в качестве шаблона для создания 2 различных версий гуманизированной VH 16H02, обозначенных на чертеже как New Hum 16H02 VH № 1 и 2.

На фиг. 3 показано количество мутаций, отличающих VH мыши от VH человека, и процент гуманизации двух версий VH гуманизированного антитела против TL1A.

На фиг. 4 показано выравнивание домена VK антитела мыши 16H02 против TL1A с ближайшим геном зародышевой линии человека, A17. Выравнивание использовали в качестве шаблона для создания 2 различных версий гуманизированной VH 16H02, обозначенных на чертеже как New Hum 16H02 VK № 1

и 2.

На фиг. 5 показано количество мутаций, отличающих VK мыши от VK человека, и процент гуманизации двух версий VK гуманизированного антитела 16H02 против TL1A.

На фиг. 6 показаны результаты временной трансфекции клеток 293F с использованием VH № 1 и 2 антитела человека 16H02 против TL1A и VK № 1 и № 2 антитела человека 16H02 против TL1A для получения полноразмерной молекулы гуманизированного антитела.

На фиг. 7 показана активность моноклональных антител 16H02 против TL1A после одного цикла гуманизации, исходя из ингибирования активности каспаз, индуцированных с помощью TL1A, в клетках TF-1 гуманизированными антителами по сравнению с контрольными антителами мыши против TL1A. 12D01=отрицательный контроль для антитела мыши против TL1A; 16H02=положительный контроль для антитела мыши против TL1A; 19E06=контрольное антитело хомяка против TL1A; 3009=гуманизированное антитело 16H02 VH № 1+VK № 1 против TL1A; 3010=гуманизированное антитело VH № 2+VK № 1 16H02 против TL1A; 3011=гуманизированное антитело VH № 1+VK № 2 16H02 против TL1A; 3012 - гуманизированное антитело VH № 2+VK № 2 16H02 против TL1A.

На фиг. 8 показаны окончательные мутации, которые необходимы для полной гуманизации каркаса VK 16H02. Для создания полностью гуманизированной легкой цепи 16H02 New Hum 16H02 VK № 2 (см. фиг. 4) исходную последовательность выравнивали с последовательностью гена зародышевой линии A17 и идентифицировали 3 отдельных области или блока (закрашенные круги) для последующего мутагенеза. Конструировали синтетические легкие цепи, которые содержали все возможные сочетания или из немутированной последовательности дикого типа VK № 2 (=W), или из последовательности гена зародышевой линии A17 (=M) в каждой из 3 областей или блоков.

На фиг. 9 показана временная трансфекция ID и LDC # для окончательных версий VK гуманизированного 16H02. Создавали синтетические легкие цепи, которые содержали все возможные сочетания или из последовательности дикого типа (W), или из мутантной последовательности (M) в 3 отдельных областях или блоках в New Hum 16H02 VK № 2 с фиг. 8. Затем проводили котрансфекцию синтетическими легкими цепями и New Hum 16H02 VH № 1 с фиг. 2 и полученные антитела тестировали на ингибирование активности каспаз, индуцированных с помощью huTL1A.

На фиг. 10 показано ингибирование активности каспаз, индуцированных с использованием TL1A человека (huTL1A), в клетках TF-1 с помощью набора различных гуманизированных антител против TL1A с фиг. 9. Активность полностью гуманизированного антитела 16H02 против TL1A, обозначенного как 3038, сравнивали с активностью исходного антитела мыши 16H02 против TL1A.

На фиг. 11 показано выравнивание последовательностей домена VH пяти ведущих кандидатных антител мыши против TL1A: 1B4, 25B9, 11D8, 27A8 и 38D6.

На фиг. 12 показано выравнивание последовательностей домена VK пяти ведущих кандидатных антител мыши против TL1A: 1B4, 25B9, 11D8, 27A8 и 38D6.

На фиг. 13 показано выравнивание последовательностей гуманизированного домена VH 1B4 (hum 1B4 VH AA) с исходным доменом VH мыши (1B4 VH AA) и ближайшим совпадающим доменом VH зародышевой линии человека (VH2-70-10).

На фиг. 14 показано выравнивание последовательностей гуманизированного домена VK 1B4 (hum 1B4 VK AA) с исходным доменом VK мыши (1B4 VK AA) и ближайшим совпадающим доменом VK зародышевой линии человека (VK-L8).

На фиг. 15 показано ингибирование активности каспаз, индуцированных с использованием TL1A, полученного из млекопитающего, в клетках TF-1 гуманизированными антителами (1B4, 11D8, 25B9) против TL1A в сравнении с антителом мыши 11D8.

Подробное описание предпочтительных вариантов осуществления

Определения.

Антитело, как описано в настоящем документе, относится к полноразмерной (т.е. встречающейся в природе или полученной обыкновенными рекомбинантными процессами с использованием фрагментов генов иммуноглобулинов) молекуле иммуноглобулина (например, к антителу IgG) или к иммунологически активной (т.е. специфично связывающейся) части молекулы иммуноглобулина, такой как фрагмент антитела.

Фрагмент антитела представляет собой часть антитела, такую как F(ab')₂, F(ab)₂, Fab', Fab, Fv, scFv и т.п. Независимо от структуры, фрагмент антитела связывается с тем же антигеном, который распознается интактным антителом. Термин "фрагмент антитела" включает аптамеры, шпигельмеры и диатела. Термин "фрагмент антитела" также включает любые синтетические или полученные способами генной инженерии белки, которые ведут себя как антитела, связываясь со специфическим антигеном с образованием комплекса. Например, фрагменты антител включают выделенные фрагменты, состоящие из вариабельных областей, таких как фрагменты "Fv", состоящие из вариабельных областей тяжелой и легкой цепей, рекомбинантные одноцепочечные полипептидные молекулы, в которых вариабельные области легкой и тяжелой цепей соединены пептидным линкером ("белки scFv"), слитые полипептиды Fab HSA, в которых VH-CH1 получен в слитом с HSA виде, который затем укладывается с его родственными VK-СК легкой цепи гуманизированного антитела человека с образованием Fab, и минимальные распознаю-

щие единицы, состоящие из аминокислотных остатков, которые имитируют гипервариабельную область.

Гуманизированное антитело представляет собой рекомбинантный белок, в котором CDR из антитела от животного одного вида, например из антитела грызуна, переносят из вариабельных областей тяжелой и легкой цепей антитела грызуна в вариабельные домены тяжелой и легкой цепей человека или вариабельные домены тяжелой и легкой цепей, которые мутировали таким образом, что они содержат по меньшей мере часть аминокислотной последовательности вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей человека (что отражено в "проценте гуманизации"). Константные домены молекулы антитела могут быть получены из константных доменов антитела человека.

Как применяют в настоящем документе, "процент гуманизации" вычисляют по количеству аминокислот в каркасной области, различающихся (т.е. различия не в CDR) между гуманизированным доменом и доменом зародышевой линии, которое вычитают из общего количества аминокислот и затем делят разность на общее количество аминокислот, умноженное на 100.

Как применяют в настоящем документе, "CDR" обозначает "гипервариабельный участок", который присутствует в вариабельном домене тяжелой цепи (VH) антитела или в вариабельном домене легкой цепи антитела (VL или VK). Каждый вариабельный домен содержит по три CDR, среди них CDR, которые присутствуют в вариабельном домене тяжелой цепи, обозначаются как CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, и CDR, которые присутствуют в вариабельном домене легкой цепи, обозначаются как CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3. В настоящем документе используется система нумерации по Кабату. По существу, CDR-H1 начинается приблизительно с 31-й аминокислоты (т.е. приблизительно через 9 остатков после первого остатка цистеина), содержит приблизительно 5-7 аминокислот и заканчивается на следующем остатке триптофана. CDR-H2 начинается с пятнадцатого остатка после конца CDR-H1, содержит приблизительно 16-19 аминокислот и заканчивается на следующем остатке аргинина или лизина. CDR-H3 начинается приблизительно с тридцать третьего аминокислотного остатка после конца CDR-H2; содержит 3-25 аминокислот и заканчивается на последовательности W-G-X-G, где X обозначает любую аминокислоту. CDR-L1 начинается приблизительно с 24 остатка (т.е. после остатка цистеина); содержит приблизительно 10-17 остатков и заканчивается на следующем остатке триптофана. CDR-L2 начинается приблизительно с шестнадцатого остатка после конца CDR-L1 и содержит приблизительно 7 остатков. CDR-L3 начинается приблизительно с тридцать третьего остатка после конца CDR-L2 (т.е. после остатка цистеина); содержит приблизительно 7-11 остатков и заканчивается на последовательности F или W-G-X-G, где X обозначает любую аминокислоту.

Конъюгирование с терапевтическим или диагностическим средством.

Антигенсвязывающие полипептиды, описываемые в настоящем документе, можно конъюгировать или слить с терапевтическим средством, которое может включать радиоактивные метки, иммуномодуляторы, гормоны, фотоактивные терапевтические средства, цитотоксические средства, которые могут представлять собой лекарственные средства или токсины, и их сочетания. Лекарственные средства могут включать любые лекарственные средства, которые обладают фармакологическими свойствами, выбранными из группы, состоящей из антимиотических, антикиназных, алкилирующих, антиметаболических средств, антибиотиков, алкалоидов, антиангиогенных, апоптотических средств и их сочетаний. Более конкретно, эти лекарственные средства выбраны из группы, состоящей из азотистых ипритов, производных этиленмина, алкилсульфонатов, нитрозомочевин, триазенов, аналогов фолиевой кислоты, ингибиторов ЦОГ-2, аналогов пиримидина, аналогов пурина, антибиотиков, ферментов, эпиподофиллотоксинов, координационных комплексов платины, алкалоидов барвинка, замещенных мочевины, производных метилгидразина, супрессоров коры надпочечников, антагонистов, эндостатина, таксолов, камптотецинов, антрациклинов, таксанов и их аналогов, и их сочетаний. Токсины, включенные в настоящее изобретение, могут быть выбраны из группы, состоящей из рицина, арбина, α -токсина, сапорина, рибонуклеазы (РНказы), например онконазы, ДНКазы I, стафилококкового энтеротоксина-A, антивирусного белка лаконоса, гелонина, дифтерийного токсина, экзотоксина *Pseudomonas* и эндотоксина *Pseudomonas*.

Иммуномодуляторы могут быть выбраны из группы, состоящей из цитокинов, факторов роста стволовых клеток, лимфотоксина, гемопоэтического фактора, колониестимулирующих факторов (CSF), интерферонов (IFN), эритропоэтина, тромбопоэтина и их сочетаний. Особенно эффективны такие лимфотоксины, как фактор некроза опухоли (TNF), гемопоэтические факторы, такие как интерлейкины (IL), колониестимулирующие факторы, такие как гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (G-CSF) или гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF), интерфероны, такие как интерфероны- α , - β или - γ , и факторы роста стволовых клеток, например фактор, обозначаемый как "фактор S1". Более конкретно, иммуномодуляторы могут включать IL-1, IL-2, IL-3, IL-6, IL-10, IL-12, IL-18, IL-21, интерферон- γ , TNF- α или их сочетания.

Антигенсвязывающие полипептиды, описываемые в настоящем документе, могут быть конъюгированы или слиты с диагностическим средством. Диагностические средства могут включать фотоактивные диагностические средства или радиоактивные метки, которые обладают энергией между 60 и 4000 кэВ, или нерадиоактивные метки. Радиоактивные метки предпочтительно представляют собой γ -, β - и позитрон испускающие изотопы, выбранные из группы, состоящей из ^{125}I , ^{131}I , ^{123}I , ^{124}I , ^{86}Y , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{62}Cu ,

^{64}Cu , ^{111}In , ^{67}Ga , ^{68}Ga , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, $^{94\text{m}}\text{Tc}$, ^{18}F , ^{11}C , ^{13}N , ^{15}O , ^{76}Br и их сочетаний. Диагностические средства могут включать контрастные средства, например, такие как марганец, железо или гадолиний.

Типичные способы получения антител против TL1A с использованием гибридной технологии.

Мышей BALB/c можно иммунизировать рекомбинантным белком TL1A (внеклеточный домен). В типичной процедуре 10 мг белка в 50 мл полного адьюванта Фрейнда (Sigma) вводят подкожно. Через 2-недельные интервалы можно вводить от двух до четырех дополнительных инъекций в неполном адьюванте Фрейнда, за которыми следует конечная иммунизация антигеном в PBS. Альтернативно, инъекции можно вводить в подушечку стопы. Через три дня мышей забивают, удаляют селезенки или подколенные лимфатические узлы, а лимфоциты можно выделять для слияния. Лимфоциты можно сливать с клетками плазмцитомы P3X63Ag8.653 в соотношении 5:1 с использованием PEG/DMSO (Sigma) в качестве средства для слияния. После слияния клетки можно ресуспендировать в селективной среде HAT и высевать по 10^6 клеток на лунку в 96-луночные планшеты. Используя супернатанты от гибридом, которые выжили при отборе в HAT, можно проводить скрининг в прямом ELISA на присутствие антител, связывающихся с TL1A. Можно идентифицировать гибридомы, которые секретируют антитела, связывающиеся с TL1A, и можно проводить дополнительный скрининг из супернатантов на антитела, ингибирующие связывание TL1A с его рецептором DR3, посредством ингибирования связывания в ELISA. Затем гибридомы, для которых подтверждено ингибирование связывания TL1A, можно использовать в скрининге на ингибирование активности каспаз, индуцированных с использованием TL1A, в клетках TF-1, чтобы идентифицировать клоны, продуцирующие антагонисты TL1A.

Типичная стратегия гуманизации антитела.

Одной из задач гуманизации антител против TL1A является получение доменов VH и VK, которые гуманизированы на 70-100% и сохраняют исходную аффинность и специфичность связывания на 90-100%. Сайт-специфический мутагенез отдельных положений с высоким риском в VH и VK можно использовать для дальнейшей гуманизации антител при сохранении аффинности и специфичности связывания.

Гуманизацию можно осуществлять посредством переноса CDR и структурного анализа и воссоздания поверхности варибельной области (см. Jones et al., NATURE (1986) May 29-Jun. 4; 321(6069):522-5; Roguska et al., PROTEIN ENGINEERING, 1996, 9(10):895-904 и Studnicka et al., Humanizing Mouse Antibody Frameworks While Preserving 3-D Structure. PROTEIN ENGINEERING, 1994, vol. 7, с. 805). Данные об исходной последовательности антитела и трехмерной структуре можно использовать для того, чтобы идентифицировать ключевые каркасные остатки, которые необходимы для сохранения аффинности и специфичности связывания. Веб-сайт "Blast for Ig sequences", поддерживаемый NCBI, можно использовать для того, чтобы идентифицировать ближайшие совпадения с областями VH и VK мыши, использованными в исследовании. Гены VH и VK зародышевой линии человека можно выбрать в качестве генов, лучше всего совпадающих с последовательностями VH и VK мыши. Альтернативно, последовательности из естественно экспрессируемого репертуара антител человека можно использовать в качестве шаблона для гуманизации в отдельности или в сочетании с ближайшим совпадающим геном зародышевой линии человека.

После выравнивания VH и VK антитела мыши против TL1A с ближайшими генами зародышевой линии человека или с генами из экспрессируемого репертуара можно оценить вероятное влияние каждого аминокислотного положения на связывание и иммуногенность. Эту информацию можно использовать для того, чтобы определить низкую, умеренную или высокую степень риска для мутации в каждом положении. В одном из вариантов осуществления мутациям подвергаются только положения с низким или умеренным риском и при этом избегают положений с высоким риском. При необходимости, можно использовать способ созревания аффинности посредством встраивания тирозинов попарно в каждое положение в CDR VH, VK или обоих.

Типичное клонирование и секвенирование доменов VH и VK антитела мыши против TL1A из гибридных клеточных линий.

Гибридные клетки можно осадить, промыть три раза в PBS и выделить РНК с помощью тризола (Invitrogen, номер по каталогу 15596-026), придерживаясь протокола производителя. Из общей РНК можно получить кДНК с использованием набора 5' RACE (Rapid Amplification of cDNA Ends, Invitrogen, номер по каталогу 18374-058), придерживаясь протокола производителя. В кратком изложении РНК можно лигировать со случайным гексамерным праймером, Random N6, а одноцепочечную кДНК можно получить с использованием отрицательной РНК-зависимой ДНК-полимеразы Superscript II RNAase H. кДНК можно очистить с помощью картриджа для центрифугирования GlassMax, который предоставлен с набором, и провести реакцию с TdT (терминальная дезоксирибонуклеотидилтрансфераза) в присутствии dCTP, чтобы присоединить к 5'-концу кДНК пару оснований C. кДНК с dC на хвосте можно амплифицировать в ПЦР с использованием якорного праймера со специфичностью к dC-хвосту и праймеров со специфичностью к генам, которые гибридизуются с высококонсервативными последовательностями ДНК в константном домене 1 тяжелой цепи мыши (CH1) для получения VH и в константном домене κ (CK) для получения VK. Полученный продукт ПЦР можно анализировать электрофорезом в геле, чтобы подтвердить соответствие размеров продуктов размерам интактных доменов VH или VK, затем очистить и лиги-

ровать в вектор ТОРО ТА (Invitrogen, номер по каталогу K4575-01), придерживаясь протокола производителя. После трансформации в бактерии ДНК можно получить из клонов, содержащих вставку правильного размера, а последовательность ДНК можно определить с использованием реакционной смеси для секвенирования Big Dye Terminator (Applied Biosystems, номер по каталогу 4336699) и ДНК-анализатора 3700 ABI/Prism, придерживаясь протокола производителя.

Типичная гуманизация антител мыши против TL1A.

Антитела мыши против TL1A можно идентифицировать на основе данных о связывании и данных о последовательности, полученных, как описано выше. Аминокислотную последовательность доменов VH и VK этих антител можно выровнять с доменами VH и VK зародышевой линии человека с использованием доступных на сегодняшний день публичных баз данных (т.е. "Blast for IgG" в NCBI и "V-base" в MRC). В тех положениях, в которых каркас последовательности мыши отличается от зародышевой линии человека, можно использовать итеративный процесс для того, чтобы превратить или мутировать каркас мыши так, чтобы он совпадал с соответствующим каркасом зародышевой линии человека. Кроме того, или альтернативно, определенные аминокислотные остатки в CDR VH и VK можно мутировать посредством замены на тирозин (т.е. сделать аффинно зрелыми), чтобы с некоторой вероятностью компенсировать любое снижение аффинности, вызванное изменениями каркасных остатков. Аффинно-зрелые и гуманизированные домены VH и VK мыши можно создать с помощью полимеразной цепной реакции с использованием набора перекрывающихся синтетических олигонуклеотидных ДНК. В качестве части процесса конструирования синтетического гена можно использовать способ оптимизации кодонов, другими словами, во все аминокислотные позиции можно встроить кодоны, которые предпочтительно используются клетками млекопитающих для экспрессии генов. Синтетические домены VH и VK можно клонировать в специализированные векторы для экспрессии в млекопитающих, которые делают возможной экспрессию соответствующих доменов в случае полностью гуманизированного остова антитела IgG1, G4 или κ. Мелкомасштабное получение гуманизированных антител можно осуществить посредством котрансфекции клеток 293F конструкцией IgG1 или IgG4 совместно с κ-конструкцией с использованием Lipofectamine (Invitrogen), придерживаясь протокола производителя. Супернатанты от временно трансфицированных клеток можно пропустить через смолу с белком А или с белком G, и IgG можно очистить до гомогенности для тестирования в клеточных тестах.

Следующие примеры приведены для того, чтобы проиллюстрировать настоящее изобретение. Однако следует понимать, что изобретение не ограничивается конкретными условиями или деталями, описанными в этих примерах. Все опубликованные и/или общедоступные документы, описываемые в настоящем документе, в полном объеме включены по ссылке.

Пример 1.

Ранее продемонстрировано получение аминокислотных последовательностей доменов VH и VK моноклональных антител мыши и хомяка против TL1A, как описано в настоящем документе. Области CDR переменных доменов подчеркнуты.

12D08 VK:

DVLMTQTPLS LPVSLGDQAS ISCRSSQSIV HSNQNTYLDW YLQKPGQSPN
 LLIYKVSNRF SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGV YYCFQGSHPV
 LTFGAGTKLE LKR

16H02 VK:

DVLMTQTPLS LPVSLGDQAS ISCKSSQNIH HSDGNTYLEW YLQKPGQSPK
 LLIYKVSNRF SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGV YYCFQGSHPV
 LTFGSGTKLE IKR

15E09 VK:

ETTVTQSPAS LSMAIGKVT IRCITSTDID DDMNWWQKP GEPPKLLISE
 GNTLRPGVPS RFSSSGYGTD FVFTIENMLS EDVADYYCLQ SDNLPLTFGA GTKLELKR

19E06 VK:

DIVMTQSPSS LAVSTGGTVT LTCLSSQSLF SSDTNKNYLN WYLQKPGQSP
 KLLVYHASTR LTGVPDRFIG SSGTDFTLT INSVQAEGLG DYQCQGHFRP
 PFTFGRGKLE EIKR

IB4 VK AA

QIVLTQSPAIMSASLGAEITLTCSASSSVNYMHWWQQRSGTSPKLLIYSTNLASGVP
 SRFGSGSGTFTYSLTISSEVAEDAADYYCHQWNNYGTFGGGTKLEIKR

25B9 VK AA

ENVLTQSPAILAASLGQKVTMTCSASSSVSSGYLHWYQKSGASPKPLIHRTSNLASG
 VPPRFSGSGSTSYSLSSISSEVAEDDATYYCQWWSGFFFTFGSGTKLEIKR

27A8 VK AA

DIVLTQSPASLTVSLGQRATISCRASQNVSTSSYSHMHWSQKPGQPPKLLIKYASNL
 DSGVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEDATYYCHSWELPYTFGGGKLEIKR

11D8 VK AA

DIVMTQSPASLTVSLGQRATISCRASQSVSTSSYSHMHWWQKPGQPPKLLIRYASNL
 ESGVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEDTAIYYCHSWELPYTFGGGKLEIKR

38D6 VK AA

DIVLTQFPASLPVSLGQRATISCRASQSVSTSSYSHMHWWQKPGQPPKLLITYASNL
 DSGVPARISGSGSGTDFTLNIHPVEEDTATYYCHHSWELPYTFGGGKLEIKR

12D08 VH:

QIQLVQSGPE LKKPGETVKI SCKASGYTFT NYGMNWKQA PGKGLKWMGW
 INTYTGEPTY ADDFKGRFAF SLETSASTAY LQINNKNED MATYFCAKDY

GKYGDYYAMD YWQGTSTVTV SS

16H02 VH:

QIQLVQSGPE LKKPGETVKI SCKASGYTFT LYGMNWKQA PGKGLKWMGW
 INTYTGEPTY ADDFKGRFAF SLETSASTAY LQINTLKNEO MATYFCARDT
 AMDYAMAYWG QGTSTVTVSS

15E09 VH:

EVKLVDSGGG LVQPGDSLRL SCATSGFTFS DFYMEWVRQP PGKRLEWIAA
 SGNKANDYTT EYSASVKGRF IVSRDTSQSI LYLQMNDLRA EDTAIYYCVR
 DAGYGYWYFD VWGAGTTVTV SS

19E06 VH:

QIQLQESGPS LVKPSQSLSL TCSVTGYSIT SDSYWNWIRQ FPGKNLVWVG
 YISYRGSTNY NPSLKSRSI TRDTSRNQFF LQLNSVTTED TATYYCARYS
 GYSFWYFDW GQGTQVTVSS

1B4 VH

a.

QVTLKESGPGILQPSQTLSTCSFSGFSLTTSNMGVVWIRQPSGKGLEWLLHILWDDREYSNP
ALKSRLTISKDPFNNQVFLKIANVDTADTATYYCARMSRNYGSSYVMDYWGQGTSTVTVSS

25B9 VH

EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYVMHWKQKTGQGLEWIGYINSNNDGT
KYNEKFKGKATLTSDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCATGDYGGTSYWYFDVWGAGTTVTV
 SS

11D8 VH

EVQLQQSGPELEKPGASVKISCKASGYSFTGYNMNWKQSNNGKSLEWIGNIDPYFGDT
NYNQNFKGRATLTVDKSSNTAYMQLMSLTSEDSAVYYCAREGAARAKNYFDYWGQGTTLTVSS

27A8 VH

EVQLQQSGPELETPGASVKISCKASGYSFTGYNMNWKQTNGKSLEWIGNIDPYFGDA
NYNRKFKGKATLTVDKSSSTAYMQLRSLTSEDSAVYYCAKEGAARAKNYFDYWGQGTTLTVSS

38D6 VH AA

EVQLQQSGPELEKPGASVKISCKASGYSFTGYNMNWRQTNGKSLEWIGHIDPYFGDA
TYRQKFKGKATLTVDKSSNTAYMQLKSLTSEDSAVYFCAREGAARARNYFDYWGQGTTLTVSS

Пример 2.

В этом примере описан протокол теста для измерения ингибирования активности каспаз, индуцированных с использованием TL1A, в клетках TF-1.

Для определения нейтрализующей активности антител против TL1A определяли их влияние на активность каспаз, индуцированных с использованием TL1A, в клетках TF-1; см. фиг. 1. Клетки TF-1 высевали по 75000 клеток на лунку в черный 96-луночный планшет с прозрачным дном в среду RPMI, содержащую 1% эмбриональной телячьей сыворотки. Клетки обрабатывали 10 мкг/мл циклогексамидом и 100 нг/мл TL1A в присутствии или в отсутствие различных концентраций родительских антител мыши или хомяка против TL1A в течение 6 ч при 37°C. Активность каспаз измеряли с помощью Apo-One Homogeneous Caspase-3/7 Assay Kit (Promega). В каждую лунку с клетками добавляли равные объемы буфера Apo-One Homogeneous Caspase-3/7 Assay, содержащего субстрат каспаз Z-DEVD-Rhodamine. После инкубирования в течение ночи измеряли флуоресценцию во флуоресцентном ридере планшетов Wallac Victor2 с фильтром для возбуждающего света 485 нм и фильтром для испускаемого света 535 нм.

Результаты, приведенные на фиг. 1, показывают, что уровень флуоресценции, который коррелирует с активностью каспаз, снижается при увеличении концентрации четырех (4) различных антител против TL1A: AT № 1 - 19E06, AT № 3 - 15E09, AT № 4 - 16H02 и AT № 8 - 12D08.

Специалистам в данной области будет ясно, что различные модификации и изменения можно выполнять в способах и композициях по настоящему изобретению без отклонения от сущности или объема изобретения. Таким образом, подразумевается, что настоящее изобретение покрывает модификации и изменения по данному изобретению, предусмотренные объемом прилагаемыми пунктами формулы изобретения и их эквивалентами.

Список последовательностей

<110> SMITH, RODGER
 KANAKARAJ, PALANISAMY
 ROSCHKE, VIKTOR
 ROSEN, CRAIG
 COOKSEY, BRIDGET A.

<120> ГУМАНИЗИРОВАННЫЕ АНТИТЕЛА ПРОТИВ TL1A

<130> 075977-0208

<140> 12/270,673
 <141> 2008-11-13

<150> 60/987,651
 <151> 2007-11-13

<160> 79

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
 <211> 5
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> Leu, Ser или Asn

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 <223> Gly или Ala

<400> 1
 Xaa Tyr Xaa Met Asn
 1 5

<210> 2
 <211> 17
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (5)..(5)
 <223> Tyr или Asn

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (8)..(8)
 <223> Glu или Asn

```

<220>
<221> MOD_RES
<222> {13}..(13)
<223> Asp или Gln

<220>
<221> MOD_RES
<222> {14}..(14)
<223> Asp или Gly

<220>
<221> MOD_RES
<222> {16}..(16)
<223> Lys или Thr

<400> 2
Trp Ile Asn Thr Xaa Thr Gly Xaa Pro Thr Tyr Ala Xaa Xaa Phe Xaa
1           5           10           15

Gly

<210> 3
<211> 13
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<220>
<221> MOD_RES
<222> {2}..(2)
<223> Thr или Tyr

<220>
<221> MOD_RES
<222> {3}..(3)
<223> Ala или Gly

<220>
<221> MOD_RES
<222> {4}..(4)
<223> Met или Lys

<220>
<221> MOD_RES
<222> {5}..(5)
<223> Asp или Tyr

<220>
<221> MOD_RES
<222> {6}..(6)
<223> Tyr или Gly

<220>
<221> MOD_RES
<222> {7}..(7)
<223> Ala или Asp

<220>
<221> MOD_RES
<222> {8}..(8)
<223> Met или Tyr

```

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (9)..(9)
 <223> Ala или Tyr

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (10)..(10)
 <223> Tyr или Ala

<400> 3
 Asp Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Met Asp Tyr
 1 5 10

<210> 4
 <211> 16
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> Lys или Arg

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (5)..(5)
 <223> Asn или Ser

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> Ile или Leu

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (8)..(8)
 <223> His или Tyr

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (10)..(10)
 <223> Asp или Asn

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (16)..(16)
 <223> Glu, Asn или Asp

<400> 4
 Xaa Ser Ser Gln Xaa Xaa Val Xaa Ser Xaa Gly Asn Thr Tyr Leu Xaa
 1 5 10 15

<210> 5
 <211> 7
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> Phe или Asp

<400> 5
 Lys Val Ser Asn Arg Xaa Ser
 1 5

<210> 6
 <211> 9
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> Phe или Met

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (4)..(4)
 <223> Ser или Thr

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(9)
 <223> May или may not be present

<400> 6
 Xaa Gln Gly Xaa His Val Pro Leu Thr
 1 5

<210> 7
 <211> 7
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 7
 Thr Ser Asn Met Gly Val Val
 1 5

<210> 8
 <211> 16
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 8
 His Ile Leu Trp Asp Asp Arg Glu Tyr Ser Asn Pro Ala Leu Lys Ser
 1 5 10 15

<210> 9
 <211> 14
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 9
 Met Ser Arg Asn Tyr Tyr Gly Ser Ser Tyr Val Met Asp Tyr
 1 5 10

<210> 10
 <211> 124
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

<400> 10
 Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
 20 25 30

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

Trp Leu Ala His Ile Leu Trp Asp Asp Arg Glu Tyr Ser Asn Pro Ala
 50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95

Cys Ala Arg Met Ser Arg Asn Tyr Tyr Gly Ser Ser Tyr Val Met Asp
 100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 11

<211> 5
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

 <400> 11
 Leu Tyr Gly Met Asn
 1 5

 <210> 12
 <211> 5
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

 <400> 12
 Asn Tyr Gly Met Asn
 1 5

 <210> 13
 <211> 17
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

 <400> 13
 Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe Lys
 1 5 10 15
 Gly

 <210> 14
 <211> 10
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

 <400> 14
 Asp Thr Ala Met Asp Tyr Ala Met Ala Tyr
 1 5 10

 <210> 15
 <211> 13
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

 <220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 15

Asp Tyr Gly Lys Tyr Gly Asp Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 16

<211> 16

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 16

Lys Ser Ser Gln Asn Ile Val His Ser Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Glu
1 5 10 15

<210> 17

<211> 16

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 17

Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Asp
1 5 10 15

<210> 18

<211> 7

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 18

Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
1 5

<210> 19

<211> 9

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 19

Phe Gln Gly Ser His Val Pro Leu Thr
1 5

<210> 20
<211> 122
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> Val или Ile

<220>
<221> MOD_RES
<222> (9)..(9)
<223> Ser или Pro

<220>
<221> MOD_RES
<222> (16)..(16)
<223> Ala или Glu

<220>
<221> MOD_RES
<222> (17)..(17)
<223> Ser или Thr

<220>
<221> MOD_RES
<222> (20)..(20)
<223> Val или Ile

<220>
<221> MOD_RES
<222> (31)..(31)
<223> Leu, Ser или Asn

<220>
<221> MOD_RES
<222> (33)..(33)
<223> Gly или Ala

<220>
<221> MOD_RES
<222> (38)..(38)
<223> Arg или Lys

<220>
<221> MOD_RES
<222> (43)..(43)
<223> Gln или Lys

<220>
<221> MOD_RES
<222> (46)..(46)
<223> Glu или Lys

<220>
<221> MOD_RES
<222> (54)..(54)
<223> Tyr или Asn

<220>
<221> MOD_RES
<222> (57)..(57)
<223> Glu или Asn

<220>
<221> MOD_RES
<222> (62)..(62)
<223> Asp или Gln

<220>
<221> MOD_RES
<222> (63)..(63)
<223> Asp или Gly

<220>
<221> MOD_RES
<222> (65)..(65)
<223> Lys или Thr

<220>
<221> MOD_RES
<222> (69)..(69)
<223> Val или Ala

<220>
<221> MOD_RES
<222> (73)..(73)
<223> Asp или Glu

<220>
<221> MOD_RES
<222> (76)..(76)
<223> Val или Ala

<220>
<221> MOD_RES
<222> (84)..(84)
<223> Ser или Asn

<220>
<221> MOD_RES
<222> (85)..(85)
<223> Ser или Thr

<220>
<221> MOD_RES
<222> (88)..(88)
<223> Ala или Asn

<220>
<221> MOD_RES
<222> (91)..(91)
<223> Thr или Met

<220>
<221> MOD_RES
<222> (93)..(93)
<223> Val или Thr

<220>
<221> MOD_RES
<222> (95)..(95)
<223> Tyr или Phe

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (100)..(100)
 <223> Thr или Tyr

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (101)..(101)
 <223> Ala или Gly

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (102)..(102)
 <223> Met или Lys

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (103)..(103)
 <223> Asp или Tyr

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (104)..(104)
 <223> Tyr или Gly

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (105)..(105)
 <223> Ala или Asp

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (106)..(106)
 <223> Met или Tyr

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (107)..(107)
 <223> Ala или Tyr

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (108)..(108)
 <223> Tyr или Ala

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (117)..(117)
 <223> Leu или Ser

<400> 20
 Gln Xaa Gln Leu Val Gln Ser Gly Xaa Glu Leu Lys Lys Pro Gly Xaa
 1 5 10 15

Xaa Val Lys Xaa Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Xaa Tyr
 20 25 30

Xaa Met Asn Trp Val Xaa Gln Ala Pro Gly Xaa Gly Leu Xaa Trp Met
 35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Xaa Thr Gly Xaa Pro Thr Tyr Ala Xaa Xaa Phe
50 55 60

Xaa Gly Arg Phe Xaa Phe Ser Leu Xaa Thr Ser Xaa Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Ile Xaa Xaa Leu Lys Xaa Glu Asp Xaa Ala Xaa Tyr Xaa Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Met Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Xaa Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 21

<211> 119

<212> Блок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

<400> 21

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Leu Tyr
20 25 30

Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Thr Ala Met Asp Tyr Ala Met Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 22

<211> 119

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

<400> 22

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Leu Tyr
 20 25 30

Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met
 35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
 85 90 95

Ala Arg Asp Thr Ala Met Asp Tyr Ala Met Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 23

<211> 122

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

<400> 23

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
 20 25 30

Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Tyr Gly Lys Tyr Gly Asp Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 24

<211> 122

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

<400> 24

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Tyr Gly Lys Tyr Gly Asp Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 25

<211> 113

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

<220>
<221> MOD_RES
<222> (7)..(7)
<223> Thr или Ser

<220>
<221> MOD_RES
<222> (14)..(14)
<223> Thr или Ser

<220>
<221> MOD_RES
<222> (15)..(15)
<223> Pro или Leu

<220>
<221> MOD_RES
<222> (17)..(17)
<223> Glu, Asp или Gln

<220>
<221> MOD_RES
<222> (18)..(18)
<223> Pro или Gln

<220>
<221> MOD_RES
<222> (24)..(24)
<223> Lys или Arg

<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)..(28)
<223> Asn или Ser

<220>
<221> MOD_RES
<222> (29)..(29)
<223> Ile или Leu

<220>
<221> MOD_RES
<222> (31)..(31)
<223> His или Tyr

<220>
<221> MOD_RES
<222> (39)..(39)
<223> Glu или Asn

<220>
<221> MOD_RES
<222> (41)..(41)
<223> Tyr или Phe

<220>
<221> MOD_RES
<222> (42)..(42)
<223> Leu или Gln

```

<220>
<221> MOD_RES
<222> (44)..(44)
<223> Lys или Arg

<220>
<221> MOD_RES
<222> (50)..(50)
<223> Gln, Lys или Arg

<220>
<221> MOD_RES
<222> (51)..(51)
<223> Leu, Val или Arg

<220>
<221> MOD_RES
<222> (60)..(60)
<223> Phe или Asp

<220>
<221> MOD_RES
<222> (81)..(81)
<223> Ser или Asn

<220>
<221> MOD_RES
<222> (88)..(88)
<223> Leu или Val

<220>
<221> MOD_RES
<222> (92)..(92)
<223> Tyr или Phe

<220>
<221> MOD_RES
<222> (94)..(94)
<223> Phe или Met

<220>
<221> MOD_RES
<222> (97)..(97)
<223> Ser или Thr

<220>
<221> MOD_RES
<222> (99)..(102)
<223> May или may not be present

<220>
<221> MOD_RES
<222> (103)..(103)
<223> Phe или Trp

<220>
<221> MOD_RES
<222> (105)..(105)
<223> Gly, Ser или Gln

<220>
<221> MOD_RES
<222> (109)..(109)

```

<223> Val или Leu

<400> 25

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

Xaa Xaa Ala Ser Ile Ser Cys Xaa Ser Ser Gln Xaa Xaa Val Xaa Ser
 20 25 30

Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Xaa Trp Xaa Xaa Gln Xaa Pro Gly Gln Ser
 35 40 45

Pro Xaa Xaa Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Xaa Ser Gly Val Pro
 50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80

Xaa Arg Val Glu Ala Glu Asp Xaa Gly Val Tyr Xaa Cys Xaa Gln Gly
 85 90 95

Xaa His Val Pro Leu Thr Xaa Gly Xaa Gly Thr Lys Xaa Glu Ile Lys
 100 105 110

Arg

<210> 26

<211> 113

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

<400> 26

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Asn Ile Val His Ser
 20 25 30

Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
 50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
85 90 95

Ser His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

Arg

<210> 27

<211> 113

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

<400> 27

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Asn Ile Val His Ser
20 25 30

Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
85 90 95

Ser His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

Arg

<210> 28

<211> 113

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

<400> 28
 Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly
 1 5 10 15
 Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Asn Ile Val His Ser
 20 25 30
 Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
 85 90 95
 Ser His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

Arg

<210> 29
 <211> 5
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> Leu, Ser или Asn

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 <223> Gly или Ala

<400> 29
 Xaa Tyr Xaa Met Asn
 1 5

<210> 30
 <211> 122
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

020886

<400> 30
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Tyr Gly Lys Tyr Gly Asp Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 31
<211> 5
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 31
Asn Tyr Ala Met Ser
1 5

<210> 32
<211> 17
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 32
Thr Ile Tyr Ser Gly Gly Gly Tyr Thr Phe Tyr Leu Asp Ser Leu Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 33
 <211> 18
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 33
 His Ser Tyr Pro Met Thr Thr Val Ile Thr Tyr Ala Pro Tyr Tyr Phe
 1 5 10 15
 Tyr Tyr

<210> 34
 <211> 126
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

<400> 34
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
 20 25 30
 Ala Met Ser Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met
 35 40 45
 Gly Thr Ile Tyr Ser Gly Gly Gly Tyr Thr Phe Tyr Leu Asp Ser Leu
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Ala
 85 90 95
 Arg His Ser Tyr Pro Met Thr Thr Val Ile Thr Tyr Ala Pro Tyr Tyr
 100 105 110
 Phe Tyr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 35
 <211> 10
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 35
 Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met His
 1 5 10

<210> 36
 <211> 7
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 36
 Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser
 1 5

<210> 37
 <211> 8
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 37
 His Gln Trp Asn Asn Tyr Gly Thr
 1 5

<210> 38
 <211> 106
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

<400> 38
 Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
 20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45

Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60

020886

Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu
65 70 75 80

Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln Trp Asn Asn Tyr Gly Thr Phe
85 90 95

Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 39

<211> 113

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

<400> 39

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Asn Ile Val His Ser
20 25 30

Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
85 90 95

Ser His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

Arg

<210> 40

<211> 113

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

<400> 40

020886

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

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Asn Ile Val His Ser
20 25 30

Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Lys Val Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Asn Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Phe Cys Phe Gln Gly
85 90 95

Ser His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

Arg

<210> 41

<211> 113

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

<400> 41

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Asp Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
85 90 95

020886

Ser His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

Arg

<210> 42
<211> 113
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

<400> 42
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly
1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Asp Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
85 90 95

Ser His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

Arg

<210> 43
<211> 113
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

<400> 43
Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

020886

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
85 90 95

Ser His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

Arg

<210> 44

<211> 113

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

<400> 44

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

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Lys Val Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Asn Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Phe Gln Gly
85 90 95

020886

Ser His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

Arg

<210> 45

<211> 113

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

<400> 45

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

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Asn Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
85 90 95

Ser His Val Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105 110

Arg

<210> 46

<211> 113

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

<400> 46

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

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Asn Ile Val His Ser

020886

[illegible]

Arg

```
<210> 47
<211> 108
<212> Блок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид
```

```

<400> 47
Glu Thr Thr Val Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Met Ala Ile Gly
1          5          10          15

Glu Lys Val Thr Ile Arg Cys Ile Thr Ser Thr Asp Ile Asp Asp Asp
20          25          30

Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Glu Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35          40          45

Ser Glu Gly Asn Thr Leu Arg Pro Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Ser
50          55          60

Ser Gly Tyr Gly Thr Asp Phe Val Phe Thr Ile Glu Asn Met Leu Ser
65          70          75          80

Glu Asp Val Ala Asp Tyr Tyr Cys Leu Gln Ser Asp Asn Leu Pro Leu
85          90          95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg
100          105

```

<210> 48
 <211> 114
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

<400> 48
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Thr Gly
 1 5 10 15
 Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Leu Ser Ser Gln Ser Leu Phe Ser Ser
 20 25 30
 Asp Thr Asn Lys Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45
 Ser Pro Lys Leu Leu Val Tyr His Ala Ser Thr Arg Leu Thr Gly Val
 50 55 60
 Pro Asp Arg Phe Ile Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80
 Ile Asn Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Gly Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln
 85 90 95
 His Phe Arg Pro Pro Phe Thr Phe Gly Arg Gly Thr Lys Leu Glu Ile
 100 105 110
 Lys Arg

<210> 49
 <211> 106
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

<400> 49
 Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 Ala Glu Ile Thr Leu Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Arg Ser Gly Thr Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45

Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Phe Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Val Glu Ala Glu
65 70 75 80

Asp Ala Ala Asp Tyr Tyr Cys His Gln Trp Asn Asn Tyr Gly Thr Phe
85 90 95

Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 50

<211> 109

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

<400> 50

Glu Asn Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Leu Ala Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15

Gln Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Gly
20 25 30

Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Ala Ser Pro Lys Pro Leu
35 40 45

Ile His Arg Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Pro Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Ser Ile Ser Ser Val Glu
65 70 75 80

Ala Glu Asp Asp Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Gly Phe Pro
85 90 95

Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 51

<211> 112

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

<400> 51

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

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asn Val Ser Thr Ser
 20 25 30

Ser Tyr Ser His Met His Trp Ser Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
 35 40 45

Lys Leu Leu Ile Lys Tyr Ala Ser Asn Leu Asp Ser Gly Val Pro Ala
 50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His
 65 70 75 80

Pro Val Glu Glu Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ser Trp
 85 90 95

Glu Ile Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
 100 105 110

<210> 52

<211> 112

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

<400> 52

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

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Thr Ser
 20 25 30

Ser Tyr Ser His Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
 35 40 45

Lys Leu Leu Ile Arg Tyr Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala
 50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His
 65 70 75 80

Pro Val Glu Glu Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Gln His Ser Trp
 85 90 95

Glu Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg

100

105

110

<210> 53
 <211> 112
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

<400> 53
 Asp Ile Val Leu Thr Gln Phe Pro Ala Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Thr Ser
 20 25 30
 Ser Tyr Ser His Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
 35 40 45
 Lys Leu Leu Ile Thr Tyr Ala Ser Asn Leu Asp Ser Gly Val Pro Ala
 50 55 60
 Arg Ile Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His
 65 70 75 80
 Pro Val Glu Glu Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys His His Ser Trp
 85 90 95
 Glu Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
 100 105 110

<210> 54
 <211> 122
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

<400> 54
 Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly Glu
 1 5 10 15
 Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
 20 25 30
 Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met
 35 40 45
 Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe

50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Ile Asn Asn Leu Lys Asn Glu Asp Met Ala Thr Tyr Phe Cys
 85 90 95
 Ala Lys Asp Tyr Gly Lys Tyr Gly Asp Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp
 100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
 115 120
 <210> 55
 <211> 119
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид
 <400> 55
 Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly Glu
 1 5 10 15
 Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Leu Tyr
 20 25 30
 Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met
 35 40 45
 Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Ile Asn Thr Leu Lys Asn Glu Asp Met Ala Thr Tyr Phe Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Thr Ala Met Asp Tyr Ala Met Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
 115
 <210> 56
 <211> 122
 <212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

<400> 56

Glu Val Lys Leu Val Asp Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Thr Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Phe
20 25 30

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

Ala Ala Ser Gly Asn Lys Ala Asn Asp Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Ala
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Ile Val Ser Arg Asp Thr Ser Gln Ser Ile
65 70 75 80

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

Tyr Cys Val Arg Asp Ala Gly Tyr Gly Tyr Trp Tyr Phe Asp Val Trp
100 105 110

Gly Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 57

<211> 120

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

<400> 57

Gln Ile Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Ser Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15

Ser Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Thr Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

Ser Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Phe Pro Gly Lys Asn Leu Val Trp
35 40 45

Met Gly Tyr Ile Ser Tyr Arg Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Ile Ser Ile Thr Arg Asp Thr Ser Arg Asn Gln Phe Phe
65 70 75 80

Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Tyr Ser Gly Tyr Ser Phe Trp Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 58

<211> 124

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

<400> 58

Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Ile Leu Gln Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Thr Thr Ser
20 25 30

Asn Met Gly Val Val Trp Ile Arg Gln Pro Ser Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Leu Leu His Ile Leu Trp Asp Asp Arg Glu Tyr Ser Asn Pro Ala
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Pro Phe Asn Asn Gln Val
65 70 75 80

Phe Leu Lys Ile Ala Asn Val Asp Thr Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Met Ser Arg Asn Tyr Tyr Gly Ser Ser Tyr Val Met Asp
100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 59

<211> 123

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

<400> 59

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

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30

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

Gly Tyr Ile Asn Ser Asn Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ser Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Thr Gly Asp Tyr Tyr Gly Gly Thr Ser Tyr Trp Tyr Phe Asp Val
 100 105 110

Trp Gly Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 60

<211> 121

<212> Велок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

<400> 60

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

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr
 20 25 30

Asn Met Asn Trp Val Lys Gln Ser Asn Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Asn Ile Asp Pro Tyr Phe Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Gln Asn Phe
 50 55 60

Lys Gly Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Gln Leu Met Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Glu Gly Ala Ala Arg Ala Lys Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 61
<211> 121
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

<400> 61
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Glu Thr Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr
20 25 30

Asn Met Asn Trp Val Lys Gln Thr Asn Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Asn Ile Asp Pro Tyr Phe Gly Asp Ala Asn Tyr Asn Arg Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Gln Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Glu Gly Ala Ala Arg Ala Lys Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 62
<211> 121
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

020886

<400> 62
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Glu Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr
20 25 30
Asn Met Asn Trp Val Arg Gln Thr Asn Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly His Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Asp Ala Thr Tyr Arg Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Gln Leu Lys Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95
Ala Arg Glu Gly Ala Ala Arg Ala Arg Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 63
<211> 4
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 63
Asp Glu Val Asp
1

<210> 64
<211> 17
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический пептид

<400> 64
Trp Ile Asn Thr Asn Thr Gly Asn Pro Thr Tyr Ala Gln Gly Phe Thr
1 5 10 15

Gln

<210> 65
<211> 113
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

<220>
<221> MOD_RES
<222> (7)..(7)
<223> Thr или Ser

<220>
<221> MOD_RES
<222> (14)..(14)
<223> Thr или Ser

<220>
<221> MOD_RES
<222> (15)..(15)
<223> Pro или Leu

<220>
<221> MOD_RES
<222> (17)..(17)
<223> Glu, Asp или Gln

<220>
<221> MOD_RES
<222> (18)..(18)
<223> Pro или Gln

<220>
<221> MOD_RES
<222> (24)..(24)
<223> Lys или Arg

<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)..(28)
<223> Asn или Ser

<220>
<221> MOD_RES
<222> (29)..(29)
<223> Ile или Leu

<220>
<221> MOD_RES
<222> (31)..(31)
<223> His или Tyr

<220>
<221> MOD_RES
<222> (33)..(33)
<223> Asp или Asn

<220>
<221> MOD_RES

```

<222> (39)..(39)
<223> Glu, Asn или Asp

<220>
<221> MOD_RES
<222> (41)..(41)
<223> Tyr или Phe

<220>
<221> MOD_RES
<222> (42)..(42)
<223> Leu или Gln

<220>
<221> MOD_RES
<222> (44)..(44)
<223> Lys или Arg

<220>
<221> MOD_RES
<222> (50)..(50)
<223> Gln, Lys или Arg

<220>
<221> MOD_RES
<222> (51)..(51)
<223> Leu, Val или Arg

<220>
<221> MOD_RES
<222> (60)..(60)
<223> Phe или Asp

<220>
<221> MOD_RES
<222> (81)..(81)
<223> Ser или Asn

<220>
<221> MOD_RES
<222> (88)..(88)
<223> Leu или Val

<220>
<221> MOD_RES
<222> (92)..(92)
<223> Tyr или Phe

<220>
<221> MOD_RES
<222> (94)..(94)
<223> Phe или Met

<220>
<221> MOD_RES
<222> (97)..(97)
<223> Ser или Thr

<220>
<221> MOD_RES
<222> (99)..(102)
<223> Может присутствовать или не присутствовать

<220>

```

<221> MOD_RES
 <222> (103)..(103)
 <223> Phe или Trp

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (105)..(105)
 <223> Gly, Ser или Gln

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (109)..(109)
 <223> Val или Leu

<400> 65
 Asp Val Val Met Thr Gln Xaa Pro Leu Ser Leu Pro Val Xaa Xaa Gly
 1 5 10 15

Xaa Xaa Ala Ser Ile Ser Cys Xaa Ser Ser Gln Xaa Xaa Val Xaa Ser
 20 25 30

Xaa Gly Asn Thr Tyr Leu Xaa Trp Xaa Xaa Gln Xaa Pro Gly Gln Ser
 35 40 45

Pro Xaa Xaa Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Xaa Ser Gly Val Pro
 50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80

Xaa Arg Val Glu Ala Glu Asp Xaa Gly Val Tyr Xaa Cys Xaa Gln Gly
 85 90 95

Xaa His Val Pro Leu Thr Xaa Gly Xaa Gly Thr Lys Xaa Glu Ile Lys
 100 105 110

Arg

<210> 66
 <211> 113
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

<400> 66
 Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Asn Ile Val His Ser
 20 25 30

020886

Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Lys Val Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
85 90 95

Ser His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

Arg

<210> 67

<211> 106

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

<400> 67

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
35 40 45

Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu
65 70 75 80

Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln Trp Asn Asn Tyr Gly Thr Phe
85 90 95

Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 68

<211> 119
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

<400> 68
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Leu Tyr
 20 25 30
 Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Thr Ala Met Asp Tyr Ala Met Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 69
 <211> 98
 <212> Белок
 <213> Homo sapiens

<400> 69
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Trp Ile Asn Thr Asn Thr Gly Asn Pro Thr Tyr Ala Gln Gly Phe
 50 55 60
 Thr Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg

<210> 70
 <211> 119
 <212> Белок
 <213> Mus musculus

<400> 70
 Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly Glu
 1 5 10 15

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Leu Tyr
 20 25 30

Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met
 35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Ile Asn Thr Leu Lys Asn Glu Asp Met Ala Thr Tyr Phe Cys
 85 90 95

Ala Arg Asp Thr Ala Met Asp Tyr Ala Met Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 71
 <211> 113
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

<400> 71
 Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Asn Ile Val His Ser

020886

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

Arg

<210> 72
 <211> 113
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

<400> 72
Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Asn Ile Val His Ser
20 25 30
Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45
Pro Lys Val Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80
Asn Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Phe Gln Gly
85 90 95
Ser His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

Arg

<210> 73
 <211> 109
 <212> Белок
 <213> Homo sapiens

<400> 73
 Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly
 1 5 10 15
 Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val Tyr Ser
 20 25 30
 Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Asn Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Asp Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gly
 85 90 95
 Thr His Trp Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
 100 105

<210> 74
 <211> 114
 <212> Белок
 <213> Mus musculus

<400> 74
 Asp Val Leu Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 Asp Gln Ala Ser Tyr Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Asn Ile Val His
 20 25 30
 Ser Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45
 Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val
 50 55 60
 Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys
 65 70 75 80

Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln
85 90 95

Gly Ser His Val Pro Leu Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105 110

Lys Arg

<210> 75

<211> 113

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

<400> 75

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Phe Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Leu Lys Val Ser Asn Arg Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
85 90 95

Ser His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

Arg

<210> 76

<211> 109

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<400> 76

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val Tyr Ser
20 25 30

Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Asn Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gly
85 90 95

Thr His Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 77

<211> 122

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид

<400> 77

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

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
20 25 30

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

Trp Leu Ala His Ile Leu Trp Asp Asp Arg Glu Tyr Ser Asn Pro Ala
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
65 70 75 80

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Met Ser Arg Asn Tyr Tyr Gly Ser Ser Tyr Val Met Asp
100 105 110

Tyr Trp Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

<210> 78
 <211> 95
 <212> Белок
 <213> Homo sapiens

<400> 78
 Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Leu Asn Ser Tyr Pro
 85 90 95

<210> 79
 <211> 99
 <212> Белок
 <213> Homo sapiens

<400> 79
 Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
 20 25 30
 Gly Met Arg Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45
 Trp Leu Ala Arg Ile Asp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Ser Thr Ser
 50 55 60
 Leu Lys Thr Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80
 Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Выделенный антигенсвязывающий полипептид, специфично связывающийся с TL1A, который содержит:

(a) вариабельную область тяжелой цепи гуманизированного антитела, которая содержит:

- (1) CDR-H1, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:7;
- (2) CDR-H2, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:8;
- (3) CDR-H3, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:9;

(b) вариабельную область легкой цепи гуманизированного антитела, которая содержит:

- (1) CDR-L1, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:35;
- (2) CDR-L2, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:36;
- (3) CDR-L3, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:37.

2. Полипептид по п.1, где вариабельная область тяжелой цепи гуманизированного антитела содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:10.

3. Полипептид по п.1, где вариабельная область легкой цепи гуманизированного антитела содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:38.

4. Антигенсвязывающий полипептид, специфично связывающийся с TL1A, который содержит вариабельную область тяжелой цепи гуманизированного антитела, раскрытую в п.2, и вариабельную область легкой цепи гуманизированного антитела, раскрытую в п.3.

5. Полипептид по любому из пп.1-4, где полипептид выбран из группы, состоящей из молекулы антитела, фрагмента Fab, фрагмента Fab', фрагмента F(ab')₂ и молекулы scFv.

6. Полипептид по п.5, где молекула представляет собой молекулу антитела.

7. Полипептид по п.6, который содержит:

(a) вариабельную область легкой цепи, имеющую последовательность SEQ ID NO:38;

(b) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую последовательность SEQ ID NO:10.

8. Полипептид по п.7, который представляет собой химерное антитело, которое содержит константную область тяжелой цепи человека и константную область легкой цепи человека.

9. Полипептид по п.8, где антитело представляет собой молекулу IgG (например, молекулу IgG1 или IgG4).

10. Полипептид по п.5, где полипептид представляет собой молекулу scFv.

11. Полипептид по п.10, где scFv имеет формулу NH₂-L-VH-X-VK-COOH или NH₂-L-VK-X-VH-COOH, где L представляет собой лидерную последовательность; VH представляет собой вариабельную область тяжелой цепи гуманизированного антитела; X представляет собой линкерный полипептид и VK представляет собой вариабельную область легкой цепи гуманизированного антитела.

12. Полипептид по п.5, представляющий собой фрагмент Fab, слитый с HSA.

13. Полипептид по п.12, где фрагмент Fab, слитый с HSA, содержит: (i) тяжелую цепь, представленную NH₂-VH-CH1-HSA-COOH или NH₂-HSA-CH1-VH-COOH, и (ii) легкую цепь, представленную NH₂-VK-CK-COOH, где:

(a) VH представляет собой вариабельную область тяжелой цепи гуманизированного антитела;

(b) CH1 представляет собой константный домен 1 тяжелой цепи человека;

(c) HSA представляет собой сывороточный альбумин человека;

(d) VK представляет собой вариабельную область легкой цепи гуманизированного антитела;

(e) CK представляет собой константный домен к-цепи человека.

14. Полипептид по любому из пп.1-13, конъюгированный с терапевтическим или диагностическим средством.

15. Полипептид по п.14, где терапевтическое средство выбрано из группы, состоящей из цитотоксического средства, радиоактивной метки, иммуномодулятора, гормона, фермента, олигонуклеотида, фотоактивного терапевтического средства или их сочетания.

16. Полипептид по п.14, где диагностическое средство выбрано из группы, состоящей из радиоактивной метки, фотоактивного диагностического средства, активируемого ультразвуком средства или нерадиоактивной метки.

17. Полипептид по любому из пп.1-16, где полипептид является антагонистом TL1A.

18. Полипептид по любому из пп.1-16, где полипептид не является агонистом TL1A.

19. Полипептид по любому из пп.1-18, где полипептид связывается с TL1A с константой связывания, составляющей по меньшей мере приблизительно 10⁶M⁻¹.

20. Полипептид по п.19, где полипептид связывается с TL1A с константой связывания по меньшей мере приблизительно 10⁷M⁻¹.

21. Полипептид по п.19, где полипептид связывается с TL1A с константой связывания по меньшей мере приблизительно 10⁸M⁻¹.

22. Полипептид по п.19, где полипептид связывается с TL1A с константой связывания по меньшей мере приблизительно 10⁹M⁻¹.

23. Фармацевтическая композиция для лечения или диагностирования воспалительного, иммунного или злокачественного заболеваний или состояний, содержащая любой из полипептидов по пп.1-22 в эффективном количестве и носитель.

24. Композиция по п.23, которая также содержит дополнительное терапевтическое средство, выбранное из группы, состоящей из цитотоксического средства, радиоактивной метки, иммуномодулятора, гормона, фермента, олигонуклеотида, фотоактивного терапевтического средства или их сочетаний, или диагностическое средство, выбранное из группы, состоящей из радиоактивной метки, фотоактивного диагностического средства, активируемого ультразвуком средства или нерадиоактивной метки.

25. Применение композиции по п.23 или 24 для изготовления лекарственного средства для лечения или диагностирования воспалительного заболевания или состояния.

26. Применение композиции по п.23 или 24 в изготовлении лекарственного средства для лечения или диагностирования иммунного заболевания или состояния.

27. Применение композиции по п.23 или 24 в изготовлении лекарственного средства для лечения или диагностирования злокачественного заболевания или состояния.

28. Применение по любому из пп.25-27, где заболевание или состояние выбрано из группы, состоя-

щей из аутоиммунного заболевания (например, обыкновенной волчанки), воспалительного заболевания кишечника (IBD), хронического обструктивного заболевания легких (COPD), артрита (например, ревматоидного артрита), рассеянного склероза, отторжения трансплантата, повреждения центральной нервной системы, Th1-опосредованных заболеваний кишечника, таких как болезнь Крона, псориаза, лейкемии или лимфомы (например, хронический лимфолейкоз (CLL)), атеросклероза, карциномы легких и карциномы толстой кишки.

29. Полинуклеотид, кодирующий любой из полипептидов по пп.1-22.

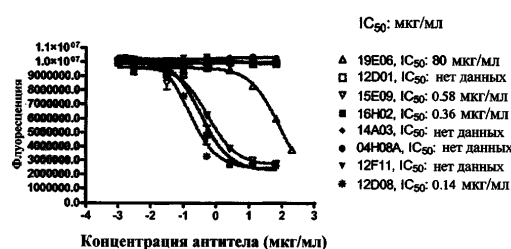
30. Рекombинантный полинуклеотид, который содержит промоторную последовательность, функционально связанную с любым полинуклеотидом по п.29.

31. Выделенная клетка, трансформированная полинуклеотидом по п.30.

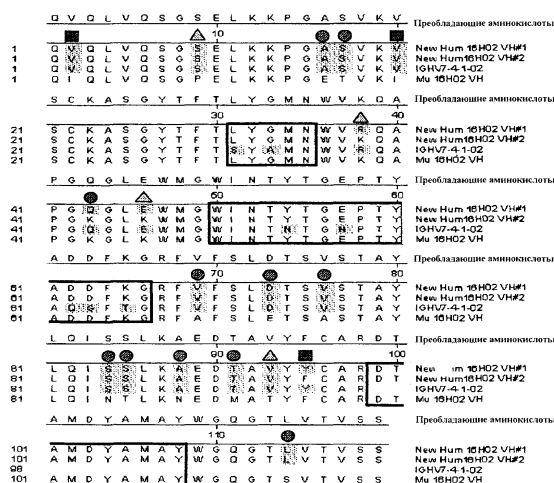
32. Способ получения полипептида, кодируемого рекombинантным полинуклеотидом по п.30, где способ включает:

а) культивирование клетки, трансформированной рекombинантным полинуклеотидом для того, чтобы экспрессировать кодируемый полипептид;

б) выделение экспрессированного таким образом полипептида.



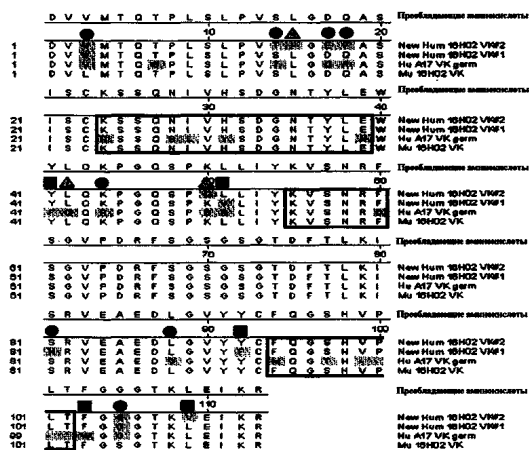
Фиг. 1



Фиг. 2

Конструкция	Количество мутаций	% гуманизации
Hum VH #1	18	100
Hum VH #2	13	95

Фиг. 3



Фиг. 4

Конструкция	Количество мутаций	% гуманизации
Hum VK #1	8	87
Hum VK #2	5	87

Фиг. 5

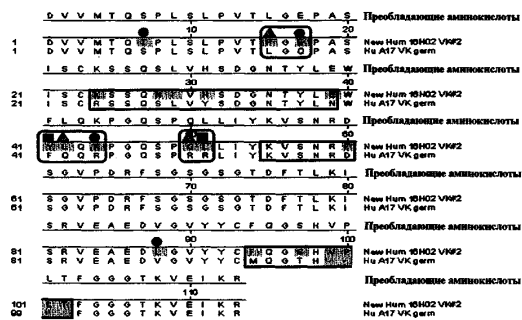
Название конструкции	№ партии/СДВ	Белок/концентрация
Антитело Ншн 16H02 VH №1+VK №1 против TL1A	LDC 3009	1,1 мг (0,4 мг/мл)
Антитело Ншн 16H02 VH №2+VK №1 против TL1A	LDC 3010	0,76 мг (0,4 мг/мл)
Антитело Ншн 16H02 VH №1+VK №2 против TL1A	LDC 3011	2,9 мг (1,0 мг/мл)
Антитело Ншн 16H02 VH №2+VK №2 против TL1A	LDC 3012	2,3 мг (0,8 мг/мл)

Фиг. 6

092707 Ингибирование активности каспаз, индуцированных с использованием TL1A, в клетках TF-1 гуманизированными антителами



Фиг. 7



Фиг. 8

16H02 VK	ID трансфекции	LDC #
WWW Ver#2	W1	3030
New WWW	W2	3031
WWM	M1	3032
MWM	M2	3033
WMW-1 (QL)	M3	3034
WMW-2 (RL)	M4	3035
MWW	M5	3036
MMW	M6	3037
MMM	M7	3038

Фиг. 9



Фиг. 10

																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																				</
--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----

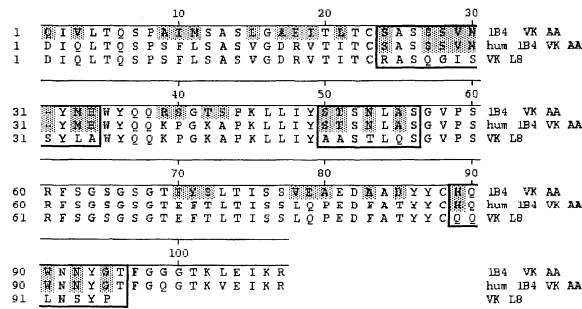
Фиг. 11

																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																				</
--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----

Фиг. 12

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

Фиг. 13



ФИГ. 14



ФИГ. 15