

Предпосылки создания изобретения

После многих лет изучения некроза опухолей в 1984 году были, наконец, клонированы факторы некроза опухолевых клеток (TNF) α и β . Последующие годы явились свидетелями появления суперсемейства цитокинов TNF, включая лиганд fas (FasL), лиганд CD27 (CD27L), лиганд CD30 (CD30L), лиганд CD40 (CD40L), вызывающий апоптоз лиганд, родственный TNF, (TRAIL, также обозначаемый AGP-1), остеопротегерин - связывающий белок (лиганд OPG-BP или OPG), лиганд 4-1BB, LIGHT, APRIL и TALL-1. Smith et al. (1994), Cell 76: 959-962; Lacey et al. (1998), Cell 93: 165-176; Chichepotiche et al. (1997), J. Biol. Chem. 272: 32401-32410; Mauri et al. (1998), Immunity 8: 21-30; Hahne et al. (1998), J. Exp. Med. 188: 1185-90; Shu et al. (1999), J. Leukocyte Biology 65: 680-3. Объединение в это семейство определяется структурой, в частности, на С-конце. Кроме того, многие известные на данный момент члены этого семейства экспрессируют в иммунных компартментах, хотя некоторые также экспрессируют в других тканях и органах. Smith et al. (1994), Cell 76: 959-62. Все лиганды, члены этого семейства, за исключением LT- α , относятся к типу II трансмембранных белков, характеризующихся консервативной областью из 150 аминокислот в С-концевом внеклеточном домене. Даже при ограничении до степени идентичности 20-25%, консервативная область из 150 аминокислот скручивается в характеристический β -складчатый сэндвич и тримеризуется. Эту консервативную область можно высвободить протеолитически, тем самым получить растворимую функциональную форму. Banner et al. (1993), Cell 73: 431-445.

Многие члены этого семейства лигандов экспрессируют в лимфоидных тканях и играют важную роль в развитии и модуляции иммунной системы. Smith et al. (1994). Например, TNF α синтезируется, главным образом, макрофагами и является важным медиатором воспалительных реакций и иммунной защиты. Tracey & Cerami (1994), Ann. Rev. Med. 45: 491-503. Fas-L, экспрессирующий преимущественно в активированной Т-клетке, модулирует апоптоз тимоцитов, опосредуемый TCR. Nagata, S. & Suda, T. (1995), Immunology Today 16: 39-43; Castrim et al. (1996), Immunity 5: 617-27. CD40L, также экспрессируемый активированными Т-клетками, даёт основной сигнал В-клеточному выживанию, пролиферации и переключению изотипа иммуноглобулинов. Noelle (1996), Immunity 4: 415-9.

Были идентифицированы родственные рецепторы для большинства членов семейства лигандов TNF. Эти рецепторы имеют общие характеристические множественные богатые цистeinом повторы внутри внеклеточных доменов и не содержат каталитических мотивов внутри цитоплазматических участков. Smith et al. (1994). Рецепторный сигнал вследствие непосредственного взаимодействия с белками "домена гибели" (например, TRADD, FADD и RIP) или с белками TRAF (например, TRAF2, TRAF3, TRAF5 и TRAF6), запускающими механизм дивергентных (расходящихся) и перекрывающихся путей передачи сигнала например, апоптоза, активации NF-кВ или активации JNK. Wallach et al. (1999), Annual Review of Immunology 17: 331-67. Эти события передачи сигнала приводят к гибели, пролиферации, активации или дифференциации клеток. Профиль экспрессии каждого члена семейства рецепторов меняется. Например, TNFR1 экспрессирует в широком спектре тканей и клеток, тогда как receptor клеточной поверхности OPG ограничивается, главным образом, остеокластами. Hsu et al. (1999) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96: 3540-5.

Недавно ряд исследовательских групп идентифицировали лиганды семейства TNF с той же самой или практически аналогичной последовательностью. Лиганд называют по-разному: нейтрокин α (Международная заявка WO 98/18921, опубликованная 7 мая 1998 г.), 63954 (Международная заявка WO 98/27114, опубликованная 25 июня 1998 г.), TL5 (Европейский патент EP 869180, опубликованный 7 октября 1998 г.), NTN-2 (Международные заявки WO 98/55620 и WO 98/55621, опубликованные 10 декабря 1998 г.), TNRL1- α (Международная заявка WO 99/11791, опубликованная 11 марта 1999 г.), лиганд kay (Международная заявка WO 99/12964, опубликованная 18 марта 1999 г.) и AgP-3 (Предварительные заявки США №№ 60/119906, поданная 12 февраля 1999 г., и 60/166271, поданная 18 ноября 1999 г., соответственно) и TALL-1 (Международная заявка WO 00/68378, опубликованная 16 ноября 2000 г.). Каждый из этих документов вводится в данное описание в качестве ссылки. Далее в данном описании эти лиганды описываются под общим названием TALL-1.

TALL-1 является членом суперсемейства лигандов TNF, которые функционально включены в выживание и пролиферацию В-клеток. У трансгенных мышей со сверхэкспрессией TALL-1 наблюдается тяжёлая В-клеточная гиперплазия и аутоиммунное заболевание, похожее на волчанку. Khare et al. (2000) PNAS 97(7):3370-3375. Как TACI, так и BCMA служат в качестве поверхностных клеточных рецепторов для TALL-1. Gross et al. (2000), Nature 404: 995-999; Ware (2000), J. Exp. Med. 192(11): F35-F37; Ware (2000), Nature 404: 949-950; Xia et al. (2000), J. Exp. Med. 192(1):137-143; Yu et al. (2000), Nature Immunology 1(3):252-256; Marsters et al. (2000), Current Biology 10:785-788; Hatzoglou et al. (2000), J. of Immunology 165:1322-1330; Shu et al. (2000) PNAS 97(16):9156-9161; Thompson et al. (2000), J. Exp. Med. 192(1):129-135. Mukhopadhyay et al. (1999), J. Biol. Chem. 274(23): 15978-81; Shu et al. (1999), J. Leukocyte Biol. 65:680-683; Grass et al. (1995) Blood 85(12): 3378-3404; Smith et al. (1994), Cell 76: 959-962; Патент США 5969102, выданный 19 октября 1999 г.; Международная заявка WO 00/67034, опубликованная 9 ноября 2000 г.; WO 00/40716, опубликованная 13 июля 2000 г.; WO 99/35170, опубликованная 15 июля 1999 г. Оба рецептора экспрессируют на В-клетках и передают сигнал путём взаимодействия с

белками TRAF. Кроме этого, как TACI, так и BCMA связываются также с другим членом семейства TNF-лигандов, APRIL. Yu et al. (2000), *Nature Immunology* 1(3):252-256. Было также показано, что APRIL индуцирует пролиферацию В-клеток.

До настоящего времени не описано никаких рекомбинантных или модифицированных белков, использующих пептидные модуляторы TALL-1. Рекомбинантные и модифицированные белки представляют собой новый класс терапевтических агентов. Подходящие модификации белковых терапевтических агентов включают комбинацию с "Fc" доменом антитела и связь с полимерами, такими как полиэтиленгликолем (PEG, ПЭГ) и декстран. Такие модификации подробно обсуждаются в опубликованной патентной заявке, озаглавленной "Модифицированные пептиды в качестве терапевтических агентов", WO 00/24782, которая во всей полноте вводится в данное описание в качестве ссылки.

Совсем другой поход к созданию терапевтических агентов представляет собой скрининг пептидных библиотек. Взаимодействие белкового лиганда с его рецептором часто происходит на сравнительно большой поверхности контакта. Однако, как показано для человеческого гормона роста и его рецептора, только немногие ключевые остатки на поверхности контакта (интерфейс) вносят вклад в основную часть энергии связывания. Clackson et al. (1995), *Science* 267: 383-6. Основная масса белкового лиганда просто замещает связывающие эпитопы при правильной топологии или выполняет функции, не относящиеся к связыванию. Таким образом, молекулы только "пептидной" длины (2-40 аминокислот) могут связываться с рецепторным белком данного большого белкового лиганда. Такие пептиды могут имитировать биоактивность большого белкового лиганда ("пептидные агонисты") или за счёт конкурентного связывания ингибировать биоактивность большого белкового лиганда ("пептидные антагонисты").

Фаговая библиотека визуализации пептидов возникла как мощный метод идентификации таких пептидных агонистов и антагонистов. См., например, Scott et al. (1990), *Science* 249: 386; Devlin et al. (1990), *Science*, 249: 404; патент США 5223409, выданный 29 июня 1993 г.; патент США 5733731, выданный 31 марта 1998 г.; патент США 5498530, выданный 12 марта 1996 г.; патент США 5432018, выданный 11 июля 1995 г.; патент США 5338665, выданный 16 августа 1994 г.; патент США 5922545, выданный 13 июля 1999 г.; Международная заявка WO 96/40987, опубликованная 19 декабря 1996 г. и Международная заявка WO 98/15833, опубликованная 16 апреля 1998 г. (каждый из документов вводится ссылкой во всей полноте). В таких библиотеках случайные пептидные последовательности выявляются путём слияния с оболочечными белками филаментозного фага. Как правило, элюция выявляемых пептидов происходит в соответствии с аффинностью в отношении иммобилизованного целевого белка. Удержаные фаги можно обогащать путём последовательных циклов аффинной очистки и повторного размножения (распространения). Лучшие связывающие пептиды можно секвенировать для идентификации главных остатков в одном или более родственных по структуре семейств пептидов. См., например, Cwirla et al. (1997) *Science* 276: 1696-9, в этой работе идентифицированы два различных семейства. Пептидные последовательности могут также подсказать, какие остатки можно безопасно заменить путём сканирования аланина (alanine scanning, AS) или используя мутагенез на уровне ДНК. Можно создать "библиотеки мутагенеза" и подвергнуть их скринингу с целью дальнейшей оптимизации последовательности лучших агентов для связывания. Lowman (1997), *Ann. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* 26: 401-24.

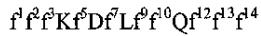
Для выявления пептидов, которые имитируют связывающую активность больших белковых лигандов, можно также использовать структурный анализ белок-белкового взаимодействия. При таком анализе кристаллическая структура может подсказать идентичность или относительную ориентацию важных остатков большого белкового лиганда, из которого можно взять пептид. См., например, Takasaki et al. (1997), *Nature Biotech.* 15: 1266-70. Эти аналитические методы можно также применять для исследования взаимодействия между рецепторным белком и пептидами, выбираемыми методом фагового дисплея, который может подсказать дальнейшую модификацию пептидов для увеличения аффинности связывания.

При исследовании пептидов с методом фагового дисплея конкурируют другие методы. Пептидную библиотеку можно сливать по карбоксильному концу с репрессором lac и экспрессировать в *E.coli*. Другой метод на основе *E.coli* делает возможным дисплей (визуализацию) на внешней клеточной мемbrane путём слияния с пептидогликан-ассоциированным липопротеином (PAL). Далее в данном описании эти и родственные методы имеют общее название "*E.coli* дисплей". В другом методе трансляцию произвольной РНК прекращают перед высвобождением рибосомы, что приводит к библиотеке полипептидов с всё ещё присоединённой соответствующей РНК. Далее в данном описании этот и другие родственные методы в целом называют "рибосомный дисплей" (визуализация, выявление). Другие методы используют пептиды, связанные с РНК; например, технологию PROfusion, Phylos, Inc. См., например, Roberts & Szostak (1997), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 94: 12297-303. Далее в данном описании этот метод и родственные методы описываются под общим названием "РНК-пептидный скрининг". Химическим путём были созданы пептидные библиотеки, в которых пептиды иммобилизованы на стабильных, небиологических материалах, таких как полиэтиленовые стержни или проницаемые для растворителя полимеры. Другая созданная химическим путём пептидная библиотека использует фотолитографию для сканирования пептидов, иммобилизованных на стеклянных пластинах (предметных стёклах). Далее в данном описании эти и родственные методы указываются под общим названием "химико-пептидный скрининг". Химико-пептидный скрининг может иметь преимущество, так как он позволяет использовать

D-аминокислоты и другие неприродные аналоги, а также непептидные элементы. Обзор как биологических, так и химических методов см. Wells & Lowman (1992), Curr. Opin. Biotechnol. 3: 355-62. Можно обнаружить пептиды - миметики любого белка, используя методы фагового дисплея, РНК-пептидный скрининг и другие вышеупомянутые методы.

Сущность изобретения

Настоящее изобретение относится к терапевтическим агентам, которые модулируют активность TALL-1. Согласно данному изобретению модуляторы TALL-1 могут содержать аминокислотную последовательность формулы



(SEQ ID NO: 109)

где f^1 , f^2 и f^3 отсутствуют или обозначают любые аминокислотные остатки;

f^5 обозначает W;

f^7 обозначает любой аминокислотный остаток;

f^9 обозначает T или I;

f^{10} обозначает K, R или H;

f^{12} обозначает C, нейтральный гидрофобный остаток или основной остаток;

f^{13} обозначает C, нейтральный гидрофобный остаток или отсутствует и

f^{14} обозначает любой аминокислотный остаток или отсутствует;

при условии, что только один из f^1 , f^2 или f^3 может обозначать C и только один из f^{12} , f^{13} и f^{14} может обозначать C.

Предпочтительно, чтобы

f^{12} обозначал W, C или R;

f^7 обозначал L;

f^9 обозначал T;

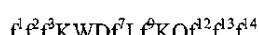
f^{10} обозначал K или I;

f^{12} обозначал C, а

один из f^1 , f^2 и f^3 обозначал C и

f^{13} обозначал V.

Одним из вариантов данной молекулы является молекула, содержащая аминокислотную последовательность формулы

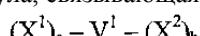


(SEQ ID NO: 125)

Другим вариантом изобретения является связывающаяся с TALL-1 молекула, содержащая аминокислотную последовательность формулы

LPGCKWDLLIKQWVCDPL (SEQ ID NO: 33).

Еще одним вариантом является молекула, связывающаяся с TALL-1, имеющая формулу



и его мультимеры,

где V^1 обозначает носитель;

X^1 и X^2 , каждый независимо, выбирают из

$-(L^1)_c-P^1$,

$-(L^1)_c-P^1-(L^2)_d-P^2$,

$-(L^1)_c-P^1-(L^2)_d-P^2-(L^3)_e-P^3$ и

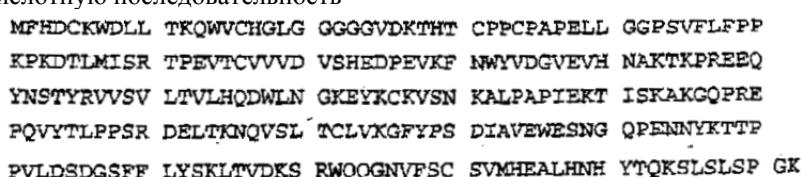
$-(L^1)_c-P^1-(L^2)_d-P^2-(L^3)_e-P^3-(L^4)_f-P^4$ и

один или более из P^1 , P^2 , P^3 и P^4 , каждый независимо, представляют собой SEQ ID NO: 109;

L^1 , L^2 , L^3 и L^4 , каждый независимо, обозначают линкеры; и

a, b, c, d, e и f, каждый независимо, обозначают 0 или 1, при условии, что по меньшей мере один из a и b обозначает 1.

Другими вариантами молекул по изобретению являются связывающаяся с TALL-1 молекула, имеющая аминокислотную последовательность



(SEQ ID NO: 122),

или связывающаяся с TALL-1 молекула, имеющая аминокислотную последовательность

MLPGCKWDLL IKQWVCDPLG SGSATGGSGS TASSGSGSAT HMLPGCKWDL
 LIKQWVCDPL GGGGGVDKTH TCPPCPAPEL LGGPSVFLFP PKPKDTLMIS
 RTPEVTCVVV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREE QYNSTYRVVS
 VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEK TISKAKGQPR EPQVYTLPPS
 RDELTKNQVS LTCLVKGFYP SDIAVEWESN QOPENNYKTT PPVLDSDGSF
 FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVNHEALHN HYTQKSLSLS PGK

(SEQ ID NO: 123),

или связывающаяся с TALL-1 молекула, имеющая аминокислотную последовательность

MFHDCKWDLL TKQWVCHGLG SGSATGGSGS TASSGSGSAT HMFHDCKWDL
 LTKQWVCHGL GGGGGVDKTH TCPPCPAPEL LGGPSVFLFP PKPKDTLMIS
 RTPEVTCVVV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREE QYNSTYRVVS
 VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEK TISKAKGQPR EPQVYTLPPS
 RDELTKNQVS LTCLVKGFYP SDIAVEWESN QOPENNYKTT PPVLDSDGSF
 FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVNHEALHN HYTQKSLSLS PGK

(SEQ ID NO: 124).

Далее в соответствии с настоящим изобретением модуляторы TALL-1 содержат:

а) домен, модулирующий TALL-1 (например, аминокислотную последовательность, отвечающую формулам I(a)-I(i)), предпочтительно аминокислотную последовательность Dz^2Lz^4 , или последовательности, образованные из неё методом фагового дисплея, РНК-пептидным скринингом или другим, описаным выше методом; и

б) "носитель", такой как полимер (например, ПЭГ или декстран) или домен Fc, который является предпочтительным;

при этом "носитель" ковалентно связан с доменом, модулирующим TALL-1. Вектор и TALL-1 - модулирующий домен могут быть связаны по N или по C-концу TALL-1 - модулирующего домена, как описано ниже. Предпочтительным "носителем" является домен Fc, а предпочтительным Fc-доменом является Fc домен IgG. Такие Fc-связанные пептиды называются в данном описании "peptibodies" ("пепти-тела"). Предпочтительные TALL-1 - модулирующие домены содержат аминокислотные последовательности, представленные в данном описании в табл. 1 и 2. Другие TALL-1 - модулирующие домены могут быть получены методом фагового дисплея, РНК-пептидным скринингом и другими указанными в данном описании методами.

Далее, настоящее изобретение охватывает способ получения TALL-1-модуляторов, который включает в себя:

- а) отбор по меньшей мере одного пептида, который связывается с TALL-1; и
- б) ковалентное связывание указанного пептида с "носителем".

Предпочтительным "носителем" является домен Fc.

Стадию (а) предпочтительно проводят отбором из пептидных последовательностей, приведённых в табл. 2 или методом фагового дисплея, РНК-пептидным скринингом или другими методами, указанными в данном описании.

Соединения по данному изобретению можно получать стандартными синтетическими методами, методами рекомбинантной ДНК или любыми другими методами получения пептидов и слитых белков. Соединения по данному изобретению, которые охватывают непептидные участки, помимо стандартных реакций пептидной химии можно синтезировать обычными реакциями органической химии, когда они применимы.

Основным рассматриваемым применением соединений по данному изобретению является применение в качестве терапевтических или профилактических агентов. Пептид, связанный с "носителем", может обладать активностью, сравнимой с активностью - или даже превышающей активность - природного лиганда, которому подражает пептид.

Соединения по данному изобретению можно применять для терапевтических или профилактических целей, готовя их в виде препаратов с соответствующими фармацевтическими носителями и вводя эффективное количество больному, например человеку (или другому млекопитающему), нуждающемуся в таком лечении. Другие родственные аспекты также включены в данное изобретение.

Многочисленные дополнительные аспекты и преимущества настоящего изобретения станут очевидными после ознакомления с фигурами и подробным описанием изобретения.

Краткое описание фигур

На фиг. 1 дан пример димеров Fc, которые могут быть получены на основе антитела IgG1, где "Fc" представляет собой любой из вариантов Fc из определения "Fc домен" по данному описанию; "X¹" и "X²" обозначают пептиды или линкер-пептидные комбинации по определению в данном описании. Конкретными димерами являются следующие:

A, D: Димеры с одним дисульфидным мостиком. IgG1 - антитела, как правило, содержат две дисульфидных связи в шарнирной области антитела. Домен Fc на фиг. 1A и 1D может образоваться путём усечения между двумя сайтами с дисульфидными связями или заменой цистеинильного остатка нереакционноспособным остатком (например, аланилом). На фиг. 1A домен Fc связан по аминоконцу пептидов; на фиг. 1D - по карбоксильному концу;

B, E: Димеры с двумя дисульфидными мостиками. Такой Fc домен может быть образован усечением исходного антитела таким образом, чтобы сохранить оба цистеинильных остатка в цепях Fc домена, или экспрессией при использовании конструкции, включающей последовательность, кодирующую такой Fc домен. На фиг. 1B Fc домен связан по аминоконцу пептидов; на фиг. 1E - по карбоксильному концу;

C, F: Нековалентносвязанные димеры. Такой Fc домен может образовываться при элиминировании цистеинильных остатков либо путём усечения, либо путём замены. Может потребоваться элиминировать цистеинильные остатки, чтобы избежать примесей, образующихся при реакции цистеинильного остатка с цистеинильным остатком других белков, присутствующих в клетке-хозяине. Нековалентное связывание Fc доменов достаточно для того, чтобы удерживать димер вместе.

Другие димеры могут образовываться при использовании Fc доменов из других типов антител (например, IgG2, IgM).

На фиг. 2 показана структура предпочтительных соединений по данному изобретению, которая отличается tandemной дупликацией фармакологически активных пептидов. На фиг. 2A показана одноцепочечная молекула, также эта фигура может представлять собой ДНК-конструкцию этой молекулы. На фиг. 2B показан димер, в котором линкер-пептидный участок присутствует только в одной цепи димера. На фиг. 2C показан димер, содержащий линкер-пептидный участок в обеих цепях. Димер, показанный на фиг. 2C, образуется спонтанно в некоторых клетках-хозяевах при экспрессии конструкции ДНК, кодирующей одну цепь, показанную на фиг. 3A. В других клетках-хозяевах клетки можно помещать в условия, благоприятствующие образованию димеров, или димеры можно получать *in vitro*.

На фиг. 3 дан пример нуклеиновой кислоты и аминокислотных последовательностей (SEQ ID NO: 1 и 2 соответственно) Fc человека IgG1, которые можно использовать в данном изобретении.

На фиг. 4А-4F показаны нуклеотидные и аминокислотные последовательности (SEQ ID NO: 3-27) S от NdeI до SalII фрагментов, кодирующих пептид и линкер.

На фиг. 5А-5М показана нуклеотидная последовательность (SEQ ID NO: 28) вектора pAMG21-RANK-Fc, который используется для конструкции Fc-связанных молекул по данному изобретению. Эти фигуры определяют ряд признаков (особенностей) нуклеиновой кислоты, включая:

промоторные участки P_{copB}, P_{repA}, RNAI, APHII, luxPR и luxPL;

мРНК для APHII, luxR;

кодирующие последовательности и аминокислотные последовательности белков copB белка, copT, repAI, repA4, APHII, luxR, RANK и Fc;

сайты связывания белков copB, CRP;

"шпильки" T1, T2, T7 и петля;

оператор белка lux;

сайты рестрикции для P_{flll08I}, BglII, ScaI, BmnI, DrdII, DraIII, BstBI, AceIII, AfII, PflMI, BglII, SfiI, BstEI, BspLull, NspV, BpII, EagI, BcgI, NsiI, BsaI, Psp1406I, AatII, BsmI, NruI, NdeI, ApaLI, Acc65I, KpnI, SalI, AccI, BspEI, AhdI, BspHI, EconI, BsrG1, BmaI, SmaI, SexAI, BamHI и BlhI.

На фиг. 6А и 6В показана последовательность ДНК (SEQ ID NO: 97), встроенная в pCFM1656 между уникальными сайтами рестрикции AatII (положение № 4364 в pCFM1656) и SacII (положение № 4585 в pCFM1656) для получения плазмида экспрессии pAMG21 (ATCC № 98113).

На фиг. 7 показано, что "peptibody" ("пептило") TALL-1 (SEQ ID NO: 70) ингибирует опосредуемую TALL-1B-клеточную пролиферацию. Очищенные В-клетки (10^5) мышей B6 культивируют в тройном повторе 96-луночных планшетах с указанными количествами консенсусного "пептила" TALL-1 в присутствии 10 нг/мл TALL-1 плюс 2 мкг/мл TALL-1 антитела против IgM. Пролиферацию измеряют по поглощению радиоактивного [³H]тимидина в последние 18 ч пульсового режима. Данные представляют собой среднее значение ± SD для трёх лунок (тройной повтор).

На фиг. 8 показано, что димерные "пептила" TALL-1 N-концевого tandemа (SEQ ID NO: 123, 124 в приводимой ниже табл. 5В) предпочтительны для ингибирования опосредуемой TALL-1-пролиферации В-клеток. Очищенные В-клетки (10^5) мышей B6 культивируют в тройном повторе в 96-луночных планшетах с указанными количествами "пептила" TALL-1 12-3 и консенсусного "пептила" TALL-1 (SEQ ID NO: 115 и 122 в табл. 5В) или родственных димерных "пептилов" (SEQ ID NO: 123, 124) в присутствии 10 нг/мл TALL-1 плюс 2 мкг/мл антитела против IgM. Пролиферацию измеряют по поглощению радиоактивного [³H]тимидина в последние 18 ч пульсового режима. Данные представляют собой среднее значение ± SD для трёх лунок (тройной повтор).

Фиг. 9. "Пептило" AGP3 связывается с AGP3 с высоким сродством. Константу равновесной диссоциации (K_D) получают нелинейной регрессией конкурентных кривых, используя модель односайтового гомогенного связывания по двум кривым (программное обеспечение KinEx™). K_D составляет около 4 пМ для "пептила" AGP3, связывающегося с человеческим AGP3 (SEQ ID NO: 123).

Фиг. 10А и 10В. Пептило AGP3 блокирует как человеческий, так и мышний AGP3 в конкурентном анализе Biacore. Растворимый человеческий белок TACI был иммобилизован в чипах B1. 1 нМ рекомбинантного человеческого белка AGP3 (верхняя панель) или 5 нМ рекомбинантного мышного белка AGP3 (нижняя панель) инкубируют с указанным количеством "пептила" AGP3 перед инъектированием через поверхность рецептора. Показана относительная реакция связывания человеческого AGP3 и мышного AGP3 (SEQ ID NO: 123).

Фиг. 11А и 11В. Пептило AGP3 блокирует связывание AGP3 со всеми тремя рецепторами TACI, BCMA и BAFFR в конкурентном анализе Biacore. Рекомбинантные растворимые рецепторные белки TACI, BCMA и BAFFR иммобилизованы на чипе CM5. 1 нМ рекомбинантного человеческого AGP3 (верхняя панель) инъектируют через поверхность каждого рецептора. Определяют относительное связывание AGP3. Аналогично, 1 нМ рекомбинантного белка APRIL инкубируют с указанным количеством "пептила" AGP3 перед инъектированием через поверхность каждого рецептора. "Пептило" AGP3 не ингибирует связывание APRIL со всеми тремя рецепторами (SEQ ID NO: 123).

Фиг. 12А и 12В. "Пептило" AGP3 ингибирует повышение уровней иммуноглобулина мышной сыворотки, вызванное заражением (стимуляцией) человеческим AGP3. Мыши Balb/c получают ежедневно в течение 7 дней внутрибрюшинные инъекции 1 мг/кг человеческого AGP3 вместе с физиологическим раствором, человеческим Fc или "пептилом" AGP3 в указанных дозах, на 8 день их умерщвляют. Уровень сывороточного общего IgM и IgA определяют методом ELISA (SEQ ID NO: 123).

Фиг. 13. Обработка пептилом AGP3 уменьшает тяжесть артрита на мышной CIA модели. От восьми до двенадцати недель старых самцов DBA/1 иммунизируют бычьим коллагеном типа II (bCII), эмульгированным в полном адьюванте Фрейнда, интравермально в основание хвоста, и повторно иммунизируют (бустинг) через 3 недели после первоначальной иммунизации с помощью bCII, эмульгированного в неполном адьюванте Фрейнда. Обработку указанной дозой "пептила" AGP3 начинают со дня бустерной иммунизации в течение 4 недель. Как описано ранее (Khare et al., J. Immunol., 155: 3653-9, 1995), все четыре лапы оцениваются по степени тяжести артрита по шкале 0-3 (SEQ ID NO: 123).

Фиг. 14. Обработка "пептилом" AGP3 ингибирует образование антител против коллагена на мышной CIA модели. Образцы сыворотки отбирают через одну неделю после последней обработки (день 35), как описано выше. Уровень антител против коллагена в сыворотке определяют методом ELISA (SEQ ID NO: 123).

Фиг. 15А и 15В. Обработка "пептилом" AGP3 задерживает начало заболевания протеинурией и повышает выживание при волчанке у мышей NZB/NZW. Пятимесячным мышам NZBx NZBWF1 вводят внутрибрюшинно (интраперитонеально) 3Х/неделя в течение 8 недель PBS или указанные дозы "пептила" AGP3 (SEQ ID NO: 123) или человеческих белков Fc. Белок в моче проверяют ежемесячно в течение эксперимента с помощью полосок с реагентом Albustix (Bayer AG).

Фиг. 16А и 16В показывают нуклеотидную и аминокислотную последовательности предпочтительного связывающего TALL-1 "пептила" (SEQ ID NO: 189 и 123).

Подробное описание изобретения

Определение терминов

Определение терминов, применяемых в данном описании, даны ниже, если не указано иначе в конкретных случаях.

Общие определения.

Термин "содержащий (включающий)" означает, что соединение может включать дополнительные аминокислоты по одному из N- или C-концов или по обоим концам данной последовательности. Конечно, эти дополнительные аминокислоты не должны заметно влиять на активность соединения.

Кроме того, физиологически приемлемые соли соединений по данному изобретению также охватываются в данном описании. Термин "физиологически приемлемые соли" относится к любым солям, о фармацевтической приемлемости которых было известно ранее или стало известно позже. Некоторые конкретные примеры суть следующие: ацетат; трифторацетат; гидрогалогениды, такие как гидрохлорид и гидробромид; сульфат; цитрат; тартрат; гликолят и оксалат.

Аминокислоты.

Термин "кислые остатки" относится к аминокислотным остаткам в D- или L-форме с боковыми цепями, содержащими кислотные (кислые) группы. Примеры кислых остатков включают в себя D и E.

Термин "амидный остаток" относится к аминокислотам в D- или L-форме с боковыми цепями, содержащими амидные производные или кислые группы. Примеры остатков включают N и Q.

Термин "ароматический остаток" относится к аминокислотным остаткам в D- или L-форме с боковыми цепями, содержащими ароматические группы. Примеры ароматических остатков включают F, Y и W.

Термин "основной остаток" относится к аминокислотным остаткам в D- или L-форме с боковыми цепями, содержащими основные группы. Примеры основных остатков включают H, K и R.

Термин "гидрофильный остаток" относится к аминокислотным остаткам в D- или L-форме с боковыми цепями, содержащими полярные группы. Примеры гидрофильных остатков включают C, S, T, N и Q.

Термин "нефункциональный остаток" относится к аминокислотным остаткам в D- или L-форме с боковыми цепями, которые не содержат кислые, основные или ароматические группы. Примеры нефункциональных аминокислотных остатков включают M, G, A, V, I, L и норлейцин (Nle).

Термин "нейтральный гидрофобный остаток" относится к аминокислотным остаткам в D- или L-форме с боковыми цепями, которые не содержат кислые, основные или полярные группы. Примеры нейтральных полярных аминокислотных остатков включают A, V, L, I, P, W, M и F.

Термин "полярный гидрофобный остаток" относится к аминокислотным остаткам в D- или L-форме с боковыми цепями, содержащими полярные группы. Примеры полярных гидрофобных аминокислотных остатков включают T, G, S, Y, C, Q и N.

Термин "гидрофобный остаток" относится к аминокислотным остаткам в D- или L-форме с боковыми цепями, которые не содержат основные или кислые группы. Примеры гидрофобных аминокислотных остатков включают A, V, L, I, P, W, M, F, T, G, S, Y, C, Q и N.

Пептиды.

Термин "пептид" относится к молекулам, содержащим 1-40 аминокислот, причём предпочтительными являются молекулы, содержащие 5-20 аминокислот. Примеры пептидов могут включать домен природной молекулы, модулирующий TALL-1, или рандомизированные последовательности.

Термин "рандомизированный", применяемый для названия пептидных последовательностей, относится к полностью произвольным последовательностям (например, отбиаемым методами фагового дисплея или РНК-пептидным скринингом) и последовательностям, в которых один или более остатков природной молекулы замещается аминокислотным остатком, не встречающимся в этом положении в природной молекуле. Методы примеров идентификации пептидных последовательностей включают фаговый дисплей, E.coli дисплей, РНК-пептидный скрининг, химический скрининг и т.п. Термин "домен, модулирующий TALL-1" относится к любой аминокислотной последовательности, которая связывается с TALL-1 и содержит природные или рандомизированные последовательности. Домены, модулирующие TALL-1, можно идентифицировать или получить методом фагового дисплея или другими методами, указанными в данном описании.

Термин "антагонист TALL-1" относится к молекуле, которая связывается с TALL-1 и увеличивает или уменьшает один или более аналитических параметров в противоположность действию на эти параметры полноразмерного нативного TALL-1. Такую активность можно определить, например, такими методами анализа, которые описаны в параграфе, озаглавленном "Биологическая активность AGP3", в разделе "Материалы и методы" патентной заявки, называемой "Белки, родственные TNF", WO 00/47740, опубликованной 17 августа 2000 г.

"Носители" и "пептилата".

Термин "носители" относится к молекуле соединения, которое предупреждает распад и/или увеличивает период полужизни, понижает токсичность, понижает иммуногенность или повышает биологическую активность терапевтического белка. Примеры "носителей" включают домен Fc (который является предпочтительным), а также линейный полимер (например, полиэтиленгликоль (ПЭГ), полилизин, декстран и т.д.); разветвлённый полимер (см., например, патент США 4289872, принадлежащий Denkerwalter et. al., выдан 15 сентября 1981 г.; 5229940, патентообладатель Там, выдан 20 июля 1993 г.; Международную заявку 93/21259, Frechet et al., опубликованную 28 октября 1993 г.); липид; группа холестерина (например, стероид); углевод или олигосахарид (например, декстран); любой природный или синтетический белок, полипептид или пептид, который связывается с "салваж" (salvage)-рецептором; альбумин, включая человеческий сывороточный альбумин (HSA), домен лейциновой молнии и другие подобные белки и фрагменты белков. Носители дополнительно описываются ниже.

Термин "нативный Fc" относится к молекуле или последовательности, содержащей последовательность не-антителенсвязывающего фрагмента, полученного при гидролизе целого антитела, в мономерной или мультимерной форме. Иммуноглобулин, источник нативного Fc, предпочтительно человеческого происхождения и может представлять собой любой иммуноглобулин, хотя предпочтительными являются IgG1 и IgG2. Нативные Fc "составляют" из мономерных полипептидов, которые могут быть связаны в димерные или мультимерные формы с помощью ковалентной (т.е. дисульфидными мостиками) и нековалентной ассоциации. Число межмолекулярных дисульфидных связей между мономерными субъединицами нативных молекул Fc в интервале от 1 до 4 в зависимости от класса (например, IgG, IgA, IgE) или подкласса (например, IgG1, IgG2, IgG3, IgA1, IgA2). Одним из примеров нативного Fc является дисульфид-связанный димер, получаемый при расщеплении IgG под действием папаина (см. Ellison et al., (1982), Nucleic Acids Res. 10: 4071-9). Термин "нативный Fc" по данному описанию является родовым для мономерной, димерной и мультимерной форм.

Термин "вариант Fc" относится к молекуле или последовательности, полученной модификацией нативного Fc, но всё ещё содержащей сайт связывания "сальваж"-рецептора, FcRn. В Международных заявках WO 97/34631 (опубликованной 25 сентября 1997 г.) и WO 96/32478 описаны примеры вариантов Fc, а также взаимодействие с "сальваж"-рецептором; эти заявки во всей полноте вводятся ссылками в данное описание.

Следовательно, термин "вариант Fc" включает молекулу или последовательность, которая является гуманизированной молекулой или последовательностью нечеловеческого нативного Fc. Кроме того, нативный Fc содержит сайты, которые можно удалить, так как они придают структурные признаки биологической активности, непригодной для слитых молекул по настоящему изобретению. Следовательно, термин "вариант Fc" включает молекулу или последовательность, в которой отсутствует один или более сайтов или остатков нативного Fc, влияющие на (1) образование дисульфидной связи; (2) несовместимость с отобранный клеткой-хозяином; (3) гетерогенность по N-концу при экспрессии в отобранный клетке-хозяине; (4) гликозилирование; (5) взаимодействие с комплементом; (6) связывание с Fc рецептором, иным, нежели "сальваж"-рецептор; или (7) антитело-зависящую клеточную цитотоксичность (ADCC), или участвующие в этих явлениях. Варианты Fc более подробно описаны ниже.

Термин "Fc домен" охватывает молекулы и последовательности нативного Fc и вариантов Fc по определению выше. Как и в случае вариантов Fc и нативных Fc, термин "Fc домен" включает молекулы в мономерной или мультимерной форме, полученные расщеплением (гидролизом) целого антитела либо полученные другими способами.

Термин "мультимер", применяемый в отношении Fc доменов или молекул, включающих Fc домены, относится к молекулам, содержащим две или более полипептидных цепи, связанные нековалентными взаимодействиями, или за счёт как ковалентных, так и нековалентных взаимодействий. Молекулы IgG, как правило, образуют димеры; IgM-пентамеры; IgD-димеры; и IgA-мономеры, димеры, тримеры или тетramerы. Мультимеры могут образовываться при использовании последовательности и результирующей активности нативного Ig-источника Fc или дериватизацией (как определяется ниже), такого как нативный Fc.

Термин "димер" в применении к Fc доменам относится к молекулам, содержащим две полипептидные цепи, связанные ковалентно или нековалентно. Так, примеры димеров в объёме данного изобретения показаны на фиг. 1.

Термины "дериватизация" и "производный" или "дериватированный" включают процессы и получаемые соединения, соответственно, в которых (1) соединение содержит циклический участок, например, образованный путём сшивания цистеинильных остатков соединения; (2) соединение является сшитым или содержит сайт для сшивания, например соединение содержит цистеинильный остаток и за счёт этого образует сшитые димеры в культуре или *in vivo*; (3) одна или более пептидильных связей заменяются непептидильными; (4) N-конец замещается на -NRR¹, -NRC(O)R¹, -NRC(O)OR¹, -NRS(O)₂R¹, -NHC(O)NHR, сукцинимидную группу или замещённый или незамещённый бензилоксикарбонил-NH-, где определение R и R¹ и циклических заместителей даётся ниже; (5) C-конец замещается на -C(O)R² или -NR³R⁴, где значение R², R³ и R⁴ дано ниже в данном описании; и (6) соединения, в которых отдельные аминокислотные фрагменты модифицируют, обрабатывая агентами, способными реагировать с отобранными боковыми цепями или концевыми остатками. Более подробное описание производных приводится ниже.

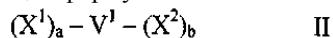
Термины "пептило" и "пептила" относятся к молекулам, содержащим домен Fc и по меньшей мере один пептид. Такие "пептила" могут быть мультимерами или димерами или их фрагментами и они могут быть дериватизированы. В данном изобретении молекулы формул II-VI по данному описанию представляют собой "пептила", когда V является доменом Fc.

Структура соединений.

Общие замечания.

Авторы данного изобретения определяли последовательности, способные связываться с TALL-1 и модулировать его биологическую активность. Эти последовательности можно модифицировать указанными выше методами, с помощью которых можно изменить одну или более аминокислот при сохранении или даже улучшении аффинности связывания пептида.

В заявляемых композициях, получаемых по данному изобретению, пептид(ы) можно присоединять к носителю по N- или C-концу пептида. Любой из этих пептидов может связываться в tandem (т.е. последовательно), с линкерами или без линкеров. Таким образом, молекулы носитель-пептид по данному изобретению могут быть описаны следующей формулой:



где V¹ обозначает носитель (предпочтительно, Fc домен);

X¹ и X², каждый независимо, выбирают из -(L¹)_c-P¹, -(L¹)_c-P¹-(L²)_d-P², -(L¹)_c-P¹-(L²)_d-P²-(L³)_e-P³ и -(L¹)_c-P¹-(L²)_d-P², -(L¹)_c-P¹-(L²)_d-P²-(L³)_e-P³-(L⁴)_f-P⁴;

P¹, P², P³ и P⁴, каждый независимо, обозначают последовательности доменов, модулирующих TALL-1, таких как домены формул I(a)-I(i);

L^1, L^2, L^3 и L^4 , каждый независимо, обозначают линкеры и
 a, b, c, d, e и f , каждый независимо, обозначают 0 или 1, при условии, что по меньшей мере один из
 a и b обозначает 1.

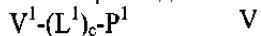
Следовательно, соединение формулы II включает предпочтительные соединения формул



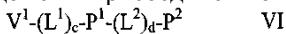
и их мультимеры, где V^1 обозначает Fc домен и присоединён по C-концу A^1 ;



и их мультимеры, где V^1 обозначает Fc домен и присоединён по N-концу A^2 ;



и их мультимеры, где V^1 обозначает Fc домен и присоединён по N-концу $-(L^1)_c - P^1$; и



и их мультимеры, где V^1 обозначает Fc домен и присоединён по N-концу $-L^1 - P^1 - L^2 - P^2$.

Пептиды.

Пептиды по изобретению применимы в качестве TALL-1 модулирующих доменов в молекулах, соответствующих формулам II-VI. Молекулы соединений по данному изобретению, содержащие такие пептидные последовательности, можно получать известными в технике методами.

Предпочтительными пептидными последовательностями являются пептидные последовательности вышеприведённых формул I(a)-I(i), содержащие указанные ниже заместители.

Таблица 1

Предпочтительные пептидные заместители

Формула I(a)	a^8 обозначает T; a^9 обозначает основной остаток (наиболее предпочтителен K); и a^{12} обозначает нейтральный гидрофобный остаток (наиболее предпочтителен F).
Формула I(b)	b^3 обозначает D, Q или E; b^6 обозначает W или Y; b^{10} обозначает T; b^{11} обозначает K или R; и b^{14} обозначает V или L.
Формула I(c)	c^9 обозначает T; c^{10} обозначает K или R; c^{13} обозначает I, L или V; и c^{17} обозначает A или L.
Формула I(d)	d^{12} обозначает T.
Формула I(e)	e^{11} обозначает T.
Формула I(f)	f^9 обозначает T; f^{10} обозначает K; и f^{13} обозначает V.
Формула I(g)	g^3 обозначает W; g^8 обозначает P; g^{10} обозначает E; и g^{13} обозначает основной остаток.
Формула I(h)	h^1 обозначает G; h^6 обозначает A; h^7 обозначает нейтральный гидрофобный остаток; и h^{10} обозначает кислый остаток.
Формула I(i)	i^2 обозначает W; и i^{14} обозначает W.

Таблица 2
Предпочтительные TALL-1 модулирующие домены

Последовательность	SEQ ID NO:
PGTCFPFPWECTHA	29
WGACWPFPWECFKE	30
VPFC DLLTKHCFEA	31
GSRCKYKWDVLTKQCFHH	32
LPGCKWDLLIKQWVCDPL	33
SADCYFDILTKSDVCTSS	34
SDDCMYDQLTRMFICSNL	35
DLNCKYDELTYKEWCQFN	36
FHDCKYD DLLTRQMVCHGL	37
RNHCFWDHLLKQDICPSP	38
ANQCWWDSLTKKNNCEFF	39
YKGROMWDILTRSWVSL	126
QDVGLWWDILTRAWMPNI	127
QNAQRVWDLLIRTWVYPO	128
GWNEA WWD E LTKIWLBEQ	129
RITCDTWD S LIKKCVPQS	130
GAIMQFWDSLTLKTWLROS	131
WLHSGWWDP LTKHWLOKV	132
SEWFFWF DPLTRAOLKFR	133
GVWF FWFDPLTKQWTQAG	134
MQCKGYYDILTKWCVTNG	135
LWSKEVWDILTKSWSQA	136
KAAGWFWFDWLTKVWVPAP	137
AYQTWFWD S LTRWLSTT	138
SGQHFWWFDLLTRSWTPST	139
LGVGQKWDPLTKQWVSRG	140
VGKMCQWDPLIKRTVCVG	141
CRQGAKFDLLTKQCLLGR	142
GOAIRHWDVLTKQWVDSQ	143
RGPCGKWDLLTKHCLDSQ	144
WOWKQ QWDLLTKQMVWVG	145
PITICRKDLLTKQVVCLD	146
KTCNGKWDLLTKQCLQQA	147
KCLKGKWDLLTKQCVTEV	148
RCWNGKWDLLTKQCIHPW	149
NRDMRKWDPLIKOWIVRP	150
QAAAATWDLLTKQWL VPP	151
PEGGPWKWDPLTKOFLPPV	152
QTPQKKWDLLTKQW FTRN	153
IGSPCKWDLLTKOMICOT	154
CTAAGKWDLLTKOCIOEK	155
VSQCMNWDL LT KOCLOGW	156
VWGTWKWDLLTKOYLPPQ	157
GWWEMKWDLLTKQWYRPO	158
TAQVSKWDLLTKQWLPLA	159
QLWGTWKWDLLTKQYIQIM	160
WATSQKWDLLTKQWVQNM	161
QROCAKWDLLTKQCVLFY	162

Последовательность	SEQ ID NO:
KTTDCKWDLLTKORICOV	163
LLCQGKWDLLTKOCLKLR	164
LMWFWKWDLLTKOLVPTF	165
QTWAWKWDLLTKOWIGPM	166
NKELLKWDLLTKOCRGRS	167
GQKDLKWDLLTKQYVRQS	168
PKPCQKWDLLTKQCLGSV	169
GOIGWKWDLLTKQWIQTR	170
VWLWDWKWDLLTKQWIHPQ	171
QEWEYKWDLLTKQWGWLRL	172
HWDWSWKWDLLTKQVVQAA	173
TRPLQKWDLLTKQWLRVG	174
SDQWQKWDLLTKQWFWDV	175
QQTFMKWDLLTKQWIRRH	176
QGECRKWDLLTKQCFPGQ	177
GQMGWRWDPLIKMCLGPS	178
QLDGCKWDLLTKQKVCIP	179
HGYWQKWDLLTKQWVSSE	180
HQGOCGW DLLTRIYLPCN	181
LHKACKWDLLTKQCPWPMQ	182
GPPGSVWDLLTKIWIQTG	183
ITQDWRFDTLTRIWLPLR	184
QGGFAAWDVLT KMWITVP	185
GHGTPWWDALTRIWILGV	186
VWPWQKWDLLTKQFVFQD	187
WQWSWKWDLLTRQYISSS	188
NOTLWKWDLLTKQFITYM	60
PVYQGWWDTLTKLYIWDG	61
WLDGGWRDPLIKRSVQLG	62
GHQQFKWDLLTKQWVQSN	63
QRVCQFWDVLT KMEITGS	64
QAQGWSYDALIKTWIRWP	65
GWMHWKWDPLTKQALPWM	66
GHPTYKWDLLTKQWILQM	67
WNWNWSLWDPLTKLWLOQN	68
WQWGWKWDLLTKQWVQOO	69
GQMGWRWDPLTKM WLGTS	70

Заметна некоторая гомология последовательностей известных рецепторов для TALL-1 с последовательностями предпочтительных пептидов:

12-3

LPGCKWDLLJKQWVCDPL

BAFFR MRRGPRSLRG RDAPVPTPCVPT ECYD L VRKC VDC RLL

TACI TICNHQS QRTCAAFCRSL SCRKEQGKF YDH L RDCI SCAS I

BCMA FVSPS QEIRGRF RRMLQ MAGQCSQNEY FDS LL HACI PCQL R C

(SEQ ID NOS: 33, 195, 196 и 197, соответственно).

Любой пептид, содержащий цистеинильный остаток, может перекрёстно связываться (сшиваться) с другим Cys-содержащим пептидом, при этом любой из них или они оба могут быть связаны с носителем. Любой пептид, содержащий более одного остатка Cys, может также образовывать внутрипептидную дисульфидную связь. Любой из этих пептидов может быть дериватизирован, как показано ниже в данном описании.

Дополнительные применимые пептидные последовательности могут быть получены в результате консервативных и/или неконсервативных модификаций аминокислотных последовательностей, приведённых в табл. 2.

Консервативные модификации могут давать пептиды, имеющие функциональные и химические характеристики, аналогичные функциональным и химическим характеристикам пептида, из которого эти модификации получены. Напротив, важные изменения (модификации) функциональных и/или химических характеристик пептидов можно осуществить, выбирая замены в аминокислотной последовательности, которые значительно отличаются по своему влиянию на сохранение (а) структуры молекуллярного остова на плоскости замены, например в виде конформации складки или спирали; (б) заряда или гидрофобности молекулы в сайте-мишени или (в) размера молекулы.

Например, "консервативная аминокислотная замена" может включать замену нативного аминокислотного остатка ненативным остатком таким образом, что это мало влияет или не влияет на полярность или заряд аминокислотного остатка в этом положении. Кроме того, любой нативный остаток в полипептиде можно также заменить на аланин, как это было ранее описано для "аланин-сканирующего мутагенеза" (см., например, MacLennan et al., 1998, Acta Physiol. Scand. Suppl. 643: 55-67; Sasaki et al., 1998, Adv. Biophys. 35: 1-24, в которых обсуждается аланин-сканирующий мутагенез).

Нужные консервативные замены (консервативные или неконсервативные) могут определить специалисты в данной области техники в тот момент, когда эти замены потребуются. Например, аминокислотные замены можно использовать для идентификации важных остатков пептидной последовательности или для повышения или для понижения аффинности пептидных молекул и молекул носитель-пептид (см. приведённые выше формулы) по данному описанию. Примеры аминокислотных замен приведены в табл. 3.

Таблица 3
Аминокислотные замены

Исходный остаток	Примеры замен	Предпочитительные замены
Ala (A)	Val, Leu, Ile	Val
Arg (R)	Lys, Gln, Asn	Lys
Asn (N)	Gln	Gln
Asp (D)	Glu	Glu
Cys (C)	Ser, Ala	Ser
Gln (Q)	Asn	Asn
Glu (E)	Asp	Asp
Gly (G)	Pro, Ala	Ala
His (H)	Asn, Gln, Lys, Arg	Arg
Ile (I)	Leu, Val, Met, Ala, Phe, Норлейцин	Leu
Leu (L)	Норлейцин, Ile, Val, Met, Ala, Phe	Ile
Lys (K)	Arg, 1,4-Диаминомасляная кислота	Arg
Met (M)	Leu, Phe, Ile	Leu
Phe (F)	Leu, Val, Ile, Ala, Tyr	Leu
Pro (P)	Ala	Gly(?)
Ser (S)	Thr, Ala, Cys	Thr
Thr (T)	Ser	Ser
Trp (W)	Tyr, Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp, Phe, Thr, Ser	Phe
Val (V)	Ile, Met, Leu, Phe, Ala, Норлейцин	Leu

В некоторых вариантах изобретения консервативные аминокислотные замены также охватывают неприродные аминокислотные остатки, которые вводятся, как правило, химическим пептидным синтезом, а не синтезом в биологических системах.

Как отмечается в предыдущем разделе "Определение терминов", природные остатки можно разделить на классы на основе общих свойств боковых цепей, которые могут быть применимы для модификации последовательности. Например, неконсервативные замены могут включать замену члена одного из этих классов на член другого класса. Такие заменяющие остатки можно вводить в участки пептида, которые гомологичны ортологам нечеловеческого происхождения, или в негомологичные участки молекулы. Помимо этого, можно также осуществлять модификации, используя R или G с целью влияния на ориентацию цепей.

При проведении таких модификаций можно принимать во внимание гидропатический индекс аминокислот. Каждой аминокислоте приписываются следующее значение гидропатического индекса, исходя из характеристик их гидрофобности и заряда: изолейцин (+4.5); валин (+4.2); лейцин (+3.8); фенилаланин (+2.8); цистеин/цистеин (+2.5); метионин (+1.9); аланин (+1.8); глицин (-0.4); треонин (0.7); серин (-0.8); триптофан (-0.9); тирозин (-1.3); пролин (-1.6); гистидин (3.2); глутамат (-3.5); глутамин (-3.5); аспартат (-3.5); аспарагин (-3.5); лизин (-3.9) и аргинин (-4.5).

Важное значение гидропатического индекса аминокислот для придания белку интерактивной биологической функции понятно из уровня техники. Kyte et al., J. Mol. Biol., 157: 105-131 (1982). Известно, что некоторые аминокислоты, имеющие сходный гидропатический индекс или показатель, сохраняют сходную биологическую активность. При осуществлении изменений на основе гидропатического индекса предпочтительными являются замены на аминокислоты, гидропатический индекс которых находится в интервале ± 2 , более предпочтительными являются аминокислоты, гидропатический индекс которых составляет ± 1 , и ещё более предпочтительными являются аминокислоты, гидропатический индекс которых составляет $\pm 0,5$.

Из уровня техники также понятно, что замену подобных аминокислот можно эффективно осуществить, исходя из гидрофильности. Наибольшая местная средняя гидрофильность белка, на которую оказывает влияние гидрофильность прилегающих аминокислот, коррелируется с его иммуногенностью и антигенностью, т.е. с биологическими свойствами белка.

Следующие величины гидрофильности установлены для аминокислотных остатков: аргинин (+3.0); лизин (+3.0); аспартат ($+3.0 \pm 1$); глутамат ($+3.0 \pm 1$); аспарагин (+0.2); глутамин (+0.2); глицин (0); треонин (-0.4); пролин (-0.5 ± 1); аланин (-0.5); гистидин (-0.5); цистein (-1.0); метионин (1.3); валин (-1.5); лейцин (-1.8); изолейцин (-1.8); тирозин (-2.3); фенилаланин (-2.5); триптофан (-3.4). Для осуществления замен на основе сходных значений гидрофильности предпочтительными являются аминокислотные замены, величины гидрофильности которых находятся в интервале ± 2 , особенно предпочтительны значения ± 1 и наиболее предпочтительны значения гидрофильности в интервале ± 0.5 и даже выше. Можно также идентифицировать эпитопы последовательностей исходя из гидрофильности. Эти области также называют "области эпитопов ядра".

Опытный специалист в данной области техники может детерминировать подходящие варианты полипептида, представленные в приведённых выше последовательностях, используя хорошо известные методы. Для идентификации соответствующих участков молекул, которые можно изменять без изменения активности, специалист в данной области техники может сделать мишенью участки, которые, как полагают, не являются важными для активности. Например, если известны аналогичные (сходные) полипептиды с аналогичными (сходными) активностями одного вида или разных видов, специалист в данной области техники может сравнить аминокислотную последовательность пептида с последовательностями сходных пептидов. При таком сравнении можно идентифицировать консервативные остатки и участки молекул среди сходных полипептидов. Очевидна меньшая вероятность того, что изменения на участках пептида, не являющихся консервативными относительно таких сходных пептидов, оказывают побочное (вредное) действие на биологическую активность и/или структуру пептида. Специалист в данной области техники знает также, что даже в относительно консервативных областях можно химическими методами заменить аналогичные аминокислоты на природные остатки при сохранении активности (консервативные аминокислотные замены). Следовательно, даже на участках, которые могут быть важны для биологической активности или для структуры, можно осуществлять аминокислотные замены, не нарушая биологической активности и не оказывая вредного действия на структуру пептида.

Кроме того, специалист в данной области техники может просмотреть материал исследований структура-свойства (функция), в которых идентифицируются остатки в сходных пептидах, важные для активности структуры. В результате такого сравнения можно прогнозировать значимость аминокислотных остатков в пептиде, которые соответствуют аминокислотным остаткам, важным для активности или структуры аналогичных пептидов. Специалист в данной области техники может выбрать химически сходные аминокислотные замены для таких, как показывает прогноз, важных аминокислотных остатков пептидов.

Специалист в данной области техники может также провести анализ, сравнивая трёхмерную структуру и аминокислотную последовательность с трёхмерной структурой сходных (анalogичных) полипептидов. На основе этой информации специалист в данной области техники может предсказывать первичную структуру (расположение) аминокислотных остатков пептида в соответствии с его трёхмерной структурой. Специалист в данной области техники может выбирать, не внося радикальных изменений в прогнозируемые аминокислотные остатки на поверхности белка, так как такие остатки могут участвовать в важных взаимодействиях с другими молекулами. Кроме того, специалист в данной области техники может создать варианты для тестирования, содержащие одиночную аминокислотную замену каждого заданного аминокислотного остатка. Затем можно провести скрининг вариантов, применяя анализы активности, известные специалистам в данной области техники. Такие данные можно использовать для сбора информации о подходящих вариантах. Например, если обнаруживают, что замена на конкретный аминокислотный остаток приводит в результате к нарушенной, пониженной, без необходимости в этом, или неподходящей активности, варианты с такой заменой следует избегать. Другими словами, на основе информации, собранной в результате таких рутинных экспериментов, специалист в данной области техники может легко определить аминокислоты, дальнейших замен которых, либо самостоятельных, либо в сочетании с другими мутациями, следует избегать.

Ряд научных публикаций посвящен предсказанию вторичной структуры. См. Moult J., Curr. Op., in Biotech., 7(4): 422-427 (1996); Chou et al., Biochemistry, 13(2): 222-245 (1974); Chou et al., Biochemistry, 113(2): 211-222 (1974); Chou et al., Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol., 47: 45-148 (1978); Chou et al., Ann. Rev. Biochem., 47: 281-276 и Chou et al., Biophys. J., 26: 367-384 (1979). Кроме того, в настоящее время доступны компьютерные программы, помогающие предсказывать вторичную структуру. Один из методов предсказания вторичной структуры опирается на моделирование на основе гомологии. Например, два полипептида или белка, последовательности которых идентичны более чем на 30% или подобны более чем на 40%, часто имеют сходную структурную топологию. Наблюдаемый в последнее время рост базы данных по структурам белков (PDB) даёт больше возможностей для предсказания вторичной структуры, включая возможное число складок в структуре полипептида или белка. Holm et al., Nucl. Acid. Res., 27(1): 244-247 (1999). Было высказано предположение (Brenner et al., Curr. Op. Struct. Biol., 7(3): 369-376 (1997)), что в данном полипептиде или белке имеется ограниченное число складок и что когда решено критическое число структур, резко возрастает точность предсказания структуры.

Дополнительные методы предсказания вторичной структуры включают "натягивание нити" (Jones, D., Curr. Opin. Struct. Biol., 7(3): 377-87 (1997); Sippl et al. Structure, 4(1): 15-9 (1996)), "анализ профиля" (Bowie et al., Science 253: 164-170 (1991); Grabskov et al., Meth. Enzym., 183: 146-159 (1990); Grabskov et al., Proc. Nat. Acad. Sci., 84(13): 4355-8 (1987)), и "эволюционное связывание" (Home (?), см. выше, и Brenner, см. выше).

Носители.

По данному изобретению требуется присутствие по меньшей мере одного носителя (V^1), присоединённого к пептиду по N-концу, C-концу или по боковой цепи одного из аминокислотных остатков. Можно использовать также несколько носителей; например, домены Fc на каждом конце или Fc на конце ПЭГ - группу на другом конце или в боковой цепи. Примеры носителей включают в себя

Fc домен;

другие белки, полипептиды или пептиды, способные связываться с «сальваж» (salvage)-рецептором; человеческий сывороточный альбумин (HSA);
домен лейциновой молнии (LZ);

полиэтиленгликоль (ПЭГ), включая ПЭГ протяжённостью 5, 20 и 30 кДа, а также другие полимеры; декстран и

другие молекулы, о которых из уровня техники известно, что они применяются для увеличения периода полужизни и/или для защиты от протеолитического распада или клиренса.

Предпочтительным носителем является Fc домен. Fc домен может сливаться по N- или C-концу пептидов или по обоим концам, N и C. Предпочтительным является слияние по N-концу.

Как указывается выше, Fc варианты представляют собой подходящие носители в объёме данного изобретения. Нативный Fc может быть значительно модифицирован, при этом образуется Fc вариант по данному изобретению при условии, что сохраняется связывание с "сальваж"-рецептором; см., например, Международные заявки WO 97/34631 и WO 96/32478. В таких Fc вариантах можно удалить один или более сайтов нативного Fc, которые придают структурные признаки или функциональную активность, не требующиеся от слитых молекул по изобретению. Можно удалять эти сайты, например, заменой или удалением (делеции) остатков, встраиванием (инсерции) остатки в сайт или отсечением участков, содержащих сайт. Встроенные или заменённые остатки могут также представлять собой изменённые аминокислоты, такие как пептидомиметики или D-аминокислоты. Fc варианты могут быть желательны по многим причинам, некоторые из которых приведены ниже. Примеры Fc вариантов включают молекулы и последовательности, в которых:

1. Сайты, участвующие в образовании дисульфидной связи, удаляются. Такое удаление позволяет избежать реакции с цистеинсодержащими белками, присутствующими в клетке-хозяине, используемой для получения молекул по изобретению. С этой целью цистеинсодержащий сегмент на N-конце можно отсечь или можно цистеиновый остаток вырезать или заменить на другие аминокислоты (например, аланил, серил). В частности, можно отрезать N-концевой сегмент SEQ ID NO: 2, содержащий 20 аминокислот, или делетировать или заменить цистеиновые остатки в положениях 7 и 10 SEQ ID NO: 2. Даже когда удаляют цистеиновые остатки, одноцепочечный Fc домен всё ещё может образовывать димерный Fc домен, который удерживается вместе за счёт нековалентной связи.

2. Нативный Fc модифицируют, чтобы сделать его более совместимым с отобранной клеткой-хозяином. Например, можно удалить последовательность РА близ N-конца типичного нативного Fc, который можно распознать с помощью пищеварительного фермента в E.coli, такого как иминопептидаза. Можно также добавить N-концевой остаток метионина, особенно, когда молекула рекомбинантно экспрессирует в бактериальной клетке, такой как E.coli. Fc домен последовательности SEQ ID NO: 2 представляет собой один из таких Fc вариантов.

3. Участок N-конца нативного Fc удаляют, чтобы предупредить N-концевую гетерогенность при экспрессии в выбранной клетке-хозяине. С этой целью можно делетировать любой из первых 20 аминокислотных остатков на N-конце, в частности аминокислотные остатки в положениях 1, 2, 3, 4 и 5.

4. Удаляют один или более сайтов гликозилирования. Остатки, которые, как правило, гликозилируются (например, аспарагин), могут провоцировать цитолитическую реакцию. Такие остатки можно дегидратировать или заменять на негликозилируемые остатки (например, аланин).

5. Сайты, участвующие во взаимодействии с комплементом, такие как сайт связывания C1q, удаляют. Например, можно дегидратировать или заменить последовательность ЕКК человеческого IgG1. Восстановление дефицита комплемента может быть невыгодным для молекул по данному изобретению и поэтому его следует избегать в случае такого Fc варианта.

6. Удаляют сайты, которые влияют на связывание с рецептором Fc, иным, нежели "сальваж"-рецептор. Нативный Fc может содержать сайты для взаимодействия с некоторыми лейкоцитами, это взаимодействие не требуется для слитых молекул по данному изобретению и поэтому эти сайты могут быть удалены.

7. Удаляют сайт ADCC. Сайты ADCC известны в технике; см., например, Molec. Immunol. 29 (5): 633-9 (1992) относительно сайтов ADCC в IgG1. Эти сайты также не нужны для слитых молекул по данному изобретению и поэтому могут быть удалены.

8. Когда нативный Fc происходит из нечеловеческого антитела, нативный Fc можно гуманизировать. Как правило, для гуманизации нативного Fc заменяют выбранные остатки нечеловеческого нативного Fc на остатки, которые обычно находятся в человеческом нативном Fc. Методы гуманизации антител хорошо известны в технике.

Предпочтительные Fc варианты включают следующие. В последовательности SEQ ID NO: 2 (фиг. 3) лейцин в положении 15 можно заменить на глутамат; глутамат в положении 99 можно заменить на аланин; а остатки лизина в положениях 101 и 103 можно заменить на остатки аланина. Кроме того, один или более остатков тирозина можно заменить на остатки фенилаланина.

Альтернативным носителем является белок, полипептид, пептид, антитело, фрагмент антитела или малая молекула (например, пептидомиметик), способные связываться с "сальваж-рецептором". Например, можно использовать в качестве носителя полипептид, как описано в патенте США 5739277, выданный 14 апреля 1998 г. Presta et al. Пептиды можно также отбирать методом фагового дисплея или РНК-пептидным скринингом на связывание с "сальваж"-рецептором FcRn. Такие соединения, связывающие "сальваж"-рецептор, также охватываются термином "носитель" и входят в объём данного изобретения. Такие носители отбирают по продолжительному периоду полужизни (например, избегая последовательностей, распознаваемых протеазами) и по пониженной иммуногенности (например, предпочтая неиммуногенные последовательности, как описывается при гуманизации антител).

Как отмечается выше, полимерные носители могут также применяться для V¹. В настоящее время известны различные способы присоединения химических фрагментов, применимых в качестве носителей, см., например, Международную заявку PCT WO 96/11953, озаглавленную "N-Terminally Chemically Modified Protein Compositions and Methods", вводимую в данное описание ссылкой во всей полноте. В этой публикации PCT среди прочего описано селективное присоединение водорастворимых полимеров по N-концу белков.

Предпочтительным полимерным носителем является полиэтиленгликоль (ПЭГ). Группа ПЭГ может иметь любой подходящий молекулярный вес и может быть линейной или разветвлённой. Средний молекулярный вес ПЭГ предпочтительно находится в интервале примерно от 2 до 100 кДа, более предпочтительно примерно от 5 до 50 кДа, наиболее предпочтительно примерно от 5 до 10 кДа. Группы ПЭГ, как правило, присоединяются к соединениям по изобретению ацилированием или восстановительным алкилированием за счёт реакции реакционноспособной группы во фрагменте ПЭГ (например, альдегидная, амино, тиольная или сложноэфирная группа) с реакционноспособной группой соединения по изобретению (например, альдегидной, амино или сложноэфирной группой).

Применяемая стратегия ПЭГирования синтетических пептидов заключается в соединении, за счёт образования сопряжённой связи в растворе, пептидного и ПЭГ-фрагментов, при этом каждый из них несет определённую функциональную группу, реакционноспособную в отношении другой группы. Пептиды просто получают обычным твердофазным синтезом. Пептиды "предварительно активируют" с помощью соответствующей функциональной группы в конкретном сайте. Предшественники очищают и полностью характеризуют перед реакцией с фрагментом ПЭГ. Сшивание пептида с ПЭГ, как правило, происходит в водной фазе, и его контролируют обращённо-фазовой аналитической ВЭЖХ. ПЭГированные пептиды просто очищаются препаративной ВЭЖХ и характеризуются аналитической ВЭЖХ, аминокислотным анализом и лазерно-десорбционной масс-спектрометрией.

Полисахариды представляют собой другой тип водорастворимого полимера, который можно применять для модификации белков. Декстраны представляют собой полисахариды, состоящие из отдельных субъединиц глюкозы, связанных преимущественно α 1-6связями. Сам по себе декстрран существует в виде молекул, молекулярный вес которых меняется в большом интервале, и легко доступен декстрран с молекулярным весом примерно от 1 до 70 кДа. Декстрран является подходящим водорастворимым полимером для применения по данному изобретению в качестве носителя, самостоятельно или в комбинации с другим носителем (например, Fc). См., например, Международные заявки WO 96/11953 и WO 96/05309. Сообщалось о применении декстразана, коньюгированного с терапевтическими или диагно-

стическими иммуноглобулинами; см., например, Европейский патент № 0315456, который вводится ссылкой в данное описание во всей полноте. Когда декстран применяется в качестве носителя по данному описанию, предпочтительным является декстран примерно от 1 до 20 кДа.

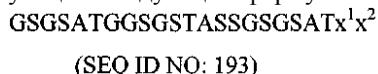
Линкеры.

Любая "линкерная" группа является необязательной. Если эта группа присутствует, её химическое строение не важно, так как прежде всего она служит в качестве спейсера. Линкер предпочтительно состоит из аминокислот, связанных вместе пептидными связями. Так, в предпочтительных вариантах изобретения линкер состоит из 1-30 аминокислот, связанных пептидными связями, причём аминокислоты выбирают из 20 природных аминокислот. Некоторые из этих аминокислот могут быть гликозилированными, что хорошо понимают специалисты в данной области техники. В более предпочтительных вариантах изобретения аминокислоты от 1 до 20 выбирают из глицина, аланина, пролина, аспарагина, глутамина и лизина. Ещё более предпочтительно, когда линкер выбирают из большинства стерически незатруднённых аминокислот, таких как глицин и аланин. Так, предпочтительными линкерами являются полиглицины (в частности, (Gly)₄, (Gly)₅), полигly-Ala и полиаланины. Другими специфическими линкерами являются

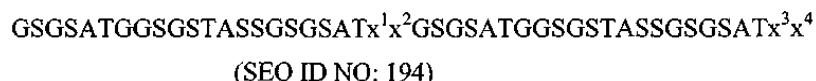
(Gly)₃Lys(Gly)₄ (SEQ ID NO: 40);
 (Gly)₃AsnGlySer(Gly)₂ (SEQ ID NO: 41);
 (Gly)₃Cys(Gly)₄ (SEQ ID NO: 42); и
 GlyProAsnGlyGly (SEQ ID NO: 43).

Пояснение к номенклатуре вышеприведённых соединений: например, (Gly)₃Lys(Gly)₄ обозначает Gly-Gly-Gly-Lys-Gly-Gly-Gly-Gly (SEQ ID NO: 40). Также предпочтительными являются комбинации Gly и Ala. Приведённые здесь линкеры являются примерами; линкеры, входящие в объём данного изобретения, могут быть значительно длиннее и могут включать другие остатки.

Предпочтительными линкерами являются аминокислотные линкеры, содержащие более 5 аминокислот, при этом подходящие линкеры содержат около 500 аминокислот, выбираемых из глицина, аланина, пролина, аспарагина, глутамина, лизина, треонина, серина и аспартата. Наиболее предпочтительными являются линкеры, содержащие около 20-50 аминокислот. Одну группу предпочтительных линкеров составляют линкеры, соответствующие следующим формулам:



и



где x¹ и x³, каждый независимо, обозначают основные или гидрофобные остатки, а x² и x⁴, каждый независимо, обозначают гидрофобные остатки.

Конкретные предпочтительные линкеры суть



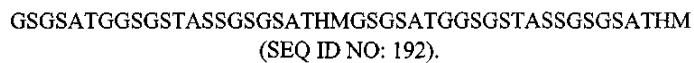
(SEQ ID NO: 59)



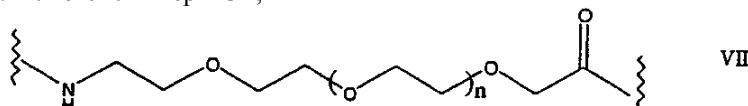
(SEQ ID NO: 190)



(SEQ ID NO: 191) и



Возможны также непептидные линкеры. Например, алкильные линкеры, такие как -NH-(CH_s)_s-C(O)-, где можно использовать значение s=2-20. Эти алкильные линкеры могут дополнитель но иметь в качестве заместителя любую пространственно незатруднённую группу, такую как низший алкил (например, C₁-C₆), низший ацил, галоген (например, Cl, Br), CN, NH₂, фенил и т.д. Примером непептидного линкера является линкер ПЭГ,



где n имеет такое значение, что молекулярный вес равен от 100 до 5000 кДа, предпочтительно 100-500 кДа.

Пептидные линкеры можно варьировать, образуя производные описанным выше способом.

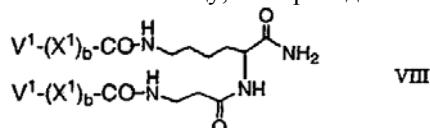
Производные.

Авторы также рассматривают дериватизацию пептидной области соединений и/или области соеди-

нений, являющуюся носителем. Такие производные позволяют повысить растворимость, абсорбцию, биологический период полужизни и т.п. соединений. Фрагменты можно либо элиминировать, либо ослаблять любой нежелательный побочный эффект соединения и т.п. Примеры производных включают соединения, в которых:

1) соединение или некий его участок является циклическим. Например, пептидный участок можно модифицировать таким образом, чтобы он содержал два или более Cys остатков (например, линкер), которые могут циклизоваться с образованием дисульфидной связи;

2) соединение является спищим или его молекулы способны образовывать перекрёстные связи (спшивание). Например, пептидный участок можно модифицировать таким образом, чтобы он содержал Cys остаток и поэтому мог образовывать межмолекулярную дисульфидную связь с аналогичной молекулой. Соединение может также спиваться по С-концу, как приведённая ниже молекула



В формуле VIII каждый из "V¹" может, как правило, обозначать одну нить домена Fc;

3) одна или более пептидильных [-C(O)NR-] связей (фрагментов) замещается на непептидильную связь. Примерами непептидильных связей являются -CH₂-карбамат [-CH₂-OC(O)NR-], фосфонат, -CH₂-сульфонамид [-CH₂S(O)₂NR-], мочевина [-NHC(O)NH], -CH₂-вторичный амин и алкилированный пептид [-C(O)NR⁶, где R⁶ обозначает низший алкил];

4) N-конец дериватизирован. Как правило, N-конец может быть ацилирован или модифицирован превращением в соответствующий амин. Примеры производных N-концевых групп включают -NRR¹ (иной, нежели -NH₂), -NRC(O)R¹, -NRC(O)OR¹, -NHS(O)₂R¹, -NHC(O)NHR¹, сукцинимид или бензилоксикарбонил -NH-(CBZ-NH), в которых R и R¹, каждый независимо, обозначают водород или низший алкил и фенильное кольцо может иметь от 1 до 3 заместителей, выбираемых из группы, состоящей из C₁-C₄алкила, C₁-C₄алкокси, хлора и брома;

5) свободный С-конец дериватизирован. Как правило, С-конец этерифицируют или амидируют (превращают в амид). Примеры производных С-концевых групп включают -C(O)R², где R² обозначает низший алкокси, или -NR³R⁴, где R³ и R⁴, независимо, обозначают водород или C₁-C₈алкил (предпочтительно, C₁-C₄алкил);

6) дисульфидный мостик заменяют другим, предпочтительно, более устойчивым спивающим фрагментом (например, алкиленовым мостиком). См., например, Bhatnagar et al. (1996), J. Med. Chem. 39: 3814-9; Alberts et al. (1993) Thirteen Am. Pep. Symp., 357-9;

7) один или более отдельных аминокислотных остатков модифицирован. Известны различные дериватизирующие агенты, которые специфически реагируют с выбранными боковыми цепями или концевыми остатками, как подробнее описано ниже.

Лизинильные остатки или аминоконцевые остатки могут реагировать с ангидридами янтарной или других карбоновых кислот, которые меняют на обратный заряд лизинильных остатков. Другие подходящие реагенты для дериватизации альфа-аминосодержащих остатков включают имидоэфиры, такие как метилпиколинимидат; пиридоксальфосфат; пиридоксаль; хлорборогидрид; тринитробензолсульфокислоту; O-метилизомочевину; 2,4-пентандион и катализируемую трансаминацией реакцию с глиоксилатом.

Аргинильные остатки могут быть модифицированы реакцией с любым или с комбинацией нескольких обычных реагентов, включая фенилглиоксаль, 2,3-бутандион, 1,2-циклогександион и нингидрин. Дериватизация аргинильных остатков требует, чтобы реакцию проводили в щелочной среде вследствие высокого значения рKa функциональной группы гуанидина. Кроме того, эти реагенты могут реагировать с группами лизина, а также с эпсилон-аминогруппой аргинина.

Очень тщательно изучалась специфическая модификация тирозильных остатков, при этом особый интерес вызвало введение спектральных меток в тирозильные остатки по реакции с ароматическими диазониевыми соединениями или тетранитрометаном. Чаще всего используют N-ацетилимидазол и тетранитрометан для образования O-ацетилтирозильных фрагментов и 3-нитропроизводных соответственно.

Карбоксильные группы боковых цепей (аспарагил или глутамил) можно селективно модифицировать реакцией с карбодиимидами (R'-N=C=N-R'), например с 1-циклогексил-3-(2-морфолинил)-(4-этил)-карбодиимидом или с 1-этил-3-(4-азония-4,4-диметилпентил)карбодиимидом. Кроме того, остатки аспарагил и глутамил могут быть превращены в аспарагинильный и глутамильный остатки реакцией с ионами аммония.

Глутамильный и аспарагинильный остатки можно дезаминировать до соответствующих глутамильного и аспарагильного остатков или же можно дезаминировать в слабокислой среде. Любая форма этих остатков входит в объём данного изобретения.

Цистеинильные остатки могут быть замещены аминокислотными остатками или другими фрагментами либо с целью элиминировать дисульфидный мостик, либо, наоборот, стабилизировать спшивание (молекул). См., например, Bhatnagar et al. (1996), J. Med. Chem. 39: 3814-9.

Дериватизация с помощью бифункциональных агентов применима для перекрёстного связывания (сшивания) пептидов или их функциональных производных с нерастворимой в воде подложкой (матрикс) или с другими макромолекулярными носителями. Общеупотребительные агенты для сшивания включают, например, 1,1-бис-(диазоацетил)-2-фенилэтан, глутаральдегид, N-гидрокси-сукцинимидоэфиры, эфиры 4-азидосалициловой кислоты, гомобифункциональные имидоэфиры, включая дисукцинимидильные эфиры, такие как 3,3'-дитиобис-(сукцинимидилпропионат), и бифункциональные малеинимиды, такие как бис-N-малеинимидо-1,8-октан.

Дериватизирующие агенты, такие как метил-3-[(п-азидофенил)дитио]пропиоимидат, дают фотоактивируемые интермедиаты, которые способны сшиваться на свету. Или же для иммобилизации белков используют реакционноспособные нерастворимые в воде матрицы, такие как активируемые цианогенбромидом углеводы и реакционноспособные субстраты, описанные в патентах США № 3969287; 3691016; 4195128; 4247642; 4229537 и 4330440, применяют для иммобилизации белка.

Углеводные (олигосахаридные) группы удобно присоединять к сайтам, известным как сайты гликозилирования в белках. Как правило, O-связанные олигосахариды присоединяются к остаткам серина (Ser) или треонина (Thr), тогда как N-связанные олигосахариды присоединяются к остаткам аспарагина (Asn), когда они являются частью последовательности Asn-X-Ser/Thr, где X может быть любой аминокислотой, кроме пролина. X предпочтительно является одной из 19 природных аминокислот, кроме пролина. Структура N-связанных и O-связанных олигосахаридов и остатков сахаров, обнаруживаемых в каждом типе, различна. Один тип сахаров, который обычно находят в обоих случаях, представляет собой N-ацетилнейраминовую кислоту (называемую сиаловой кислотой). Сиаловая кислота является обычно концевым остатком как N-связанных, так и O-связанных олигосахаридов и, вследствие своего отрицательного заряда, может придавать кислые свойства гликозилированному соединению. Такой(ие) сайт(ы) можно включать в линкер соединений по данному соединению и предпочтительно гликозилировать при участии клетки в процессе рекомбинантного продуцирования полипептидных соединений (например, в клетках млекопитающих, таких как СНО, ВНК, COS). Однако такие сайты можно дополнительно гликозилировать синтетическими или полусинтетическими методами, известными в технике.

Другие возможные модификации включают гидроксилирование пролина и лизина, фосфорилирование гидроксильных групп остатков серильного или треонильного остатков, окисление атома серы в Cys, метилирование альфа-аминогрупп боковых цепей лизина, аргинина и гистидина. Creighton, Proteins: Structure and Molecule Properties (W.H. Freeman & Co., San Francisco), p. 79-86 (1983).

Соединения по данному изобретению можно также изменять на уровне ДНК. Последовательность ДНК любого участка соединения можно изменять на кодоны, более совместимые с выбранной клеткой-хозяином. Для E.coli, которая является предпочтительной клеткой-хозяином, оптимизированные кодоны известны из уровня техники. Кодоны могут быть замещены таким образом, чтобы убрать сайты рестрикции или ввести молчащие сайты рестрикции, которые могут способствовать процессированию ДНК в выбранной клетке-хозяине. Последовательности носителя, линкера и ДНК пептида могут быть модифицированы таким образом, чтобы включить любые из вышеуказанных изменений в последовательностях.

Методы получения.

Главным образом, соединения по данному изобретению можно получать в трансформированной клетке-хозяине, используя метод рекомбинантной ДНК. Чтобы это осуществить, получают молекулу рекомбинантной ДНК, кодирующую пептид. Методы получения таких молекул ДНК хорошо известны в технике. Например, последовательности, кодирующие пептиды, можно вырезать из ДНК, используя подходящие рестриктазы, или же молекулу ДНК можно синтезировать методами химического синтеза, такими как метод с применением фосфорамидатов. Также можно применять комбинацию этих методов.

Изобретение также включает вектор, способный экспрессировать пептиды в соответствующем хозяине. Вектор содержит молекулу ДНК, которая кодирует пептиды, функционально связанные с последовательностью, контролирующей экспрессию. Методы осуществления этого функционального связывания до или после того, как молекула ДНК будет встроена в вектор, хорошо известны. Последовательности, контролирующие экспрессию, включают промоторы, активаторы, энхансеры, операторы, сайты связывания рибосом, инициирующие кодоны (сигналы), терминирующие кодоны (сигналы), кэпы, сигналы полиаденилирования и другие сигналы, участвующие в регуляции транскрипции или трансляции.

Полученный вектор, содержащий в себе молекулу ДНК, применяют для трансформации соответствующего хозяина. Эту трансформацию можно осуществлять хорошо известными в технике методами.

Для применения на практике данного изобретения можно использовать любые из большого числа доступных и хорошо известных клеток-хозяев. Выбор конкретного хозяина зависит от ряда факторов, известных в технике. Эти факторы включают, например, совместимость с выбранным вектором экспрессии, токсичность пептидов, кодируемых молекулой ДНК, скорость трансформации, лёгкость регенерации пептидов, показатели (характеристики) экспрессии, био-безопасность и стоимость. При рассмотрении этих факторов следует понимать, что не все хозяева могут быть одинаково эффективны для экспрессии конкретной последовательности ДНК. В свете этих общих принципов пригодные хозяева микробного происхождения включают бактериальные (такие как E.coli sp.), дрожжевые (такие как Saccharomyces

sp.) и другие клетки, такие как грибковые клетки, клетки насекомых, растений, млекопитающих (включая человека) в культуре, или другие хозяева, известные в технике.

Затем трансформированные клетки-хозяева культивируют и очищают. Клетки-хозяева культивируют в условиях обычной ферментации таким образом, что экспрессируют заданные соединения. Такие условия ферментации хорошо известны в технике. Наконец, пептиды очищают от культур хорошо известными в технике методами.

Эти соединения можно также получать синтетическими методами. Например, можно использовать методы твердофазного синтеза. Соответствующие методы хорошо известны в технике и включают методы, описанные в Merrifield (1973), Chem. Polypeptides, p. 335-61 (Katsoyannis and Panayotis eds.); Merrifield (1963), J. Am. Chem. Soc. 85: 2149; Davis et al. (1985), Biochem. Intl. 10: 394-414; Stewart and Young (1969), Solid Phase Peptide Synthesis; патент США. 3941763; Finn et al. (1976), The Proteins (3rd ed.) 2: 105-253; и Erickson et al. (1976), The Proteins (3rd ed.) 2: 257-527. Твердофазный синтез является предпочтительным методом получения индивидуальных пептидов, так как это самый рентабельный метод получения малых пептидов.

Соединения, содержащие дериватизированные пептиды или содержащие непептидные группы, можно синтезировать хорошо известными в органической химии синтетическими методами.

Применение соединений.

Соединения по данному изобретению могут быть особенно полезны для лечения аутоиммунных заболеваний, опосредуемых В-клетками. В частности, соединения по данному изобретению могут применяться для лечения, предупреждения, ослабления, диагноза или прогноза волчанки, включая системную красную волчанку (SLE) и связанные с волчанкой заболевания и состояния. Другие предпочтительные показания включают опосредуемые В-клетками разновидности рака, включая В-клеточную лимфому.

Соединения по данному изобретению можно также использовать для лечения воспаления суставов. Воспаления суставов представляют собой хронические заболевания суставов, которые поражают и делают нетрудоспособными, в различной степени, миллионы людей во всём мире. Ревматоидный артрит является заболеванием соединительных суставов, в которых хрящ и кость медленно разрушаются под действием пролиферативной, инвазивной ткани, называемой паннус, образующейся из синовиальной мембранны. Заболевание может затрагивать околосуставные структуры, такие как сумки, оболочки сухожилий и оболочки, а также внесуставные ткани, такие как подкожный слой, сердечно-сосудистая система, лёгкие, селезёнка, лимфатические узлы, скелетные мышцы, нервная система (центральная и периферическая) и глаза (Silberberg (1985), Anderson's Pathology, Kissane (ed.), II: 1828). Остеоартрит представляет собой общее заболевание суставов, характеризующееся дегенеративными изменениями в соединительном хряще и реактивным разрастанием кости и хряща вокруг сустава. Остеоартрит является опосредуемым клетками активным процессом, который может возникать в результате неадекватной реакции хондроцитов на катаболические и анаболические раздражители. Как сообщают, на ранней стадии остеоартрита происходят изменения в некоторых молекулах скелета соединительного хряща (Thionar et al. (1993), Rheumatic disease clinics of North America, Moskowitz (ed.), 19: 635-657 и Shinmei et al. (1992), Arthritis Rheum., 35: 1304-1308). Полагают, что TALL-1, TALL-1R и их модуляторы применимы для лечения этих и родственных состояний.

Соединения по данному изобретению можно также применять при лечении ряда других заболеваний и состояний, включая

острый панкреатит;

ALS;

болезнь Альцгеймера;

астму;

атеросклероз;

автоиммунную гемолитическую анемию;

рак, в особенности разновидности рака, связанные с В-клетками;

кахексию/анорексию;

синдром хронической усталости;

цирроз (например, первичный билиарный цирроз печени);

диабет;

лихорадку;

гломерулонефрит, включая IgA гломерулонефрит и первичный гломерулонефрит;

синдром Гудпасчера;

синдром Гийена-Барре-Штроля;

гомологичную болезнь;

тиреоидит Хашимото;

геморрагический шок;

гипералгезию;

воспалительное заболевание кишечника;

воспаления сустава, включая остеоартрит, псoriазный артрит и ревматоидный артрит;

воспаления, возникающие в результате деформации, растяжения, поражения хряща, травмы, ортопедической хирургической операции, инфекции или других болезненных процессов;

инсулинзависимый сахарный диабет;

ишемическое поражение, включая церебральную ишемию (например, поражение мозга в результате травмы, эпилепсию, кровотечение или удар, каждый из которых может привести к нейродегенерации);

ухудшение учёбы;

болезни лёгких (например, РДСВ (ARDS));

множественную миелому;

рассеянный склероз;

тяжёлую псевдопаралитическую миастению;

миелогенные (например, AML и CML) и другие виды лейкоза;

миопатию (например, метаболизм белка в мышцах, особенно при сепсисе);

нейротоксичность (например, вызываемую ВИЧ);

остеопороз;

боль;

болезнь Паркинсона;

пузырчатку;

полимиозит/дерматомиозит;

воспаление лёгких, включая аутоиммунное лёгочное заболевание;

преждевременные роды;

псориаз;

болезнь Рейтера;

поражение при реперфузии;

септический шок;

побочное действие лучевой терапии;

синдром Шегрена;

нарушение сна;

временное заболевание височно-нижнечелюстного сустава;

тромбоцитопению, включая идиопатическую тромбоцитопению и аутоиммунную тромбоцитопению новорождённых;

метастазы при опухоли;

увеит и

васкулит.

Соединения по данному изобретению можно вводить самостоятельно или в комбинации с терапевтически эффективным количеством других лекарственных веществ, включая анальгетики, противоревматические лекарственные препараты, облегчающие течение болезни (DMARD), нестероидные противовоспалительные лекарственные препараты (НСПВП, NSAID) и любые иммунные модуляторы и/или модуляторы воспалительных процессов. Так, соединения по данному изобретению можно вводить с

модуляторами или другими членами семейства TNF/рецепторы TNF, включая антагонисты TNF, такие как этанерцепт (EnbrelTM), sTNF-RI, онерцепт (oncept), D2E7 и RemicadeTM;

модуляторами фактора роста нервной ткани (NGF);

ингибиторами IL-1, включая молекулы IL-1ra, такие как анакинра и молекулы открытых позднее IL-1Hу1 и IL-1Hу2; молекулы для "улавливания" IL-1, описанные в патенте США № 5844099, выданном 1 декабря 1998 г.; антитела к IL-1; солюбилизированный рецептор IL-1 и т.п.;

ингибиторами IL-6 (например, антителами к IL-6);

ингибиторами IL-8 (например, антителами к IL-8);

ингибиторами IL-18 (например, IL-18 связывающим белком, солюбилизированным IL-18 рецептором или антителами к IL-18);

модуляторами интерлейкин-1 - превращающего фермента (ICE);

инсулиноподобными факторами роста (IGF-1, IGF-2) и их модуляторы;

трансформирующими фактором роста β (TGF- β , TФР- β), членами семейства TGF- β и модуляторами TGF- β ;

факторами роста фибробластов FGF-1-FGF-10 и модуляторами FGF;

остеопротегерином (OPG), аналогами OPG, остеопротективными агентами и антителами к OPG-лиганду (OPG-L);

костными анаболическими агентами, такими как паратиреоидный гормон (PTH), фрагментами PTH и молекулами, включающими фрагменты PTH (например, PTH (1-34)-Fc);

антагонистами PAF;

фактором роста кератиноцитов (KGF), KGF-родственными молекулами (например, KGF-2) и модуляторами KGF;

ингибиторами COX-2, такими как CelebrexTM и VioxxTM;

аналогами простагландинов (например, простагландины группы Е);
 модуляторами матриксных металлопротеиназ (ММР);
 модуляторами синтазы оксида азота (NOS), включая модуляторы индуцибелльной NOS;
 модуляторами глюкокортикоидного рецептора;
 модуляторами глутаматного рецептора;
 модуляторами уровней липополисахаридов (LPS);
 и ротивораковые агенты, включая ингибиторы онкогенов (например, fos, jun).

Фармацевтические композиции

Общие замечания.

Настоящее изобретение также включает способы применения фармацевтических композиций соединений по изобретению. Такие фармацевтические композиции могут применяться в виде инъекций или в виде форм для орального, лёгочного, назального, трансдермального или других способов введения. В целом данное изобретение охватывает фармацевтические композиции, содержащие эффективные количества соединения по изобретению вместе с фармацевтически приемлемыми растворителями (разбавителями), консервантами, солюбилизирующими веществами, эмульгаторами, адьювантами и/или носителями. Такие композиции включают разбавители, содержащие различные буферные системы (например, Tris-HCl, ацетат, фосфат), имеющие различное значение pH и различную ионную силу; добавки, такие как детергенты и солюбилизирующие агенты (например, Tween 80, Polysorbate 80), антиоксиданты (например, аскорбиновая кислота, метабисульфит натрия), консерванты (например, тимерсол, бензиловый спирт) и наполнители (например, лактоза, маннит); включение материала в конкретные препараты полимерных соединений, такие как полимер молочной кислоты, полигликолевая кислота, или в липосомы. Можно применять гиалуроновую кислоту, это может вызвать пролонгированное действие в процессе кровообращения. Такие композиции могут влиять на физическое состояние, стабильность, скорость высвобождения *in vivo* и скорость *in vivo* клиренса белков и производных по данному изобретению. См., например, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed. (1990, Mack Publishing Co., Easton PA 18042), р. 1435-1712, которые вводятся в данное описание в качестве ссылки во всей полноте. Композиции можно приготовить в жидкой форме или в виде сухого порошка, например в лиофилизированной форме. Также рассматриваются имплантируемые препараты пролонгированного действия в качестве трансдермальных препаратов.

Оральные лекарственные формы.

В данном описании рассматриваются оральные твёрдые лекарственные формы, общее описание которых даётся в главе 89 Remington's Pharmaceutical Sciences (1990), 18th Ed., Mack Publishing Co., Easton PA 18042, которая вводится в данное описание в качестве ссылки во всей полноте. Твёрдые лекарственные формы включают таблетки, капсулы, пилюли, пастилки или лепёшки, крахмальные облатки или гранулы. Также композиции по данному изобретению можно готовить инкапсулированием в липосомы или в протеиноиды (например, в виде протеиноидных микросфер, описанных в патенте США № 4925673). Можно применять липосомное инкапсулирование и липосомы могут быть дериватизированы с помощью различных полимеров (см., например, патент США № 5013556). Описание возможных твёрдых лекарственных форм для применения в терапии дано в главе 10 книги Marshall, K., Modern Pharmaceutics (1979), под редакцией G.S. Bunker и C.T. Rhodes, которая вводится в данное описание в качестве ссылки во всей полноте. Как правило, препарат включает соединение по изобретению и инертные ингредиенты, которые способствуют защите от желудочной среды и высвобождению биологически активного вещества в кишечнике.

Также конкретно рассматриваются оральные лекарственные формы вышеуказанных соединений по изобретению. Необходимо, чтобы соединения были химически модифицированы, так чтобы доставка через рот была эффективной. В целом, рассматриваемая химическая модификация представляет собой такое связывание по меньшей мере одного фрагмента с самой молекулой, которое способствует (а) ингибированию протеолиза и (б) попаданию (всасывание) в кровоток из желудка или кишечника. Желательным также является повышение общей стабильности соединения и повышение времени циркуляции в организме. Также для этой цели можно применять фрагменты (частицы), используемые в качестве ковалентно связанных носителей по данному изобретению. Примеры таких частиц включают ПЭГ, сополимеры этиленгликоля и пропиленгликоля, карбоксиметилцеллюозу, декстран, поливиниловый спирт, поливинилпирролидон и полипролин. См., например, Abuchowski and Davis, Soluble Polymer-Enzyme Adducts, Enzymes as Drugs (1981), Hocenberg and Roberts, eds., Wiley-Interscience, New York, NY, p. 367-83; Newmark, et al. (1982), J. Appl. Biochem. 4; 185-9. Другими полимерами, которые можно использовать, являются поли-1,3-диоксолан и поли-1,3,6-тиоксокан. Предпочтительными для применения в фармацевтике, как указывается выше, являются фрагменты ПЭГ.

Для пероральной доставки лекарственных форм можно также применять соль модифицированной алифатической аминокислоты, такой как N-(8-[2-гидроксибензоил]амино)каприлат (SNAC), в качестве носителя для повышения всасывания терапевтических соединений по данному изобретению. Клиническая эффективность препарата гепарина, содержащая SNAC, продемонстрирована в фазе II исследования, проводимого Emisphere Technologies. См. патент США № 5792451 "Композиции и методы для

(пер)оральной доставки лекарственных веществ".

Соединения по данному изобретению могут включаться в препарат в качестве тонких микрочастиц в форме гранул или шариков размером частиц около 1 мм. Материал для введения в виде капсул можно готовить в виде порошка, слегка прессованной порошковой массы или даже в виде таблеток. Терапевтический препарат можно приготовить прессованием.

Также могут быть включены красители и вкусовые добавки. Например, можно приготовить белок (или производное) (например, для инкапсулирования в липосомы или микросфера), а затем добавить в пищевой продукт, такой как охлаждённый напиток, содержащий красители и вкусовые добавки.

Можно разбавить или увеличить объём соединения по изобретению, добавляя инертное вещество. Эти разбавители могут включать углеводы, в особенности маннит, α -лактозу, безводную лактозу, целлюлозу, сахарозу, модифицированные декстраны и крахмал. В качестве наполнителей можно также использовать некоторые неорганические соли, включая трифосфат кальция, карбонат магния и хлорид натрия. Fast-Flo, Emdex, STA-Rx 1500, Emcompress и Avicell представляют собой некоторые промышленные разбавители.

В терапевтический препарат в виде твёрдой лекарственной формы можно включать дезинтегранты. Вещества, используемые в качестве дезинтегрантов, включают, но без ограничения, крахмал, в том числе промышленный дезинтегрант на основе крахмала, Explotab, "натрий крахмал гликолят", амберлит, натрий карбоксиметилцеллюлозу, "ультрамилопектин", альгинат натрия, желатин, апельсинную корку, кислую карбоксиметилцеллюлозу, природную губку и бентонит. Другую форму дезинтегрантов представляют нерастворимые катионаобменные смолы. В качестве дезинтегрантов и связующих можно использовать порошкообразные смолы, такие как агар, камедь карай или трагаканта. Также в качестве дезинтегрантов применимы альгиновая кислота и её натриевая соль.

Для удерживания терапевтического агента в препарате в виде твёрдой таблетки могут применяться связующие, которые включают вещества из природных продуктов, такие как акация, трагакант, крахмал и желатин. Другие связующие включают метилцеллюлозу (МС), этилцеллюлозу (ЕС) и карбоксиметилцеллюлозу (СМС). Для грануляции терапевтического препарата могут применяться спиртовые растворы как поливинилпирролидона (PVP), так и гидроксипропилметилцеллюлозы (НРМС).

В состав терапевтического препарата может также входить антифрикционный агент для предотвращения слипания в процессе приготовления препарата. В качестве прослойки между лекарственным веществом и гладкой стенкой можно использовать смазки, смазки могут включать, но без ограничения: стеариновую кислоту, в том числе её кальциевую и магниевую соли, политетрафторэтилен (PTFE), жидкий парафин, растительные масла и воски. Также можно использовать растворимые смазки, такие как лаурилсульфат натрия, лаурилсульфат магния, полиэтиленгликоль различного молекулярного веса, Carbowax 4000 и 6000.

Можно добавлять глиданты, которые могут улучшить свойства текучести лекарственного вещества в процессе приготовления препарата и способствуют перестройке в процессе прессования. Глиданты могут включать крахмал, тальк, пирогенный диоксид кремния и гидратированный алюмосиликат.

Для того чтобы способствовать растворению соединения по данному изобретению в водной среде, в качестве смачивающего агента можно добавлять поверхностно-активное вещество. Поверхностно-активные вещества могут включать анионные детергенты, такие как лаурилсульфат натрия, диоктилсульфосукцинат натрия и диоктилсульфонат натрия. Можно вводить катионные детергенты; они могут включать бензалконийхлорид или бензэтония хлорид. Список потенциальных неионных детергентов, которые могут входить в состав препарата в качестве поверхностно-активных веществ, включает лауромакрогол 400, полиоксил 40 стеарат, полиоксиэтилен гидрогенизированное касторовое масло 10, 50 и 60, глицерина моностеарат, полисорбат 40, 60, 65 и 80, эфир сахарозы и жирной кислоты, метилцеллюлозу и карбоксиметилцеллюлозу. Эти поверхностью-активные вещества могут присутствовать в препарате белка или производного в виде смеси в различных соотношениях.

В состав препарата можно также включать добавки для повышения всасывания соединения. Добавками, предположительно обладающими этими качествами, являются, например, жирные кислоты, олеиновая, линолевая и линоленовая кислоты. Может потребоваться препарат контролируемого действия. Соединение по данному изобретению можно вводить в инертную (основу) матрицу, которая делает возможным высвобождение либо по механизму диффузии, либо по механизму выщелачивания, например, смолы. В состав препарата можно также включать медленно разлагающиеся матрицы, например альгинаты, полисахариды. Другая форма контролируемого высвобождения соединений по данному изобретению представляет собой контролируемое высвобождение по методу на основе терапевтической системы Oros (Alza Corp.), т.е. лекарственное вещество помещают в пространство, ограниченное полупроницаемой мембранный, что позволяет воде проходить внутрь через мембрану, а осмотического давление выталкивает лекарственное вещество через единственное маленько отверстие. Некоторые энтеросолюбильные покрытия также обладают способностью к пролонгированному выделению.

В препаратах можно применять другие покрытия. Эти покрытия включают ряд сахаров, которые можно помещать в кристаллизатор (chan) для нанесения покрытия. Терапевтический агент можно также назначать в виде таблетки с плёночным покрытием, и материалы, используемые в этом случае, делятся

на 2 группы. Первую группу составляют неэнтеросолюбильные вещества и включают метилцеллюлозу, этилцеллюлозу, гидроксиэтилцеллюлозу, метилгидроксиэтилцеллюлозу, гидроксипропилцеллюлозу, гидроксипропилметилцеллюлозу, натрий карбоксиметилцеллюлозу, провидон и полиэтиленгликоли. Вторая группа состоит из энтеросолюбильных материалов, которые обычно представляют собой эфиры фталевой кислоты.

Для обеспечения оптимального плёночного покрытия можно применять смесь материалов. Покрытие плёнкой можно осуществлять в чане для нанесения покрытия, или в псевдоожиженном слое или прессованием.

Формы для доставки через лёгкие. Также в данном описании рассматривается доставка белка по изобретению (или его производных) через лёгкие. Белок (или производное) доставляется в лёгкие млекопитающего при вдыхании и проходит через эпителиальную выстилку в кровоток. Другие сообщения об этом включают: Adjei et al., Pharma. Res. (1990) 7: 565-9; Adjei et al. (1990), Internat. J. Pharmaceutics 63: 135-44 (лейпролида ацетат); Braquet et al. (1989), J. Cardiovasc. Pharmacol. 13 (suppl. 5): s.143-146 (эндотелин-1); Hubbard et al. (1989), Annals Int. Med. 3: 206-12 (α 1-антитрипсин); Smith et al. (1989), J. Clin. Invest. 84: 1145-6 (α 1-протеиназа); Oswein et al. (Март 1990), "Aerosolization of Proteins", Proc. Symp. Resp. Drug Delivery II, Keystone, Colorado (рекомбинантный человеческий гормон роста); Debs et al. (1988), J. Immunol. 140: 3482-8 (интерферон- γ и фактор некроза опухолевых клеток α) и Platz et al., патент США № 5284656 (гранулоцитарный колониестимулирующий фактор).

С целью практического применения данного изобретения рассматривается большой ряд механических устройств для доставки терапевтических продуктов через лёгкие, включая, но без ограничения, пульверизаторы (небулайзеры), ингаляторы для дозированных препаратов и порошковые ингаляторы, все они знакомы специалистам в данной области техники. Некоторые конкретные примеры промышленных устройств, применимых для практического применения по данному изобретению суть: ультрафиолетовый пульверизатор, выпускаемый Mallinckrodt, Inc., St. Louis, Missouri; пульверизатор Acorn II, выпускаемый Marquest Medical Products, Englewood, Colorado; ингалятор для дозированных препаратов Ventolin, выпускаемый Glaxo Inc., Research Triangle Park, North Carolina; и порошковый ингалятор Spinhaler, выпускаемый Fisons Corp., Bedford, Massachusetts.

Во всех этих устройствах требуется применение препаратов, пригодных для дозирования соединения по изобретению. Как правило, каждый препарат изготавливается конкретно для применяемого типа устройства и, помимо применимых в терапии разбавителей, адьювантов и/или носителей, может содержать газ-вытеснитель.

С целью более эффективной доставки к дистальному лёгким соединение по изобретению получают преимущественно в форме частиц со средним размером менее 10 мкм (или микрон), наиболее предпочтительно 0,5-5 мкм.

Фармацевтически приемлемые носители включают углеводы, такие как трегалоза, маннит, ксилит, сахароза, лактоза и сорбит. Другие ингредиенты для применения в препаратах могут включать DPPC, DOPE, DSPC и DOPC. Могут применяться натуральные или синтетические поверхностно-активные вещества. Может применяться ПЭГ (даже помимо его применения для дериватизации белка или аналога). Могут применяться декстраны, такие как циклодекстран. Могут использоваться соли желчных кислот и другие родственные энхансеры. Могут применяться целлюлоза и производные целлюлозы. Для получения препаратов в буферной системе могут применяться аминокислоты.

Рассматривается также применение липосом, микрокапсул или микросфер, комплексов включения или других типов носителей.

Препараты, пригодные для применения в пульверизаторах, либо струйных, либо ультразвуковых, как правило, содержат соединение по изобретению, растворённое в воде с концентрацией около 0,1-25 мг биологически активного белка на 1 мл раствора. Препарат может также включать буфер и простой сахар (например, для стабилизации белка и регулирования осмотического давления). С целью уменьшения или предотвращения поверхностной агрегации белка, вызываемой распылением раствора в форме аэрозоля, препарат для пульверизатора может также содержать поверхностно-активное вещество.

Составы для применения в ингаляторах для дозированных препаратов, как правило, содержат тонкодисперсный порошок, включающий соединение по изобретению, суспендированное в газо-вытеснителе с помощью поверхностно-активного вещества. В качестве газа-вытеснителя может быть любой обычный материал, применяемый для этой цели, такой как хлорфторуглерод, хлорфторуглеводород, фторуглеводород или углеводород, включая трихлорфторметан, дихлорфторметан, дихлортетрафторэтанол и 1,1,1,2-тетрафторэтан или их комбинации. Подходящие поверхностно-активные вещества включают в себя сорбитан триолеат и лецитин сои. В качестве поверхностно-активного вещества может также применяться олеиновая кислота.

Препараты для дозирования с помощью порошкового ингалятора содержат тонкодисперсный сухой порошок, включающий соединение по изобретению; он также может включать наполнитель, такой как лактоза, сорбит, сахароза, маннит, трегалоза или ксилит, в количествах, которые способствуют распылению порошка из прибора в количестве, составляющем, например, 50-90% от веса препарата.

Назальные формы доставки.

Также рассматривается назальная доставка соединения по изобретению. Назальная форма доставки способствует прохождению белка непосредственно в кровоток после попадания терапевтического продукта в нос, при этом нет необходимости оседания продукта в лёгких. Препараты для назальной доставки включают препараты с декстраном или циклодекстраном. Также рассматривается транспорт через слизистую оболочку.

Дозировки.

Схема приёма лекарственного вещества по методу лечения вышеописанных состояний определяется лечащим врачом, принимающим во внимание факторы, которые модифицируют действие лекарственных веществ, например, возраст, состояние, вес тела, пол и диету пациента, тяжесть любой инфекции, время введения и другие применения факторы. Как правило, дневная доза составляет около 0,1-1000 мкг соединения по изобретению на килограмм веса тела, предпочтительно 0,1-150 мкг на 1 кг.

Конкретные предпочтительные варианты изобретения

Авторы изобретения определили предпочтительные структуры предпочтительных пептидов, перечисленные в табл. 4. Символ "A" может представлять собой любой линкер, указанный в данном описании, или может просто обозначать нормальную пептидную связь (т.е. линкер отсутствует). Тандемные повторы и линкеры для ясности показаны разделёнными тире.

Таблица 4

Предпочтительные варианты изобретения

Последовательность/структура	SEQ ID NO
LPGCKW DLLIKQWVCDPL-A-V ¹	44
V ¹ -A- LPGCKW DLLIKQWVCDPL	45
LPGCKW DLLIKQWVCDPL -A-	46
LPGCKW DLLIKQWVCDPL -A-V ¹	
V -A- LPGCKW DLLIKQWVCDPL -A-	47
LPGCKW DLLIKQWVCDPL	
SADCYFDILT KSDVTSS-A-V ¹	48
V ¹ -A- SADCYFDILT KSDVTSS	49
SADCYFDILT KSDVTSS-A-	50
SADCYFDILT KSDVTSS -A-V ¹	
V ¹ -A- SADCYFDILT KSDVTSS -A-	51
SADCYFDILT KSDVTSS	
FHDCKW DLLTKQWVCHGL-A-V ¹	52
V ¹ - A- FHDCKW DLLTKQWVCHGL	53
FHDCKW DLLTKQWVCHGL -A-	54
FHDCKW DLLTKQWVCHGL -A-V ¹	
V ¹ -A- FHDCKW DLLTKQWVCHGL -A-	55
FHDCKW DLLTKQWVCHGL	

V¹ обозначает Fc домен по определению выше в данном описании.

Помимо последовательностей/структур, перечисленных в табл. 4, авторы изобретения дополнительно рассматривают гетеродимеры, в которых каждый тяж димера Fc связан с отличной пептидной последовательностью; например, в которых Fc связан с другой последовательностью, выбирамой из табл. 2.

Все последовательности по данному изобретению можно получать методами, описанными в Международной заявке PCT WO 99/25044.

Ниже данное изобретение дополнительно описывается следующими рабочими примерами, которые приводятся скорее в качестве иллюстрации, нежели для ограничения изобретения.

Пример 1. Пептиды.

Выбор пептидов методом фагового дисплея.

1. Получение на поверхности намагниченных бус.

A. Иммобилизация Fc-TALL-1 на намагниченных бусах.

Рекомбинантный белок Fc-TALL-1 иммобилизуют на бусах Protein A Dynabeads (Dynal) с концентрацией 8 мкг Fc-TALL-1 на 100 мкг исходных бусин от производителя. С помощью магнита бусины перемещают на одну сторону пробирки и пипеткой отбирают жидкость, бусы дважды отмывают забуференным фосфатом физиологическим раствором (PBS) и снова суспенсируют в PBS. Белок Fc-TALL-1 добавляют к отмытым бусинам с вышеуказанной концентрацией и инкубируют при вращении в течение 1 ч при комнатной температуре. Бусы, покрытые Fc-TALL-1, затем блокируют, добавляя альбумин бычьей сыворотки (BSA) до конечной концентрации 1% и инкубируют в течение ночи при 4°C при вращении, затем полученные в результате покрытые Fc-TALL-1 бусы дважды отмывают PBST (PBS с 0,05% Tween-20) перед тем, как подвернуть их селекции.

В. Приготовление бус для негативной селекции.

Кроме того, готовят также бусы для негативной селекции. Для каждого условия пэннинга 250 мкл исходных бус от производителя подвергают вышеописанной процедуре (раздел 1А), за исключением того, что опускают стадию инкубации с Fc-TALL-1. На последней стадии отмывания бусы делят на пять аликвот по 50 мкл.

2. Селекция фага, связывающего TALL-1.

A. Общая стратегия.

Для селекции фагов используют две библиотеки нитчатых фагов, TN8-LX (5×10^9 независимых трансформаций) и TN12-I ($1,4 \times 10^9$ независимых трансформаций) (Dyax Corp.). Элюцию каждой библиотеки проводят либо средой с pH 2, либо с помощью бусин (раздел 2Е). Следовательно, для "проекта" TALL-1 используют четыре различных условия пэннинга (TN8-IX, элюция средой с pH 2; TN8-LX, элюция с применением бусин; TN12-I, элюция средой с pH 2; TN12-I, элюция с применением бусин). Для каждого условия используют три цикла селекции.

B. Негативная селекция.

Для каждого условия пэннинга из исходной библиотеки отбирают аликвоты около 100 экв. произвольной библиотеки (5×10^{11} бое для TN8-IX и $1,4 \times 10^{11}$ бое для TN12-I) и разводят с помощью PBST до 300 мкл. После последнего отмывания жидкость удаляют из первой 50 мкл аликвоты бусин, приготовленной для негативной селекции (раздел 1В), к бусам прибавляют 300 мкл разведённого члена исходной библиотеки. Полученную смесь инкубируют в течение 10 мин при комнатной температуре при вращении. Супернатант с фагом отбирают с помощью магнита и добавляют во вторую аликвоту 50 мкл для второй стадии негативной селекции. Таким образом осуществляют пять стадий негативной селекции.

C. Селекция с применением намагниченных бус, покрытых белком Fc-TALL-1.

Супернатант с фагом после последней стадии негативной селекции (раздел 1В) добавляют к бусам, покрытым Fc-TALL-1, после последней стадии отмывания (раздел 1А). Этую смесь инкубируют при вращении в течение 2 ч при комнатной температуре, что делает возможным связывание специфического фага с нацеленным белком. Супернатант отбрасывают и бусы семь раз отмывают PBST.

D. Элюция связанного фага средой с pH 2.

После последней стадии отмывания (раздел 2С) связанные фаги элюируют с намагниченных бус, добавляя 200 мкл CBST (50 мМ цитрата натрия, 150 мМ хлорида натрия, 0,05% Tween-20, pH 2). После 5-минутной инкубации при комнатной температуре жидкость, содержащую элюированный фаг, отбирают и переносят в другую пробирку. Стадию элюции снова повторяют, добавляя 200 мкл CBST и инкубируя в течение 5 мин. Жидкость от двух стадий элюции объединяют и для нейтрализации pH добавляют 100 мкл 2 М раствора Tris (pH 8). Добавляют 500 мкл солей Min A (60 мМ K₂HPO₄, 33 мМ KH₂PO₄, 7,6 мМ (NH₄)SO₄ и 1,7 мМ цитрата натрия), доводя конечный объём до 1 мл.

E. Элюция с применением бус ("bead elution").

После последнего отмывания жидкость отбирают (раздел 2С), к бусам прибавляют 1 мл раствора солей Min A. Этую содержащую бусы смесь добавляют прямо в концентрированный образец бактерий для инфицирования (разделы 3А и 3В).

3. Амплификация.

A. Приготовление препарата высевенных в плашки клеток.

Свежую культуру E.coli (XL-1 Blue MRF') выращивают до OD₆₀₀=0,5 в среде LB, содержащей 12,5 мкг/мл тетрациклина. Для каждого условия пэннинга 20 мл этой культуры охлаждают льдом и центрифугируют. Осадок бактерий снова супензируют в 1 мл раствора солей Min A.

B. Трансдукция.

Каждую смесь, получаемую различными методами элюции (разделы 2D и 2E), прибавляют в концентрированные образцы бактерий (раздел 3А) и инкубируют при 37°C в течение 15 мин. В каждую смесь добавляют 2 мл среды NZCYM (2X NZCYM, 50 мкг/мл ампициллина) и инкубируют в течение 15 мин. 4 мл полученного раствора помещают на большую NZCYM агаровую пластину, содержащую 50 мкл ампициллина, и инкубируют в течение ночи при 37°C.

C. Сбор (харвестинг) фага.

Каждую из смесей бактерии/фаг, которую выращивают в течение ночи на большой NZCYM агаровой пластине (раздел 3В), соскребают в 35 мл среды LB и агаровую пластину промывают ещё 35 мл среды LB. Полученную смесь бактерии/фаг центрифугируют, чтобы высадить бактерии. 50 мл супернатанта с фагом переносят в свежую пробирку, добавляют 12,5 мл раствора ПЭГ (20% ПЭГ8000, 3,5 М ацетата аммония) и инкубируют на льду в течение 2 ч для преципитации фага. Осаждённые фаги центрифугируют и снова супензируют в 6 мл буфера для повторного супензирования фага (250 мМ NaCl, 100 мМ Tris pH 8, 1 мМ EDTA). Этот раствор фага дополнительно очищают, центрифугированием удаляя оставшиеся бактерии, и осаждают фаг, добавляя 1,5 мл раствора ПЭГ. После стадии центрифугирования осадок фага снова супензируют в 400 мкл PBS. Этот раствор центрифугируют последний раз, чтобы отделить оставшийся бактериальный дебрис. Полученный препарат фага титруют стандартным методом бляшкообразования (Molecular Cloning, Maniatis et al., 3rd Edition).

4. Следующие два цикла селекции и амплификации.

В втором цикле амплифицированный фаг (10^{10} бое) после первого цикла (раздел 3С) используют в качестве исходного фага для проведения стадий селекции и амплификации (разделы 2 и 3). В свою очередь амплифицированный фаг (10^{10} бое) после 2-го цикла используют в качестве исходного фага для проведения 3-го цикла селекции и амплификации (разделы 2 и 3). После стадий элюции (разделы 2D и 2Е) 3-го цикла малую часть элюированного фага помещают на пластину для анализа бляшкообразования (раздел 3С). Отдельные бляшки собирают и помещают в 96-луночные титрационные микропланшеты, содержащие в каждой лунке 100 мкл буфера TE. Эти эталонные (master) планшеты инкубируют при 37°C в течение 1 ч с целью осуществить элюцию фага в TE буфер.

5. Клональный анализ (анализ ELISA фага и секвенирование).

Клоны фагов анализируют методами ELISA для фагов и секвенированием. Ранговое распределение последовательностей осуществляют исходя из результатов этих двух анализов.

А. Анализ фага методом ELISA.

Культуру XL-1 Blue MRF' выращивают до тех пор, пока OD₆₀₀ не достигнет 0,5. Аликвоты по 30 мкл этой культуры помещают в каждую лунку 96-луночного титрационного микропланшета. В каждую лунку добавляют 10 мкл элюированного фага (раздел 4) и бактерии инфицируют в течение 15 мин при комнатной температуре. В каждую лунку добавляют 130 мкл среды LB, содержащей 12,5 мкг/мл тетрациклина и 50 мкг/мл ампициллина. Затем микротитрационный планшет инкубируют в течение ночи при 37°C . Рекомбинантный TALL-1 белок (1 мг/мл в PBS) иммобилизуют на поверхности лунок 96-луночных планшетов Maxisorp (NUNC) в течение ночи при 4°C . В качестве контроля рекомбинантный белок Fc-Trail иммобилизуют на поверхности отдельного планшета Maxisorp при такой же концентрации, что и белок TALL-1.

На следующий день жидкости в планшетах Maxisorp с иммобилизованным белком сливают и каждую лунку блокируют 300 мкг 2% раствора BSA при 37°C в течение 1 ч. Раствор BSA отбрасывают и лунки трижды отмывают раствором PBST. После последней стадии отмывания в каждую лунку планшетов Maxisorp с иммобилизованным белком добавляют 50 мкл PBST. Культуры (по 50 мкл) после выдерживания в течение ночи в 96-луночном микротитрационном планшете переносят в соответствующие лунки планшетов с иммобилизованным TALL-1, а также в лунки контрольных планшетов с иммобилизованным на их поверхности белком Fc-Trail. 100 мкл смеси в двух видах планшетов инкубируют в течение 1 ч при комнатной температуре. Жидкости из планшетов Maxisorp отбрасывают и лунки пять раз отмывают PBST. HRP-конъюгированное антитело против M-13 (Pharmacia) разводят до 1:7500, и в каждую лунку планшетов Maxisorp добавляют по 100 мкл разбавленного раствора, и инкубируют 1 ч при комнатной температуре. Жидкость снова отбрасывают и лунки семь раз отмывают PBST. Проводят цветную реакцию, в каждую лунку помещая 100 мкл субстрата тетраметилбензимидина (TMB) (Sigma), реакцию прекращают, прибавляя 50 мкл 5N раствора H₂SO₄. OD₆₀₀ считывают с помощью планшетного ридера (Molecular Devices).

Б. Секвенирование фаговых клонов.

Для каждого фагового клона методом PCR (ПЦР) получают матрицы для секвенирования. Для амплификации, примерно, 500 нуклеотидных фрагментов используют следующие пары олигонуклеотидов.

праймер #1 (5'-CGGCGCAACTATCGGTATCAAGCTG-3') (SEQ ID NO: 56)

и праймер #2 (5'-CATGTACCGTAACACTGAGTTCGTC-3') (SEQ ID NO: 57)

Следующие смеси получают для каждого клона.

Реагенты	объём (мкл)/пробирка
dH ₂ O	25.25
50% глицерин	10
Буфер 10В PCR (без MgCl ₂)	5
25 мМ MgCl ₂	4
10 мМ dNTP смесь	1
100 мкМ праймер 1	0.25
100 мкМ праймер 2	0.25
Полимераза Taq	0.25
Фаг в TE (раздел 4)	3
Конечный объём реакционной смеси	50

Для осуществления следующей программы: 94°C в течение 5 мин; [94°C 30 с, 55°C 30 с, 72°C 45 с]×30 циклов; 72°C в течение 7 мин; охлаждение до 4°C используют термоблок (GeneAmp PCR System, Applied Biosystems). Продукт PCR контролируют хроматографией 5 мкл каждой PCR реакционной смеси на 1% агарозном геле. Продукт PGR в оставшихся 45 мкл каждой реакционной смеси очищают с помощью системы QIAquick Multiwell PCR Purification Kit (Qiagen) в соответствии с протоколом изготовителя. Полученный продукт затем секвенируют, используя секвенатор ABI 377 (Perkin-Elmer) в

соответствии с протоколом, рекомендуемым изготовителем.

6. Ранговое распределение последовательностей и определение согласованной последовательности.

А. Ранговое распределение последовательностей.

Пептидные последовательности, транслируемые при использовании вариабельных нуклеотидных последовательностей (раздел 5В), коррелируют с данными ELISA. Клоны, показывающие высокое значение OD₄₅₀ в луках с иммобилизованным TALL-1 и низкое значение OD₄₅₀ в луках с иммобилизованным Fc-Trail, рассматриваются как более важные. Также важными считаются последовательности, встречающиеся много раз. Исходя из этих критериев выбирают последовательности- "кандидаты" для дальнейшего анализа в качестве пептидов и "пептител". Пять и девять предположительно пригодных пептидных последовательностей отбирают из библиотек TN8-IX и TN12-I соответственно.

Б. Определение согласованной последовательности.

Большинство последовательностей, выбираемых при использовании библиотеки TN12-I, содержат в высшей степени консервативный мотив DBL. Этот мотив также наблюдается в последовательностях, выбираемых при использовании библиотеки TN8-IX. Другой мотив, PFPWE (SEQ ID NO: 110), наблюдается также в последовательностях, получаемых на основе библиотеки TN8-IX.

Консенсусный пептид, FHDKWDLTKQWVCHGL (SEQ ID NO: 58), определяют на основе мотива DBL. Так как пептиды, полученные при использовании библиотеки TN12-I, являются наиболее активными, первичную структуру верхних 26 пептидных последовательностей, выбранных на основе вышеуказанных критериев распределения по рангу (раздел 5А), определяют с помощью мотива DBL. Подчёркнутую "аминокислотную последовательность ядра" получают, определяя аминокислоту, которая чаще всего встречается в каждом положении. Два цистeinовых остатка, прилегающих к "коровой" последовательности, являются фиксированными аминокислотами в библиотеке TN12-I. Остальную часть аминокислотной последовательности консенсусного пептида берут из одного из пептидо- "кандидатов", TALL-1-12-10 (табл. 2, SEQ ID NO: 37). Пептид и "пептитело", полученные на основе этой согласованной последовательности, являются наиболее активными в анализе пролиферации В-клеток.

Пример 2. "Пептитела".

Создают серию ингибирующих "пептител" 12 TALL-1 (табл. 5), в которых мономер каждого пептида слит в рамке считывания с областью Fc человеческого IgG1. Каждое ингибирующее "пептитело" TALL-1 конструируют отжигом пар олигонуклеотидов, показанных в табл. 6, с целью генерировать дуплекс, кодирующий пептид и линкер, состоящий из 5 остатков глицина и одного остатка валина, в виде фрагмента от NdeI до Sall. Эти дуплексные молекулы лигируют в вектор (pAMG21-RANK-Fc, представленный в данном описании), содержащий человеческий ген Fc, также расщепляемый с помощью NdeI и Sall. Полученные лигированные смеси трансформируют электропорацией в E.coli штамм 2596 (GM221, представлен в данном описании). Клоны подвергают скринингу на способность продуцировать рекомбинантный белковый продукт и обеспечить правильную нуклеотидную последовательность при слиянии генов. Единичный такой клон выбирают для каждого из "пептител". Нуклеотидная и аминокислотная последовательности слитых белков показаны на фиг. 4A-4F.

Таблица 5

Пептидные последовательности и олигонуклеотиды, используемые
для получения ингибирующих "пептител" TALL-1

"Пептитело"	SEQ ID NO "пептите-ла"	Пептидная последовательность	Смысло-вой олиго-нуклеотид	Анти - смысловой олигонуклеотид
TALL-1-8-1-a	29	PGTCFPFPWECTHA	2517-24	2517-25
TALL-1-8-2-a	30	WGACWPFPWECFKE	2517-26	2517-27
TALL-1-8-4-a	31	VPPFCDLLTKHCFEA	2517-28	2517-29
TALL-1-12-4-a	32	GSRCKYKWDVVLTKQCFHH	2517-30	2517-31
TALL-1-12-3-a	33	LPGCKWDLLIKQWVCDPL	2517-32	2517-33
TALL-1-12-5-a	34	SADCYFDILTKSDVCTSS	2517-34	2517-35
TALL-1-12-8-a	35	SDDCMYDQLTRMFICSNL	2517-36	2517-37
TALL-1-12-9-a	36	DLNCKYDELTYKEWCQFN	2521-92	2521-93
TALL-1-12-10-a	37	FHDCKYDLTRQMVCCHGL	2521-94	2521-95
TALL-1-12-11-a	38	RNHCFWDHLLKQDICKSP	2521-96	2521-97
TALL-1-12-14-a	39	ANQCWWDSLTKKNVCEFF	2521-98	2521-99
TALL-1-consensus	58	FHDCKWDLLTQWVCHGL	2551-48	2551-49

Таблица 5В

"Пептила", ингибирующие TALL-1

Пептило	SEQ ID пептила	Пептидная последовательность
TALL-1-8-1-a	111	MPGTCPPFPW ECTHAGGGGG VDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPFPKPD TLMISRTPEV TCVVVDSHE DPEVKFNWYV DGEVEVHNAKT KPREEQYNST YRVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPDSIAV EWESNGQOPEN NYKTTPPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
TALL-1-8-2-a	112	MWGACWPFPW ECFKEAGGGGG VDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPFPKPD TLMISRTPEV TCVVVDSHE DPEVKFNWYV DGEVEVHNAKT KPREEQYNST YRVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPDSIAV EWESNGQOPEN NYKTTPPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
TALL-1-8-4-a	113	MVPPFC DLLTK HCFEAGGGGG VDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPFPKPD TLMISRTPEV TCVVVDSHE DPEVKFNWYV DGEVEVHNAKT KPREEQYNST YRVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPDSIAV EWESNGQOPEN NYKTTPPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
TALL-1-12-4-a	114	MGSRCKYKWD VLTKQCFHHG GGGGVDKTHT CPPCPAPELL GGPSPVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF NWYVGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKEYKCKVSN KALPAPIEKT ISKAKGQPRE PQVYTLPPSR DELTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG OPENNYKTP PVLDSDGSFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNH YTQKSLSLSP GK
TALL-1-12-3-a	115	MLPGCKWDLL IKOWVCDPLG GGGGVDKTHT CPPCPAPELL GGPSPVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF NWYVGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKEYKCKVSN KALPAPIEKT ISKAKGQPRE PQVYTLPPSR DELTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG OPENNYKTP PVLDSDGSFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNH YTQKSLSLSP GK
TALL-1-12-5-a	116	MSADCYFDIL TKSDVCTSSG GGGG VDKTHT CPPCPAPELL GGPSPVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF NWYVGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKEYKCKVSN KALPAPIEKT ISKAKGQPRE PQVYTLPPSR DELTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG OPENNYKTP PVLDSDGSFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNH YTQKSLSLSP GK
TALL-1-12-8-a	117	MDDDCMYDQL TRMFICSNLG GGGGVDKTHT CPPCPAPELL GGPSPVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF NWYVGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKEYKCKVSN KALPAPIEKT ISKAKGQPRE PQVYTLPPSR DELTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG OPENNYKTP PVLDSDGSFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNH YTQKSLSLSP GK

TALL-1-12-9-a	118	MDLNCKYDEL TYKEWCQFNG GGGGVDKTHT CPPCPAPELL GGPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKEYKCKVSN KALPAPIEKT ISKAKGQPRES PQVYTLPPSR DELTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTT PVLDSDGGSFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNH YTQKSLSLSP GK
TALL-1-12-10-a	119	MFHDCKYDLL TRQMVCCHGLG GGGGVDKTHT CPPCPAPELL GGPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKEYKCKVSN KALPAPIEKT ISKAKGQPRES PQVYTLPPSR DELTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTT PVLDSDGGSFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNH YTQKSLSLSP GK
TALL-1-12-11-a	120	MRNHCFWDHL LKQDICPSPG GGGGVDKTHT CPPCPAPELL GGPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKEYKCKVSN KALPAPIEKT ISKAKGQPRES PQVYTLPPSR DELTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTT PVLDSDGGSFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNH YTQKSLSLSP GK
TALL-1-12-14-a	121	MANQCWWDSL TKKNVCEFFG GGGGVDKTHT CPPCPAPELL GGPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKEYKCKVSN KALPAPIEKT ISKAKGQPRES PQVYTLPPSR DELTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTT PVLDSDGGSFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNH YTQKSLSLSP GK
TALL-1-смысл -вой	122	MFHDCKWDL TKQWVCHGLG GGGGVDKTHT CPPCPAPELL GGPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKEYKCKVSN KALPAPIEKT ISKAKGQPRES PQVYTLPPSR DELTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTT PVLDSDGGSFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNH YTQKSLSLSP GK
TALL-1 12-3 тан- демный Димер	123	MLPGCKWDL IKQWVCDPLG SGSATGGSGS TASSGSGSAT HMLPGCKWDL LIKQWCDPL GGGGVDKTH TCPCPAPEL LGGPSVFLFP PKPKDTLMIS RTPEVTCVV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREEQ QYNSTYRVVS VLTVLHQDWLN NGKEYKCKVSN NKALPAPIEK TISKAKGQPR EPQVYTLPPS RDELTKNQVS LTCLVKGFYPS SDIAVEWESN QPENNYKTT PPVLDSDGSF FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMEALHN HYTQKSLSLSP PGK
TALL-1 консенсу- сный тан- демный Димер	124	MFHDCKWDL TKQWVCHGLG SGSATGGSGS TASSGSGSAT HMFHDCKWDL LTKQWVCHGL GGGGGVDKTH TCPCPAPEL LGGPSVFLFP PKPKDTLMIS RTPEVTCVV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREEQ QYNSTYRVVS VLTVLHQDWLN NGKEYKCKVSN NKALPAPIEK TISKAKGQPR EPQVYTLPPS RDELTKNQVS LTCLVKGFYPS SDIAVEWESN QPENNYKTT PPVLDSDGSF FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMEALHN HYTQKSLSLSP PGK

Таблица 6

Последовательности олигонуклеотидов, используемые для конструкции "пептител"

ID номер олигонуклеотида	SEQ ID NO	Последовательность
2517-24	71	TAT GCC GGG TAC TTG TTT CCC GTT CCC GTG GGA ATG CAC TCA CGC TGG TGG AGG CGG TGG GG
2517-25	72	TCG ACC CCA CCG CCT CCT GGA GCG TGA GTG CAT TCC CAC GGG AAG CCG AAA CAA GTA CCC GGC A
2517-26	73	TAT GTG GGG TGC TTG TTG GCC GTT CCC GTG GGA ATG TTT CAA AGA AGG TGG AGG CGG TGG GG
2517-27	74	TCG ACC CCA CCG CCT CCA CCT TCT TTG AAA CAT TCC CACGGG AAC GGC CAA CAAGCA CCC CAC A
2517-28	75	TAT GGT TCC GTT CTG TGA CCT GCT GAC TAA ACA CTG TTT CGA AGC TGG TGG AGG CGG TGG GG
2517-29	76	TCG ACC CCA CCG CCT CCA CCA GCT TCG AAA CAG TGT TTA GTC AGC AGG TCA CAGAAC GGA ACC A
2517-30	77	TAT GGG TTC TCG TTG TAA ATA CAA ATG GGA CGT TCT GAC TAA ACA GTG TTT CCA CCA CGG TGG AGG CGG TGG GG
2517-31	78	TCG ACC CCA CCG CCT CCA CGG TGG TGG AAA CAC TGT TTA GTC AGA ACG TCC CAT TTG TAT TTA CAA CGA GAA CCC A
2517-32	79	TAT GCT GCC GGG TTG TAA ATG GGA CCT GCT GAT CAA ACA GTG GGT TTG TGA CCC GCT GGG TGG AGG CGG TGG GG
2517-33	80	TCG ACC CCA CCG CCT CCA CCC AGC GGG TCA CAA ACC CAC TGT TTG ATC AGC AGG TCC CAT TTA CAA CCC GGC AGC A
2517-34	81	TAT GTC TGC TGA CTG TTA CTT CGA CAT CCT GAC TAA ATC TGA CGT TTG TAC TTC TCC TGG TGG AGG CGG TGG GG
2517-35	82	TCG ACC CCA CCG CCT CCA CCA GAA GAA GTA CAA ACG TCA GAT TTA GTC AGG ATG TCG AAG TAA CAG TCA GCA GAC A
2517-36	83	TAT GTC TGA CGA CTG TAT GTA CGA CCA GCT GAC TCG TAT GTT CAT CTG TTC TAA CCT GGG TGG AGG CGG TGG GG
2517-37	84	TCG ACC CCA CCG CCT CCA CCC AGG TTA GAA CAG ATG AAC ATA CGA GTC AGC TGG TCG TAC ATA CAG TCG TCA GAC A
2521-92	85	TAT GGA CCT GAA CTG TAA ATA CGA CGA ACT GAC TTA CAA AGA ATG GTG TCA GTT CAA CGG TGG AGG CGG TGG GG
25221-93	86	TCG ACC CCA CCG CCT CCA CGG TTG AAC TGA CAC CAT TCT TTG TAA GTC AGTTCG TCG TAT TTA CAG TTC AGG TCC A
2521-94	87	TAT GTT CCA CGA CTG TAA ATA CGA CCT GCT GAC TCG TCA GAT GGT TTG TCA CGG TCT GGG TGG AGG CGG TGG GG
2521-95	88	TCG ACC CCA CCG CCT CCA CCC AGA CCG TGA CAA ACC ATG TGA CGA GTC AGC AGG TCG TAT TTA CAG TCG TGG AAC A
2521-96	89	TAT GCG TAA CCA CTG TTT CTG GGA CCA CCT GCT GAA ACA GGA CAT CTG TCC GTC TCC GGG TGG AGG CGG TGG GG
2521-97	90	TCG ACC CCA CCG CCT CCA CCC GGA GAC GGA CAG ATG TCC TGT TTC AGC AGG TGG TCC CAG AAA CAG TGG TTA CGC A
2521-98	91	TAT GGC TAA CCA GTG TTG GTG GGA CTC TCT GCT GAA AAA AAA CGT TTG TGA ATT CTT CGG TGG AGG CGG TGG GG
2521-99	92	TCG ACC CCA CCG CCT CCA CGG AAG AAT TCA CAA ACC TTT TTT TTC AGC AGA GAG TCC CAC CAA CAC TGG TTA GCC A
2551-48	93	TAT GTT CCA CGA CTG CAA ATG GGA CCT GCT GAC CAA ACA GTG GGT TTG CCA CGG TCT GGG TGG AGG CGG TGG GG
2551-49	94	TCG ACC CCA CCG CCT CCA CCC AGA CGG TGG CAA ACC CAC TGT TTG GTC AGC AGG TCC CAT TTG CAG TCG TGG AAC A

Вектор pAMG21-RANK-Fc.
pAMG21.

Плазмиду экспрессии pAMG21 (регистрационный № 98113 в ATCC) можно получить из вектора экспрессии Amgen pCFM1656 (ATCC#69576), который, в свою очередь, использован векторной системой Amgen, описанной в патенте США № 4710473. Плазмиду pCFM1656 можно получить из описанной плазмида pCFM836 (патент США 4710473):

разрывом двух эндогенных NdeI сайтов рестрикции по концу, заполняемому ферментом T4 полимеразой с последующим лидированием по тупым концам;

заменой последовательности ДНК между уникальными сайтами рестрикции AatII и ClaI, содержащей синтетический промотор P_L , аналогичным фрагментом, получаемым при использовании pCFM636 (патент США № 4710473), содержащей промотор P_L (SEQ ID NO: 37, см. ниже); и

заменой малой последовательности ДНК между уникальными сайтами рестрикции ClaI и KpnI олигонуклеотидом, имеющим последовательность SEQ ID NO: 96.

SEQ ID NO: 95:

AatII
 5' STAATTCCCGCTCTCACCTACCCAACAAATGCCCGCCCTGCAAAAAATAAATTTCATAT.
 3' TGCAGATTAAAGGGAGAGAGTGGATGGTTGTTACCGGGGGACGTTTTATTTAAGTATA-
 -AAAAAACATACAGATAACCATCTCGGTGATAAAATTATCTCTGGCGGTGTTGACATAAA-
 -TTTTTGATGTCTATTGGTAGACGCCACTATTTAATAGAGACGCCACAACTGTATT-
 -TACCACTGGCCCTGATACTGAACACAT 3'
 -ATGGTACCCACCATGACTCGTGTAACC 5'
ClaI

SEQ ID NO: 96:

5' CGATTGATTCTAGAAGGAGGAATAACATATGGTTAACCGCGTTGGAATTGGTAC
 3'
 3' TAAACTAAGATCTCCTCCTTATTGTATACCAATTGCGAACCTTAAGC 5'
KpnI

Затем, используя ряд сайт-направленных замен оснований с помощью мутагенеза (реакцией PCR) перекрывающихся олигонуклеотидов и замен в последовательности ДНК, из pCFM1656 можно получить плазмиду экспрессии pAMG21. Начиная с сайта BgIII (плазмида bp#180), непосредственно 5' к промотору PcopB репликации плазмида, и вплоть до генов репликации плазмида замены пар оснований показаны в табл. 7.

Таблица 7

Замены пар оснований в pAMG21

pAMG21 п.о. #	п.о. в pCFM1656	п.о. –замены в pAMG21
# 204	T/A	C/G
# 428	A/T	G/C
# 509	G/C	A/T
# 617	--	инсерция двух п.о. G/C
# 679	G/C	T/A
# 980	T/A	C/G
# 994	G/C	A/T
# 1004	A/T	C/G
# 1007	C/G	T/A
# 1028	A/T	T/A
# 1047	C/G	T/A
# 1178	G/C	T/A
# 1466	G/C	T/A
# 2028	G/C	дeлeциa п.о.
# 2187	C/G	T/A
# 2480	A/T	T/A
# 2499 - 2502	<u>AGTG</u> TCAC	<u>GTCA</u> CAGT
# 2642	<u>TCCGAGC</u> AGGCTCG	дeлeциa 7 п.о.
# 3435	G/C	A/T
# 3446	G/C	A/T
# 3643	A/T	T/A

Последовательность ДНК между уникальными сайтами рестрикции AatII (положение #4364 в pCFM1656) и SacII (положение #4585 в pCFM1656) заменяют приведённой ниже последовательностью ДНК (SEQ ID NO: 97):

[Липкий конец AatII]
(положение #4358 в pAMG21)

5' GCGTAACGTATGCATGGTCTCC-
3' TGCACGCATTGCATAACGTACCAAGAGG-
-CCATGCGAGAGTAGGGAACTGCCAGGCATCAAATAAAACGAAAGGCTCAGTCGAAGACT-
-CGTACGCTCTCATCCCTGACGGTCCGTAGTTATTTGCTTCCGAGTCAGCTTCTGA-
-GGGCCCTTCGTTTATCTGTTGTTGTCGGTGAACGCCTCCTGAGTAGGACAATCCGC-
-CCCGAAAGCAAAATAGACAACAAACAGGCCACTTGCAGAGGAGCTCATCCTGTTAGGCC-
-CGGGAGCGGATTGAACTGCGAAGCAACGGCCGGAGGGTGGCGGGCAGGACGCCGC-
-GCCCTCGCCTAAACTTGCAACGCTTCGTTGCCGGCTCCACCGCCGTCTGCCGGCG-
-CATAAAATGCCAGGCATCAAATAAGCAAGGGCATCCTGACGGATGGCTTTTGCCT-
-GTATTTGACGGTCCGTAGTTAACCTGCTTCCGGTAGGACTGCCTACCGGAAAAACGCA-

AatII

-TTCTACAAAATCTTTGTTATTTCTAAATACATTCAAATATGGACGTCGTACTTAAC-
-AAGATTTGAGAAACAAATAAAAGATTATGTAAGTTATACCTGAGCATGAATTG-
-TTTTAAAGTATGGCAATCAATTGCTCTGTTAAAATTGCTTAGAAATACTTTGGCAGC-
-AAAATTTCATACCCGTTAGTTAACGAGGACAATTAAACGAAATTTATGAAACCGTCG-
-GGTTGTTGTTGAGTTCAATTGCGCATTGGTTAAATGAAAGTGAACGTGCGCTTAC-
-CCAAACAAACATAACTCAAAGTAAACGCTAACCAATTACCTTCACTGGCACGCAATG-
-TACAGCCTAATTTTGAAATATCCAAGAGCTTTTCCCGCATGCCAACGCTAAAC-
-ATGCGGATTATAAAACTTTATAGGGTCTCGAAAAGGAAGCGTACGGGTGCGATTG-
-ATTCTTTTCTTTGTTAAATGTTGATTATTTGCTATATTATTTTC-
-TAAGAAAAGAGAAAACCAATTAGCAACAAACTAAATAAAACGATAAAATAAAAG-
-GATAATTATCAACTAGAGAAGGAACAATTAAATGGTATGTTCATACACGCATGAAAAATA-
-CTATTAAATAGTTGATCTCTCCTTGTAAATTACCATACAAAGTATGTGCGTACATTTCAT-
-AACTATCTATATAGTTGCTTCTCTGAATGTGCAAACAAACTAACGATTCCGAAGCCATTAT-
-TTGATAGATATCAACAGAAAAGAGACTTACACGTTGATTGCTAACGGCTTCGTTAATA-
-TAGCAGTATGAATAGGGAAACTAAACCCAGTGATAAGACCTGATGATTGCTTCTTAA-
-ATCGTCATACTTATCCCTTGATTGGTCACTATTCTGACTAACAGCGAAGAAATT-
-TTACATTGAGATTTTTATTCAGCATGTTTCAAATATATTCAATTAAATCGGTG-
-AATGTAACCTCTAAAAAATAATGCGTAAACAAAGTTTATATAAGTTAATTAGCCAC-
-AATGATTGGAGTTAGAATAATCTACTATAGGATCATATTAAATTAGCGTCATCAT-
-TTACTAACCTCATTTAGGATCTAGGCTTAAATTAGGCTTAAACTTATAGCTAAATTGGTATC-
-AATATTGCCCTCATTAGGGTAATTATCCAGAATTGAAATATCAGATTAAACCATAG-
-TTATAACGGAGGTAAAAATCCCATTAAATAGGCTTAAACTTATAGCTAAATTGGTATC-
-AAATCAGGATAATGATGCCGAGTAATAATATTCCACAATGTACCATTTAGTCATATCAG-
-TTACTCTATTACTAGGCTCATTTATTAAAGTGTACATGGTAAATCAGTATAGTC-
-ATAAGCATTGATAATCATATTGCTCTACAGGCTTAATTAAATTATCTGT-
-TATTGCTAACTAATTAGTATAACGAAGATGTCCGAAATTAAATTAAATAAGACA-
-AAAGTGTGTCGGCATTTATGCTTTATACCCATCTTTATCCTTACCTATTGTTGTC-
-TTCAACAGCAGCGTAAACAGAAAATGGTAGAGAAAATAGGAATGGATAACAAACAG-
-GCAAGTTTGGCTTATATCATAAAACGTAATAGATTGACATTGATTCTAAATAA-
-CGTCAAAACGCAAAATATAGTAATTGGCATTATCTAACTGTAACAAAGATTATT-
-ATTGGATTTTGTCACACTATTATATGCTTGAAATACAATTGTTAACATAAGTACCTG-
-TAACCTAAAACAGTGTGATAAAATAGCGAACTTTATGTTAACAAATTGTATTGAC-
-TAGGATCGTACAGGTTACGCAAGAAAATGGTTGTTATAGTCGATTAATCGATTGATT-
-ATCCTAGCATGTCCTTACGTTCTTTACCAAACAAATCAGCTAAATTAGCTAAACTAA-
-CTAGATTGTTTAACTAATTAAAGGAGGAATAACATATGGTAAACCGGTTGGAATTGCA-
-GATCTAAACAAAATTGATTAATTCCCTTCTTATGTATACCAATTGCGCAACCTTAAAGCT-

SacII

-GCTCACTAGTGTGACCTGCAGGGTACCATGGAAGCTTACTCGAGGATCCGGGAAAGAA-
-CGAGTGATCACAGCTGGACGTCCCATGGTACCTCGAATGAGCTCTAGGCGCTTCTT-
-GAAGAAGAAGAAGAAAAGCCGAAAGGAAGCTGAGTTGGCTGCTGCCACCGCTGAGCAATA-
-CTTCTCTCTCTTCCGGCTTCTCGACTCAACCGACGACGGTGGCGACTCGTTAT-
-ACTAGCATAACCCCTGGGGCTCTAAACGGGTCTTGAGGGTTTTGCTGAAAGGAGG-
-TGATCGTATTGGGAACCCGGAGATTGCCCCAGAACCTCCAAAAGACTTTCTCC-
-AACCGCTCTTCACGCTTTCACGC 3' | [Липкий конец SacII]
-TTGGCGAGAAGTGCAGAGTGC 5' (положение #5904 в pAMG21)

При лигировании липких концов этой замещающей последовательности ДНК наружные сайты AatII и SacII разрываются. Это и есть уникальные сайты AatII и SacII последовательности замещаемой ДНК.

Ген, кодирующий человеческий RANK, слитый по N-концу Fc, лигируют в pAMG21 в виде фрагмента от NdeI до BamHI, получая штамм Amgen #4125. Этую конструкцию модифицируют, встраивая кодон валина в месте соединения RANK и Fc. Прилегающие кодоны валина и аспартата создают уникаль-

ный сайт Sall. Это делает возможным слияние пептидов на N-конце Fc3 между уникальными сайтами NdeI и Sall. Последовательность RANK делетируют после инсерции нового фрагмента NdeI-Sall. Последовательность вектора представлена на фиг. 5А-5М.

GM221 (Amgen #2596).

Amgen штамм-хозяин #2596 представляет собой штамм E.coli K-12, получаемый из Amgen штамма #393, который является производным штамма E.coli W1485, получаемого из E.coli Genetic Stock Center, Yale University, New Haven, Connecticut (CGSC штамм 6159). Его модифицируют таким образом, чтобы он содержал как чувствительный к температуре ламбда-репрессор *cI857s7* в ранней области, так и репрессор *lacI^Q* в поздней *ebg* области (68 мин). Наличие двух генов-репрессоров позволяет использовать этого хозяина с различными системами экспрессии, однако оба этих репрессора не связаны с экспрессией при использовании *luxP_R*. Нетрансформированный хозяин не обладает устойчивостью к антибиотикам.

Сайт связывания рибосомы гена cI857s7 модифицируют таким образом, чтобы он включал усиленный RBS. Его встраивают в оперон ebg между положениями нуклеотидов 1170 и 1411, нумерация в Genbank регистрационный номер M64441Gb_Ba, с делецией имеющейся последовательности ebg. Последовательность инсера показана ниже с "обрамляющими" маленькими буквами (в начале и в конце), представляющими собой ebg последовательности, фланкирующие показанный ниже инсерт (SEQ ID NO: 98):

ttattingtGCGGCCGCACTTATTACCGCCAGGGTAACACTGCAACCGCACGGTGTTAGATAT
TTATCCCTTGCCTGTATAGATTGAGCACATCGATTGATTCTAGAAGGAGGGATAATATATGAG
CACAAAAAAAGAAACCATTAAACACAAGGCGCTTGAGGACCCACGTCGCCCTAAAGCAATTAA
TGAAAAAAAAGAAAAATGAACCTGGCTTATCCCAGGAATCTGTCGCAGACAGATAGGGGATGGG
GCGACTCAGGGCTTGGTGTCTTATTTAATGGCATCAATGCAATTAAATGCTTATAACGGCCCATGTC
TTACAAAAAATTCTCAAAGTAGCGTTGAAGAATTAGCCCTTCATGCCAGAGAACTACAGAG
ATGATGAGCGGGTTAGTATGCACTGGCTCACTTAGAAGTGAAGTGAAGTACCCCTGTTTTCTCA
TGTTCAGGGCAGGGATGTTCTCACCTAACGTTAGAACCTTACCAAAAGGTGATGGGAGAGATTG
GTAAGCACACCAAAAAAGGCCAGTGTATCTGCTTATGGCTTGGAGGTTGAAGGTAATTCCATGA
CCGCACCAACAGGCTCCAAGCCAAGCTTCTGACGGAAATGTTAATTCCTGACCCCTGAGCA
GGCTGTTGAGCCAGGTGATTCTGCATAGCCAGACTTGGGGTGATGAGTTACCTTCAAGAAA
CTGATCAGGGATAGCCGTCAGGTGTTTACAAACCTAAACCCACAGTACCCAATGATCCCAT
GCAATGAGGATTGTCCTGGTGGGGAAAGTTATCGCTAGTCAGTGGCCTGAAGAGACGTTTGG
CTGATAGACTAGTGGATCCACTAGTgttgtcc

Конструкцию доставляют в хромосому, используя рекомбинантный фаг, называемый MMebg-cl857s7 усиленный RBS #4 в F' tet/393. После рекомбинации и растворения в клетке остаётся только описанный выше хромосомный инсерт. Ему дают новое название F' tet/GM101. Затем F' tet/GM101 модифицируют доставкой конструкции lacI^Q в оперон ebg между нуклеотидами в положениях 2493 и 2937, нумерация в Genbank регистрационный номер M64441Gb_Ba, с делецией имеющейся последовательности ebg. Последовательность инсюта показана ниже с "обрамляющими" маленькими буквами (в начале и в конце), представляющими собой ebg последовательности, flankирующие показанный ниже инсерт (SEQ ID NO: 99):

ggcgaaaaaccGACGTCCATCGAAATGGTGCACAAACCTTTCGGCGTATGCCATGATAGCGCCCCGAAGA
GAGTCATTTCAGGGTGGTGAATGTGAAACCACTAACGTTATACGATGTCCAGACTATGCCGGT
GTCTTATCAGACCGTTCCCGCGTGGTGAACCAGGCCAGCCACGTTCTGCAGAAACGCCGG
AAAAGTCGAAACGGCGATGGCGGAGCTGAATACATTCCTTCAACCCGGCTGGCACACAACACTGG
CGCCCAACAGTCGCTCTGTATTCGCGCTTGCACCTTCAGTCGCCCCCTGCACCGGCCCCCTCCGA
AATTCGTGCGGGCGATTAATCTGGCGGATCAACTGGGTCGCCAGCGTGTGTCGATGTTGA
GAACGAACGGCGCTGAAACCTGTAAAGGGCGGTGACAATCTTCGCCCCAACCGCTCAGTG
GGCTGATCATTAACATTCGGCTGGATGACCAAGATGCCATGGCTGTGGAAGCTGCTGCACTAA
TGTTCGGCGGCTTATTCCTGTGATGTCCTGACGACACACCATCACAACTGATTTATTCCTCCATG
AGACGCTTACCCGACTGGCCCTGGACATCTGGTCCCATGGGTCACCAACAAATTCGGCTCTTGA
GGCGGCGGCTTATTAAGCTTCTGCTGGCGGGCTGCTGGCTGGCTGGCTGGCATATAATTCCTACTGG
CAATCAAAATTCACCCGATAGCGGAAACGGGAGGGGACTGGAGTCCCATGTCGGCTTTCACCAA
ACCATGCAAAATGCTGAATGAGGGCAATGGTTCACACTGGCGATCTGGTGGCAACGATCAGATGG
CGCTGGCGCAATGGGGCCATTACCGAGTGGGGCTGGCGGCTGGCGGATATCTGGCTAGT
GGGATACGACCGATACCGGAAGACAGCTCATTTTATACCCCGGTTAACCCACCATCAACAGGAT
TTTCGGCTCTGGCGGCAAAACCGCTGGGAGGGCGGCTTCTGCAACCTCTCTGAGGCGGAGGGCTG
AGGGCAATCAGCTGGGGCTCTCATGGTGAAGAAAAGAAAACACCCCTGGCGCCCAATACGCA
AACCGGCTCTCCCGCGCTGGCGGCTGGCGGATTCATTAATGCACTGGCACGACAGGTTCCCGACTGG
AAAGCGGACAGTAAGTACCATAGGATCCAGgcacaggaa

Конструкцию доставляют в хромосому, используя рекомбинантный фаг, называемый AGebg-LacI#5 в F' tet/GM101. После рекомбинации и растворения в клетке остаётся только описанный выше хромосомный инсерт. Ему дают новое название F' tet/GM221. Эпизому F' tet выделяют из штамма, используя акридиновый оранжевый в концентрации 25 мкг/мл в LB. Выделенный штамм идентифицируют как чувствительный к тетрациклину и хранят в виде GM221.

Экспрессия в *E.coli*.

Культуры каждой из слитых конструкций pAMG21-Fc в *E.coli* GM221 выращивают при 37°C в бульоне Лурия. Инициирование экспрессии генного продукта с использованием промотора luxPR осуществляют, добавляя в культуральную среду синтетический аутоиндуктор лактон N-(3-оксогексаноил)-DL-гомосерина до конечной концентрации 20 нг/мл. Культуры инкубируют при 37°C в течение 3 ч. Через 3 ч бактериальные культуры исследуют под микроскопом на присутствие телец включения и затем собирают центрифугированием. Рефрактильные тельца включения наблюдают в индуцированных культурах;

это указывает, что, вероятнее всего, Fc-слияния продуцируются в нерастворимой фракции в E.coli. Клеточные пеллеты лизируют непосредственным ресуспендирированием в буфере Лэммли для подготовки образцов, содержащем 10% β-меркаптоэтанола, и анализируют методом SDS-PAGE. В каждом случае на SDS-PAGE геле наблюдается интенсивная полоса, окрашенная Кумасси голубым, соответствующего молекулярного веса.

Пример 3. "Пептило" TALL-1 ингибитирует опосредуемую TALL-1 пролиферацию В-клеток.

Мышьиные В-лимфоциты выделяют из селезёнки C57BL/6 негативной селекцией (MACS CD43 (Ly-48) Microbeads, Miltenyi Biotech, Auburn, CA). Очищенные (10^5) В-клетки культивируют в MEM, плюс 10% термоинактивированная FCS, 5×10^{-5} 2-меркаптоэтанола, 100 Ед./мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина в тройном повторе в планшетах для клеточных культур на 96 лунок с плоским дном с 10 нг/мл белка TALL-1 и 2 мкг/мл антитела козы F(ab')₂ к мышиному IgM (Jackson ImmunoResearch Laboratory, West Grove, Pennsylvania) с указанным количеством "пептила" TALL-1 в течение 4 дней при 37°C, 5% CO₂. Пролиферацию определяют по поглощению радиоактивного ³[H] тимицина через 18 ч после инкубации.

Пример 4. TALL-1 "пептило" блокирует связывание TALL-1 с собственными рецепторами.

Бусины Reacti-Gel 6x (Pierce) предварительно покрывают AGP3 (также известным как TALL-1, Khare et al., Proc. Natl. Acad. Sci. 97:3370-3375, 2000) и блокируют с помощью BSA. 100 и 40 пМ образцов "пептила" AGP3 инкубируют с указанными различными концентрациями человеческого AGP3 при комнатной температуре в течение 8 ч перед тем, как пропустить через колонками с бусами, покрытыми человеческим AGP3. Количество "пептила", связанного с бусами, определяют флуоресцентно (Cy5) меченым антителом козы против человеческого Fc антитела (Jackson Immuno Research). Сигнал связывания пропорционален концентрации свободного "пептила" при равновесном связывании. Константу равновесной диссоциации (K_d) получают нелинейной регрессией конкурентных кривых, используя модель односайтового гомогенного связывания по двум кривым (программное обеспечение KinEx™). K_d составляет около 4 пМ для "пептила" AGP3 (SEQ ID NO: 123), связывающегося с человеческим AGP3 (фиг. 9).

Для того чтобы определить, может ли это "пептило" AGP3 нейтрализовать связывание с мышьиным AGP3, а также человеческим AGP3, используют анализ нейтрализации BIACore. Все эксперименты проводят на BIACore 3000 при комнатной температуре. Человеческий белок TACI-Fc (Xia et al., J. Exp. Med. 192, 137-144, 2000) иммобилизуют в чипах B1, используя 10 мМ ацетат pH 4,0, до уровня 2900RU. Для регулировки фона используют контрольную проточную кювету. Используя в качестве рабочего буфера берут PBS (свободный от кальция или магния), содержащий 0,005% Р20, 1 нМ рекомбинантного человеческого AGP3 (в рабочем буфере плюс 0,1 мг/мл BSA), инкубируют с указанными различными количествами "пептила" AGP3 и без "пептила" AGP3 (ось x) перед тем, как инъецировать через поверхность рецептора. Регенерацию осуществляют, используя 8 мМ глицин pH 1,5 в течение 1 мин. 25 мМ 3-[циклогексиламино]-1-проаминсульфоновой кислоты (CAPS) pH 10,5, 1 М NaCl в течение 1 мин. Для определения связывания с мышьиным AGP3 человеческий меченный TACI иммобилизуют до 1000RU в вышеуказанном буфере. 5 нМ рекомбинантного мышьиного AGP3 инкубируют с различными количествами указанного на фиг. 11 "пептила" AGP3 и без "пептила" AGP3 (ось x) перед тем, как инъецировать через поверхность рецептора. Регенерацию осуществляют с помощью 10 мМ HCl pH 2, дважды в течение 30 с. Определяют относительное связывание как человеческого, так и мышьиного AGP3 в присутствии или в отсутствие AGP3 "пептила" (SEQ ID NO: 123) (ось x). Реакцию на относительное связывание определяют как (RU-RU контрольный (слепой)/RUo-RU контрольный). "Пептило" AGP3 (SEQ ID NO: 123) ингибитирует связывание как человеческого, так и мышьиного AGP3 с его рецептором TACI (фиг. 10A и 10B).

С целью выяснения, блокирует ли "пептило" AGP3 связывание AGP3 со всеми тремя рецепторами (TACI, BCMA и BAFFR), рекомбинантные растворимые рецепторные TACI, BCMA и BAFFR белки иммобилизуют в CM5 чип. При использовании 10 мМ ацетата, pH 4, человеческий TACI-Fc иммобилизуют до 6300RU, человеческий BCMA-Fc до 5000RU и BAFFR-Fc до 6000RU. 1 нМ рекомбинантного человеческого AGP3 (в рабочем буфере, содержащем 0,1 мг/мл BSA и 0,1 мг/мл гепарина) или 1 нМ рекомбинантного APRIL белка (Yu, et al., Nat. Immunol., 1:252-256, 2000) инкубируют с указанным количеством "пептила" AGP3 перед инъекцией через поверхность каждого рецептора. Регенерацию в экспериментах с AGP3 осуществляют, используя 8 мМ глицин, pH 1,5, в течение 1 мин, а затем 25 мМ CAPS, pH 10,5, 1 М NaCl в течение 1 мин. Регенерацию в эксперименте с APRIL осуществляют, используя 8 мМ глицин, pH 2, в течение 1 мин, а затем 25 мМ CAPS, pH 10,5, 1 М NaCl в течение 1 мин. Определяют относительное связывание AGP3 или APRIL. "Пептило" AGP3 (SEQ ID NO: 123) блокирует связывание AGP3 со всеми тремя рецепторами (фиг. 11A). "Пептило" AGP3 не влияет на связывание APRIL с рецепторами (фиг. 11B).

Пример 5. "Пептило" AGP3 блокирует опосредуемую AGP3 В-клеточную пролиферацию.

Мышьиные В-лимфоциты выделяют из селезёнки мышей C57BL/6 негативной селекцией. (MACS CD43 (Ly-48) Microbeads, Miltenyi Biotech, Auburn, CA). Очищенные (10^5) В-клетки культивируют в ми-

нимальной поддерживающей среде (MEM) плюс 10% термоинактивированная FCS, 5×10^{-5} 2-меркаптоэтанола, 100 Ед./мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина в тройном повторе в планшетах для клеточных культур на 96 лунок с плоским дном с 10 нг/мл белка AGP-3 (TALL-1) и 2 мкг/мл антитела козы F(ab)₂ к мышиному IgM (Jackson ImmunoResearch Laboratory, West Grove, Pennsylvania) с указанным количеством рекомбинантного "пептилера" AGP-3 (SEQ ID NO: 123) в течение 4 дней при 37°C, 5% CO₂. Пролиферацию определяют по поглощению радиоактивного ³[H] тимицина через 18 ч после инкубации.

Пример 6. Влияние "пептилера" AGP3 на стимулированную AGP3 продуцирование Ig у мышей.

Мышей (самки Balb/c в возрасте 9-14 недель и весом 19-21 г) получают от Charles River Laboratories, Wilmington, MA. Мышам (n=10) вводят i.p. (в.б.) по 1 мг/кг человеческий AGP3 один раз в день в течение пяти последовательных дней, с последующим введением 5 или 0,5 мг/кг "пептилера" AGP3 (SEQ ID NO: 123) или физиологического раствора, или 5 мг/кг человеческого Fc. Других мышей оставляют без обработки. Мышей умерщвляют на шестой день с целью определения сывороточного IgM и IgA, определение проводят методом ELISA. Коротко говоря, планшеты покрывают иммобилизованными антителами, специфичными к IgM или IgA (Southern Biotechnology Associates, Birmingham, AD), блокируют и добавляют разведения стандартных (IgM от Calbiochem, San Diego, CA и IgA от Southern Biotechnology Associates) или испытуемых образцов. Иммобилизованный Ig выявляют, используя биотинилированные антитела, специфичные к IgM или IgA (Southern Biotechnology Associates), пероксидазу, коньюгированную с нейтравидином (Pierce, Rockford, IL), и тетраметилбензимидин (TMB) с субстратом пероксидазы для луночных микропланшетов (KPI Gaithersburg, MD). Количественное определение оптической плотности проводят на ридере Thermomax ELISA (Molecular Devices, Menlo Park, CA).

Стимулированное человеческим AGP3 повышение сывороточных уровней IgM и IgA блокируется при дозе анти-AGP3 "пептилера" (SEQ ID NQ: 123), равной 5 мг/кг, но не 0,5 мг/кг (фиг. 12А и 12В).

Пример 7. AGP3 "пептилело" снижает число В-клеток у мышей.

Мышам (см. выше, n=7) вводят интраперитонеально (i.p., в.б.) в течение семи последовательных дней 5 мг/кг, или 1,5 мг/кг, или 0,5 мг/кг AGP3 "пептилера" (SEQ ID NO: 123), или физиологический раствор, или 5 мг/кг человеческого Fc. Мышей умерщвляют на восьмой день для подсчёта числа В-клеток в селезёнке. Селезёнки помещают в физиологический раствор, осторожно измельчают, проводя гомогенизацию вручную, и получают клеточную суспензию. Общее число клеток получают с помощью счётчика H1E (Technicon, Tarrytown, NY). Процентное содержание В-клеток получают двойным флуоресцентным окрашиванием и проточной цитометрией, используя коньюгированное с флуоресцеинизированном FITC и фикоэритрином(PE) Ab против CD3 и B220 соответственно (PharMingen, San Diego, CA) и анализатор FACScan (Becton and Dickinson, Mountain View, CA). В-клетки идентифицируют, определяя CD3-B220+. При всех дозах AGP3 "пептилело"(SEQ ID NO: 123) понижает число В-клеток в селезёнке по схеме реакция - доза (фиг. 12А и 12В) (SEQ ID NO: 123).

Пример 8. AGP3 "пептилело" уменьшает тяжесть артрита у мышиной CIA модели.

Мышей DBA/1 в возрасте от 8 до 12 недель (полученных от Jackson Laboratories, Bar Harbor, ME) иммунизируют интрадермально в основание хвоста бычьим коллагеном типа II (bСII) (полученным из Университета штата Юта), эмульгированным в полном адьюванте Фрейнда (Difco). Каждая инъекция составляет 100 мкл, содержащих 100 мкг bСII. Через 3 недели после первой иммунизации мышей повторно иммунизируют bСII, эмульгированным в неполном адьюванте Фрейнда. Лечение (обработку) начинают со дня бустер-иммунизации и проводят в течение 4 недель. У мышей проверяют развитие артрита. Как описывалось ранее (Khare et al., J. Immunol. 155: 3653-9, 1995), состояние всех четырёх лап оценивают по отдельности по шкале 0-3. Следовательно, тяжесть артрита может меняться от 0 до 12 для каждого животного. Обработка "пептилелом" AGP3 (SEQ ID NO: 123) значительно уменьшает значение баллов (оценок) артрита (фиг. 13).

Образцы сыворотки отбирают через неделю после последней обработки (день 35) для анализа уровня антител против коллагена. ELISA планшеты с высокой прочностью связывания (Immulon, Nunc) покрывают с помощью 50 мкл 4 мкг/мл раствора бычьего СII в карбонатной буфере и оставляют в таком виде на ночь на холоду в холодильнике. Планшеты три раза отмывают холодной водой. Для блокирования неспецифического связывания применяют выдерживание в течение 1 ч в 75 мкл раствора для блокирования, приготовленного из PBS/0,05% tween 20/1% BSA. Образцы разводят (в буфере для блокирования) в планшетах для разведения 1:25, 1:100, 1:400 и 1:1600 и 25 мкл этих образцов добавляют в каждую лунку планшета ELISA до конечного разведения 100, 400, 1600 и 6400 с конечным объёмом 100 мкл/лунка. После инкубации при комнатной температуре в течение 3 ч планшеты снова отмывают три раза. В каждую лунку добавляют по 100 мкл вторичного антитела, разведённого в буфере для блокирования (антитело крысы против мышиного IgM, IgG2a, IgG2b, IgG1, IgG3-HRP) и планшеты инкубируют по меньшей мере в течение 2 ч. Планшеты отмывают четыре раза. В каждую лунку прибавляют 100 мкл раствора TMB (Sigma) и реакцию прекращают, добавляя 50 мкл 25% серной кислоты. Планшеты считывают на ридере планшетов ELISA при 450 нм. OD сравнивают со стандартным пулом и результат выражают в Ед./мл. Обработка "пептилелом" AGP3 (SEQ ID NO: 123) понижает уровни сывороточных антител IgG1, IgG3, IgG2a и IgG2b против коллагена II по сравнению с контрольными группами, обраб-

тываемыми PBS или Fc (фиг. 14).

Пример 9. Лечение волчанки у мышей NZB/NZW с помощью AGP3 "пептилера".

Пятимесячным предрасположенным к волчанке мышам NZBx NZBWF1 вводят i.p. 3Х/неделя в течение 8 недель PBS указанные дозы белков: AGP3 "пептилера" или человеческого Fc. Предварительно, прежде чем начать обработку, проводят проверку (скрининг) животных на белок в моче полосками с реагентами Albustix (Bayer AG). Мышей с содержанием белка в моче выше 100 мг/мл в исследование не включают. Белок в моче проверяют ежемесячно в ходе всего эксперимента. Введение AGP3 "пептилера" (SEQ ID NO: 123) приводит к снижению случаев протеинурии и к повышению выживаемости (фиг. 15А и 15В).

Введение AGP3 "пептилера" снижает число В-клеток у мышей. Мыши Balb/c ежедневно в течение 7 дней получают указанное количество AGP3 "пептилера" (SEQ ID NO: 123) или человеческого Fc белка в виде интраперitoneальных инъекций. На 8-й день собирают селезёнки и подвергают анализу FACS на B220+ В-клетки, как представлено в табл. 8.

Таблица 8

AGP3 Pb ("пептилера") снижает число В-клеток у нормальных мышей

n = 7	доза (1/день x 7)	В-клетки в селезёнке (1 x 10 ⁶)	SD	t тест
физиологи- ческий раствор		51.3	9.6	
Fc	5 мг/кг	45.5	3.8	
"Пептилера"	5 мг/кг	20.1	3.8	1.37856E-05
	1.5 мг/кг	22.6	6.9	5.10194E-05
	0.5 мг/кг	25.8	3.6	0.000111409

После того, как изобретение полностью описано, рядовому специалисту в данной области техники ясно, что можно сделать много изменений и модификаций, не выходя за объём изобретения, представленного в данном описании.

СПИСОК ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

<110> AMGEN INC.
 <120> Пептиды и родственные молекулы, связывающиеся с TALL-1
 <130> A-743
 <140> Ещё не определён
 <141> 2002-05-13
 <150> US 60/290,196
 <151> 2001-05-11
 <160> 197
 <170> PatentIn version 3.1
 <210> 1
 <211> 684
 <212> ДНК
 <213> Homo sapiens
 <220>
 <221> Кодирующая последовательность
 <222> (1)...(684)
 <223>

 <400> 1
 atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg 48
 Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
 1 5 10 15
 ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc 96
 Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
 20 25 30
 atg atc tcc cgg acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gac gtg agc 144
 Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
 35 40 45
 cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag 192
 His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
 50 55 60
 gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgg gag gag cag tac aac agc acg 240
 Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
 65 70 75 80
 tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat 288
 Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
 85 90 95
 ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc 336
 Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
 100 105 110
 atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag 384
 Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
 115 120 125
 gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgg gat gag ctc acc aag aac cag gtc 432
 Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
 130 135 140
 agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg 480
 Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val

145	150	155	160	
gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Thr Lys Thr Pro 165 170 175				528
ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ctc tac agc aag ctc acc Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr 180 185 190				576
gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val 195 200 205				624
atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu 210 215 220				672
tct ccg ggt aaa Ser Pro Gly Lys 225				684
 <210> 2 <211> 228 <212> Белок <213>. Homo sapiens <400> 2				
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu 1 5 10 15				
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu 20 25 30				
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser 35 40 45				
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu 50 55 60				
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr 65 70 75 80				
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val His Gln Asp Trp Leu Asn - 85 90 95				
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro 100 105 110				
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln 115 120 125				
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val 130 135 140				
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val 145 150 155 160				

Glu Trp Glu Ser Asn Gln Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 165 170 175

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
 180 185 190

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 195 200 205

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 210 215 220

Ser Pro Gly Lys
 225

<210> 3

<211> 62

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Фрагмент от NdeI до SalI

<220>

<221> Колирирующая последовательность

<222> (2)...(61)

<223>

<400> 3

t atg ccg ggt act tgt ttc ccg ttc ccg tgg gaa tgc act cac gct ggt
 Met Pro Gly Thr Cys Phe Pro Phe Pro Trp Glu Cys Thr His Ala Gly
 1 5 10 15

49

gga ggc ggt ggg g
 Gly Gly Gly Gly
 20

62

<210> 4

<211> 20

<212> Белок I

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Фрагмент от NdeI до SalI

<400> 4

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

Gly Gly Gly Gly
 20

<210> 5

<211> 62

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Фрагмент от NdeI до Sall

<220> Кодирующая последовательность
 <221> (2)..(61)
 <223>

<400> 5
 t atg tgg ggt gct tgt tgg ccg ttc ccg tgg gaa tgt ttc aaa gaa ggt 49
 Met Trp Gly Ala Cys Trp Pro Phe Pro Trp Glu Cys Phe Lys Glu Gly
 1 5 10 15
 gga ggc ggt ggg g 62
 Gly Gly Gly Gly
 20

<210> 6
 <211> 20
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Фрагмент от NdeI до Sall
 <400> 6

Met Trp Gly Ala Cys Trp Pro Phe Pro Trp Glu Cys Phe Lys Glu Gly
 1 5 10 15
 Gly Gly Gly Gly
 20

<210> 7
 <211> 62
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Фрагменты от NdeI до Sall
 <220> Кодирующая последовательность
 <221> (2)..(61)
 <223>

<400> 7
 t atg gtt ccg ttc tgt gac ctg ctg act aaa cac tgt ttc gaa gct ggt 49
 Met Val Pro Phe Cys Asp Leu Leu Thr Lys His Cys Phe Glu Ala Gly
 1 - 5 10 15
 gga ggc ggt ggg g 62
 Gly Gly Gly Gly
 20

<210> 8
 <211> 20
 <212> 212. Белок
 <213> 213. Искусственная последовательность
 <220>

<223> Фрагменты от NdeI до Sall

<400> 8

Met	Val	Pro	Phe	Cys	Asp	Leu	Leu	Thr	Lys	His	Cys	Phe	Glu	Ala	Gly
1				5				10						15	

Gly	Gly	Gly	Gly
			20

<210> 9

<211> 74

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Фрагменты от NdeI до Sall

<220>

<221> Кодирующая последовательность

<222> (2)..(73)

<223>

<400> 9

t	atg	ggt	tct	cgt	tgt	aaa	tac	aaa	tgg	gac	gtt	ctg	act	aaa	cag	tgt
1																49
Met	Gly	Ser	Arg	Cys	Lys	Tyr	Lys	Trp	Asp	Val	Leu	Thr	Lys	Gln	Cys	
	5				10								15			

ttc	cac	cac	ggg	gga	ggc	ggg	g
Phe	His	His	Gly	Gly	Gly	Gly	
		20					

74

<210> 10

<211> 24

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Фрагменты от NdeI до Sall

<400> 10

Met	Gly	Ser	Arg	Cys	Lys	Tyr	Lys	Trp	Asp	Val	Leu	Thr	Lys	Gln	Cys
1															15

Phe	His	His	Gly	Gly	Gly	Gly	
		20					

<210> 11

<211> 74

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Фрагменты от NdeI до Sall

<220>

<221> Кодирующая последовательность

<222> (2)..(73)

<221>

<400> 11
t atg ctg ccg ggt tgt aaa tgg gac ctg ctg atc aaa cag tgg gtt tgt 49
Met Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys
1 5 10 15

gac ccg ctg ggt gga ggc ggt ggg g 74
Asp Pro Leu Gly Gly Gly Gly
20

<210> 12
<211> 24
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Фрагменты от NdeI до Sall

<400> 12
Met Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys 49
1 5 10 15

Asp Pro Leu Gly Gly Gly Gly
20

<210> 13
<211> 74
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Фрагменты от NdeI до Sall

<220>
<221> Кодирующая последовательность
<222> (2)...(73)
<223>

<400> 13
t atg tct gct gac tgt tac ttc gac atc ctg act aaa tct gac gtt tgt 49
Met Ser Ala Asp Cys Tyr Phe Asp Ile Leu Thr Lys Ser Asp Val Cys
1 5 10 15

act tct tct ggt gga ggc ggt ggg g 74
Thr Ser Ser Gly Gly Gly Gly Gly
20

<210> 14
<211> 24
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Фрагменты от NdeI до Sall

<400> 14
Met Ser Ala Asp Cys Tyr Phe Asp Ile Leu Thr Lys Ser Asp Val Cys 49
1 5 10 15

Thr Ser Ser Gly Gly Gly Gly Gly
20

<210> 15
 <211> 74
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Фрагменты от NdeI до Sall

<220>
 <221> Кодирующая последовательность
 <222> (2)..(73)
 <223>

<400> 15
 t atg tct gac gac tgt atg tac gac cag ctg act cgt atg ttc atc tgt 49
 . Met Ser Asp Asp Cys Met Tyr Asp Gln Leu Thr Arg Met Phe Ile Cys
 1 5 10 15

tct aac ctg ggt gga ggc ggt ggg g 74
 Ser, Asn Leu Gly Gly Gly Gly
 20

<210> 16
 <211> 24
 <212> Белок!
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Фрагменты от NdeI до Sall

<400> 16
 Met Ser Asp Asp Cys Met Tyr Asp Gln Leu Thr Arg Met Phe Ile Cys
 1 5 10 15

Ser Asn Leu Gly Gly Gly Gly
 20

<210> 17
 <211> 76
 <212> ДНК!
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Фрагменты от NdeI до Sall

<220>
 <221> Кодирующая последовательность
 <222> (2)..(73)
 <223>

<400> 17
 t atg gac ctg aac tgt aaa tac gac gaa ctg act tac aaa gaa tgg tgt 49
 Met Asp Leu Asn Cys Lys Tyr Asp Glu Leu Thr Tyr Lys Glu Trp Cys
 1 5 10 15

cag ttc aac ggg gtg gag gcg gtg ggg 76
 Gln Phe Asn Gly Val Glu Ala Val
 20

<210> 18
<211> 24
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Фрагменты от NdeI до Sall
—

<400> 18

Met	Asp	Leu	Asn	Cys	Lys	Tyr	Asp	Glu	Leu	Thr	Tyr	Lys	Glu	Trp	Cys
1				5					10					15	

Gln Phe Asn Gly Val Glu Ala Val
20

<210> 19 .
<211> 74
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Фрагменты от NdeI до Sall
—

<220>
<221> Кодирующая последовательность
<222> (21..(73)
<223>

<400> 19
t atg ttc cac gac tgt aaa tac gac ctg ctg act cgt cag atg gtt tgt 49
Met Phe His Asp Cys Lys Tyr Asp Leu Leu Thr Arg Gln Met Val Cys
1 5 10 15

cac ggt ctg ggt gga ggc ggt ggg g 74
His Gly Leu Gly Gly Gly Gly Gly
20

<210> 20
<211> 24
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Фрагменты от NdeI до Sall
—

<400> 20

Met	Phe	His	Asp	Cys	Lys	Tyr	Asp	Leu	Leu	Thr	Arg	Gln	Met	Val	Cys
1				5					10					15	

His Gly Leu Gly Gly Gly Gly
20

<210> 21
<211> 74
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Фрагменты от NdeI до Sall
—

<220> 21
 <221> Кодирующая последовательность
 <222> (2)..(73)
 <223>

```

<400> 21
t atg cgt aac cac tgt ttc tgg gac cac ctg ctg aaa aac cag gac atc tgt      49
  Met Arg Asn His Cys Phe Trp Asp His Leu Leu Lys Gln Asp Ile Cys
  1           5           10          15

ccg tct ccg ggt gga ggc ggt ggg g
Pro Ser Pro Gly Gly Gly Gly
  20
  
```

<210> 22
 <211> 24
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Фрагменты от NdeI до Sall

<400> 22

```

Met Arg Asn His Cys Phe Trp Asp His Leu Leu Lys Gln Asp Ile Cys
  1           5           10          15

Pro Ser Pro Gly Gly Gly Gly
  20
  
```

<210> 23
 <211> 74
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Фрагменты от NdeI до Sall

<220> Кодирующая последовательность

<221>

<222> (2)..(73)
 <223>

<400> 23

```

t atg gct aac cag tgt tgg tgg gac tct ctg ctg aaa aaa aac gtt tgt      49
  Met Ala Asn Gln Cys Trp Trp Asp Ser Leu Leu Lys Lys Asn Val Cys
  1           5           10          15

gaa ttc ttc ggt gga ggc ggt ggg g
Glu Phe Phe Gly Gly Gly Gly
  20
  
```

<210> 24
 <211> 24
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Фрагменты от NdeI до Sall

<400> 24

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

Glu Phe Phe Gly Gly Gly Gly Gly
20

<210> 25
<211> 74
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Фрагменты от NdeI до Sall

<220>
<221> Кодирующая последовательность
<222> (2) . . (73)
<223>

```

<400> 25
t atg ttc cac gac tgc aaa tgg gac ctg ctg acc aaa cag tgg gtt tgc 49
Met Phe His Asp Cys Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Val Cys
   1       5          10        15

```

cac ggt ctg ggt gga ggc ggt ggg g
His Gly Leu Gly Gly Gly Gly Gly
20

<210> 26
<211> 24
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Фрагменты от NdeI до Sall

Met Phe His Asp Cys Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Val Cys
1 5 10 15

His Gly Leu Gly Gly Gly Gly Gly
20

```
<210> 27
<211> 7285,
<212> ДНК'
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Вектор pAMG-RANK-Fc

<400> 27
gatcagcagt ccccggaaca tcgttagctga cgccttcgcg ttgctcagtt gtccaaacccc 60
ggaaacggga aaaagcaagt ttcccccgct cccggcggtt caataactga aaaccatact 120
atttcacagttttaaatcaca tttaaacgaca gtaatccccg ttgattttgtg agccaaacaca 180.
gatcttcgtc acaatttcga agtcgctgat ttcaaaaaac tggtagtatcc tctgcgaaac 240
gatccctgtt tgagtattga ggaggcgaga tgtcgcagac agaaaaatgca ctgacttcc 300
```

cattgagtca aaagcggtt gtgcgcagag gtaaggctat gactgactct gagaaaacaaa	360
tggccgttgt tgcaagaaaa cgtcttacac acaaagagat aaaagttttt gtcaaaaatc	420
ctctgaagga ttcatggtt gagtaactgcg agagagaggg gataacacag gtcagttcg	480
ttgagaaaat catcaaagat gaactgc当地 gactggatat actaaagtaa agactttact	540
ttgtggcgta gcatgctaga ttactgatcg ttaaggaat ttgtggctg gccacgccgt	600
aagggtggcaa ggaactggtt ctgatgtgga ttacaggag ccagaaaagc aaaaaccccg	660
ataatcttct tcaacttttgc cgagtagc当地 aagattaccg gggcccactt aaaccgtata	720
gccaacaatt cagctatgc当地 gggagttatag ttatatgccc ggaaaagttc aagacttctt	780
tctgtgctcg ctcccttc当地 gcattgttaag tgcaggatgg tgcactgtat cttcaccaaa	840
cgtattaccg ccaggtaaag aacccgaatc cgggtttac accccgtgaa ggtgcaggaa	900
cgtgtggatc ctgc当地 aaaa ctgatggaaa aggccgtggg cttcacttcc cgttttgatt	960
tcgc当地 tgc当地 gccc当地 gtatctgc当地 tgc当地 ccaccagtgc	1020
tgc当地 tgc当地 ggctattgtat ggc当地 tgc当地 aggggtgtg ttccactat gaccgc当地	1080
ccaaaccgc当地 ccaggc当地 atcaccacgc tggccattga gtgc当地 gtc当地 ggc当地	1140
ctgctgccc当地 aaaaacttcc atcaccctgc ccaccctgc cctgacgttc ctgtc当地 ggc当地	1200
tgggactgat tacctaccag acggaatatg acccgctt cgggtgtac attccgaccg	1260
atatcacgtt cacatctgca ctgttgc当地 ccctc当地 atcagaggag gcagtgccg	1320
ccgc当地 cggc当地 cagccgtgtg gtatggaaa acaaacaacg caaaaagcag gggctggata	1380
ccctgggcat ggtacttgc当地 atagc当地 aacccgc当地 cctggc当地 ttgttgc当地 cgttgc当地	1440
gttatcagac agacttaag tccc当地 ggaa taaggc当地 tc当地 ccgtgc当地 cgtgatgc当地	1500
acagggaaacg tcaggatatt gtc当地 cctggc当地 taaaacgc当地 gtc当地 ggc当地 gaaatcgc当地	1560
aaggccgctt cactgccaat cgtgaggccgg taaaacgc当地 agttgagc当地 cgtgatgc当地	1620
agcgc当地 atgttgc当地 tctgtc当地 aaccgttaatt acagccggctt ggccacagct tccccctgaa	1680
agtgc当地 tctgtc当地 tctgtc当地 aaccgttaatt ccggccgtcg ccggaggctt ccgc当地 cgttgc当地	1740
agcgc当地 aatcagcac cacataaaa aacaaccc local atc当地 ccgtcg local ttctgtc当地	1800
tccggccccc cctgtttcg atacaaaaca cgccctc当地 acggggattt ttgttgc当地	1860
acattaaact gcaaggggact tccc当地 aacccg gttacaaccc ttcatgtcat aaagc当地 cc当地	1920
ccgc当地 cccgc当地 cccgc当地 atgttgc当地 tt当地 acccacttcc	1980
acttaattac attcattaa aagaaaacc tattcactgc ctgtccctgg acagacagat	2040
atgc当地 cccgc当地 cccgc当地 ggc当地 ggc当地 taccggagcc gttttagtta caacactc当地	2100
acacaaccac cagaaaaacc cccgc当地 cccgc当地 gtc当地 gtc当地 aaccacaaaag cccctccctc	2160
ataactgaaa agccggccccc ccccggtcccg aaggccggaa acagagtc当地 tt当地 attat	2220
aatgttgc当地 actacttcat ctc当地 tgc当地 agtcttctcg ctggaaagtc当地 tc当地 agtacacg	2280
ctcgtaagcg gccc当地 gacccg cccgc当地 aacccg cccgc当地 cccgc当地 gggtaaacc	2340

tcgtcgggac cactccgacc ggcacagaa gctctctcat ggctgaaagc gggtatggtc 2400
 tggcagggtt gggatgggt aaggtgaaat ctatcaatca gtaccggctt acgccgggt 2460
 tcggcggtt tactcctgtt tcatatatga aacaacaggt caccgccttc catgcccgt 2520
 atgcggcata tcctggtaac gatatctgaa ttgttataca tgtgtatata cgtggtaatg 2580
 acaaaaatag gacaagttaa aaatttacag gcgatgcaat gattcaaaca cgtaatcaat 2640
 atcgggggtg ggcgaagaac tccagcatga gatccccgctg ctggaggatc atccagccgg 2700
 cgtccccggaa aacgattccg aagcccaacc tttcatagaa ggccggcggtg gaatcgaaat 2760
 ctctgtatgg caggttggc gtcgttggt cggtcatttc gaacccaga gtcccgctca 2820
 gaagaactcg tcaagaaggc gatagaaggc gatgcgtgc gaatcgggag cggcgatacc 2880
 gtaaaagcacg aggaagcggt cagccattc gccgccaage tcttcagcaa tatcacgggt 2940
 agccaaacgct atgtccgtat agcggtccgc cacacccagc cggccatagt cgatgaatcc 3000
 agaaaagcgg ccattttcca ccatgatatt cggcaagcag gcatcgccat gagtcacgac 3060
 gagatcctcg ccgtcgggca tgcgcgcctt gggctggcg aacagttcggt ctggcgcgag 3120
 cccctgtatgc tcttcgttcca gatcatcctg atcgacaaga cccgttcca tccgagtacg 3180
 tgctcgctcg atgcgtatgtt tgcgttgggt gtcgaatggg caggtagccg gatcaagcgt 3240
 atgcagccgc cgcattgtat cagccatgtat ggatactttc tcggcaggag caaggtgaga 3300
 tgacaggaga tcctgccccg gcacttcgccc caatagcagc cagtcgttcc cccgttcagt 3360
 gacaacgtcg agcacagctg cgcaaggaac gcccgtcg gccagccacg atagccgcgc 3420
 tgctctgtcc tgcaattcat tcaggacacc ggacaggctg gtcttgacaa aaagaaccgg 3480
 ggcgccttcgc gctgacagcc ggaacacggc ggcattcagag cagccgattt tctgttgtgc 3540
 ccagtcatacg ccgaatacgcc tctccacccca agcgcccgga gAACCTGCGT gcaatccatc 3600
 ttgttcaatc atgcgaaacg atcctcatcc tgcgttgc tctgtatgttgc atccctgcgc 3660
 ccatcagatc ttggcggca agaaagccat ccagtttact ttgcagggtt tcccaaccc 3720
 accagaggcgc gcccagctg gcaatccggg ttctgttgc tgcataaaaa ccgeccagtc 3780
 tagctatcgc catgtaaagcc cactgcaagc tacctgtttt ctctttgcgc ttgcgttttc 3840
 ccttgcgtccatc atagccactg agctgacatt catccgggtt cagcaccgtt tctgcggact 3900
 ggctttctac gtgttccgtt tcccttagca gccttcgcgc cctgagtgt tgcggcagcg 3960
 tgaagctaca tatatgtat ccggccaaat cgctgaatat tccctttgtc tccgaccatc 4020
 aggccatctgatc gtcgtgttcc tttctgtac attcgatccg ctgcgttccac ggcgttggca 4080
 gtgaatgggg gtaaatggca ctacaggcgc ctttatgga ttcatgcaag gaaactaccc 4140
 ataatacaag aaaagccgt cacggccttc tcaggccgtt ttatggcggt tctgtatgt 4200
 ggtgttatct gacttttgc ttttcagcag ttctgtccct ctgatccatc agtctgacca 4260
 cttcggattt tccctgtaca ggtcatttcag actggctaat gcaacccagta aggcagcggt 4320
 atcatcaaca ggcttacccg tcttactgtc gaagacgtgc gtaacgtatc catggcttcc 4380

010435

ccatcgccgaga gtagggaaact gccaggcata aaataaaaacg aaaggctcgt tcgaaaagact 4440
gggccttcg ttttatctgt tggttgcgg tgaacgctc cctgagtagg acaaatccgc 4500
ccccggcgga ttgtaacgtt gogaagcaac ggcccggagg gtggcgggca ggacgcccgc 4560
ctaaaaactgc caggcatcaa attaagcaga aggccatccg gacggatggc ctttttgcgt 4620
ttctacaaaac tctttgttt attttctaa atacattcaa atatggacgt cgtacttaac 4680
ttttaaagta tgggcaatca attgctctg ttaaaaattgc ttttagaaata ctggcagc 4740
ggtttgggtt attgagttc atttgccat tggtaaatg gaaagtgacc gtgcgttac 4800
tacagcccaa tattttgaa atatccaaag agcttttcc ttgcgtatcc cacgtaaac 4860
attcttttc tctttgggtt aaatcggtgt ttgatttatt atttgctata tttattttc 4920
gataattatc aactagagaa ggaacaatta atggatgtt catacacgcg tgtaaaaata 4980
aactatctat atagttgtct ttctctgaat gtgcggaaact aagcattccg aagccattat 5040
tagcgtatg aataggggaaa ctaaaaccag tgataagacc tgatgatcc gtttctttaa 5100
ttacatttgg agattttta ttacagcat tgtttcaaa tatattccaa ttaatcggtg 5160
aatgatttgg gtagaaataa tctactatag gatcatattt tattaaatata gctgtatcat 5220
aatattgcct ccattttta gggtaattat ccagaattga aatatcagat ttaaccatag 5280
aatagggata aatgatcgcg agttaaaaat attcacaatag taccattta gtcataatcg 5340
ataaggcattt attaataatca ttattgttc tacaggctt aatttttattt attattctgt 5400
aagtgtcgcc ggcattatg tcttcatacc ccatctttt atcccttaccc attgtttggc 5460
gcaagttttg cgtgttatata tccattaaaa cggtaataga ttgacattt attctaataa 5520
attggattt tgcacacta ttatatcgct tgaaatacaa ttgtttaaca taagtacctg 5580
taggatcgta caggttacg caagaaaaatg gtttggatata gtcgatccat cgatttgatt 5640
ctagatttgt tttactaat taaaggagga ataacatatg atcgctccac catgcaccag 5700
tgagaagcat tatgagcatc tgggacgggtg ctgtaaacaaa tgtgaaccag gaaagtacat 5760
gttttctaaa tgcactacta cctctgacag tgcgtatgtctg ccctgtggcc cggatgaaata 5820
cttggatagc tggaaatgaag aagataaaatg ctgtgtcat aaagtttgg atacaggcaa 5880
ggccctgggt gccgtggcgg cggcaacag tacgacccccc cggcgctgcg cgtgcacggc 5940
tgggtacccac tggagccagg actgcgagtg ctggccggc aacaccggagt gggccgggg 6000
cctggggcgc cagcacccgt tgcagctcaa caaggacaca gtgtgcacaa cttgccttgc 6060
aggctacttc tctgtatgcct ttctctccac ggacaaaatgc agaccctggc ccaactgtac 6120
tttcccttggaa aagagagtag aacatcatgg gacagagaaa tccgtatgtgg tttgcgttcc 6180
ttctctgcca gctagaaaaac caccataatga accccatgtt tacgtcgaca aaactcacac 6240
atgtccaccc tgcacacttgc cggaaacttgc gggggggccg tgcgttcc tcttccccc 6300
aaaaacccaaag gacaccctca tgatcgccg gacccctggag gtccatcgcc tgggtgggtgg 6360
gtgtggccac gaagaccctg aggtcaagtt caactgtgtac gtggacggcc tggaggtgc 6420

taatgcgaag	acaaagccgc	gggaggagca	gtacaacagc	acgtaccgtg	tggtcagcgt	6480
'cctcaccgtc	ctgcaccagg	actggctgaa	tggcaaggag	tacaagtgc	aggctccaa	6540
caaagccctc	ccagccccca	tcgagaaaac	catctccaa	gccaaaggc	agccccgaga	6600
accacaggtg	tacaccctgc	ccccatccc	ggatgagctg	accaagaacc	aggtcagcct	6660
gacctgcctg	gtcaaaggct	tctatcccag	cgacatcgcc	gtggagtggg	agagcaatgg	6720
gcagccggag	aacaactaca	agaccacgcc	tcccgtgtg	gactccgacg	gctccttctt	6730
cctctacagc	aagctcacccg	tggacaagag	caggtggcag	cagggaacg	tcttctcatg	6840
ctccgtgatg	catgaggctc	tgcacaacca	ctacacgcag	aagagcctct	ccctgtctcc	6900
gggtaaataa	tggatccgcg	gaaagaagaa	gaagaagaag	aaagccgaa	aggaagctga	6960
gttggctgct	gccaccgc	gcaataact	agcataaccc	cttggggct	ctaaacgggt	7020
cttgggggt	ttttgcgtga	aaggaggaac	cgctttcac	gtctttcacg	cggtataata	7080
agtaacgatc	cggtccagta	atgaccttag	aactccatct	ggatttgttc	agaacgc	7140
gttgcgcgcg	ggcggttttt	attggtgaga	atcgcagcaa	cttgtcgcgc	caatcgagcc	7200
atgtcgctgt	caacgacccc	ccattcaaga	acagcaagca	gcattgagaa	ctttggaaatc	7260
cagtcctct	tccacactgct	gaccg				7285

<210> 28
<211> 7285
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Вектор pAMG - RANK - Fc

<220>
<221> misc_признак
<223> Xaa (Положения 1, 2, 3, 15, 16, 17), каждый независимо, отсутствуют или представляют собой аминокислотные остатки;

<400> 28

Gly Ala Thr Cys Ala Gly Cys Ala Gly Thr Cys Cys Cys' Cys Gly Gly
1 5 10 15

Ala Ala Cys Ala Thr Cys Gly Thr Ala Gly Cys Thr Gly Ala Cys Gly
20 25 30

Cys Cys Thr Thr Cys Gly Cys Gly Thr Thr Gly Cys Thr Cys Ala Gly
35 40 45

Thr Thr Gly Thr Cys Cys Ala Ala Cys Cys Cys Gly Gly Ala Ala
50 55 60

Ala Cys Gly Gly Gly Ala Ala Ala Ala Gly Cys Ala Ala Gly Thr
65 70 75 80

Thr Thr Thr Cys Cys Cys Gly Cys Thr Cys Cys Cys Gly Gly Cys
 85 90 95
 Gly Thr Thr Thr Cys Ala Ala Thr Ala Ala Cys Thr Gly Ala Ala Ala
 100 105 110
 Ala Cys Cys Ala Thr Ala Cys Thr Ala Thr Thr Cys Ala Cys Ala
 115 120 125
 Gly Thr Thr Thr Ala Ala Ala Thr Cys Ala Cys Ala Thr Thr Ala Ala
 130 135 140
 Ala Cys Gly Ala Cys Ala Gly Thr Ala Ala Thr Cys Cys Cys Gly
 145 150 155 160
 Thr Thr Gly Ala Thr Thr Gly Thr Gly Cys Gly Cys Ala Ala
 165 170 175
 Cys Ala Cys Ala Gly Ala Thr Cys Thr Thr Cys Gly Thr Cys Ala Cys
 180 185 190
 Ala Ala Thr Thr Cys Thr Cys Ala Ala Gly Thr Cys Gly Cys Thr Gly
 195 200 205
 Ala Thr Thr Thr Cys Ala Ala Ala Ala Ala Cys Thr Gly Thr Ala
 210 215 220
 Gly Thr Ala Thr Cys Cys Thr Cys Thr Gly Cys Gly Ala Ala Ala Cys
 225 230 235 240
 Gly Ala Thr Cys Cys Cys Thr Gly Thr Thr Cys Gly Ala Gly Thr Ala
 245 250 255
 Thr Thr Gly Ala Gly Gly Ala Gly Cys Gly Ala Gly Ala Thr Gly
 260 265 270
 Thr Cys Gly Cys Ala Gly Ala Cys Ala Gly Ala Ala Ala Ala Thr Gly
 275 280 285
 Cys Ala Gly Thr Gly Ala Cys Thr Thr Cys Cys Thr Cys Ala Thr Thr
 290 295 300
 Gly Ala Gly Thr Cys Ala Ala Ala Ala Gly Cys Gly Gly Thr Thr Thr
 305 310 315 320
 Gly Thr Gly Cys Cys Gly Cys Ala Gly Ala Gly Gly Thr Ala Ala Gly Cys
 325 330 335
 Cys Thr Ala Thr Gly Ala Cys Thr Gly Ala Cys Thr Cys Thr Gly Ala
 340 345 350

Gly Ala Ala Ala Cys Ala Ala Ala Thr Gly Gly Cys Cys Gly Thr Thr
 355 360 365

 Gly Thr Thr Gly Cys Ala Ala Ala Gly Ala Ala Ala Cys Gly Thr Cys
 370 375 380

 Thr Thr Ala Cys Ala Cys Ala Cys Ala Ala Gly Ala Gly Ala Thr
 385 390 395 400

 Ala Ala Ala Ala Gly Thr Thr Thr Thr Gly Thr Cys Ala Ala Ala
 405 410 415

 Ala Ala Thr Cys Cys Thr Cys Thr Gly Ala Ala Gly Gly Ala Thr Cys
 420 425 430

 Thr Cys Ala Thr Gly Gly Thr Thr Gly Ala Gly Thr Ala Cys Thr Gly
 435 440 445

 Cys Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Gly Gly Ala Thr Ala
 450 455 460

 Ala Cys Ala Cys Ala Gly Gly Cys Thr Cys Ala Gly Thr Thr Cys Gly
 465 470 475 480

 Thr Thr Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Thr Cys Ala Thr Cys Ala Ala
 485 490 495

 Ala Gly Ala Thr Gly Ala Ala Cys Thr Gly Cys Ala Ala Ala Gly Ala
 500 505 510

 Cys Thr Gly Gly Ala Thr Ala Thr Ala Cys Thr Ala Ala Gly Thr
 515 520 525

 Ala Ala Ala Gly Ala Cys Thr Thr Thr Ala Cys Thr Thr Thr Gly Thr
 530 535 540

 Gly Gly Cys Gly Thr Ala Gly Cys Ala Thr Gly Cys Thr Ala Gly Ala
 545 550 555 560

 Thr Thr Ala Cys Thr Gly Ala Thr Cys Gly Thr Thr Thr Ala Ala Gly
 565 570 575

 Gly Ala Ala Thr Thr Thr Gly Thr Gly Gly Cys Thr Gly Gly Cys
 580 585 590

 Cys Ala Cys Gly Cys Cys Gly Thr Ala Ala Gly Gly Thr Gly Gly Cys
 595 600 605

 Ala Ala Gly Gly Ala Ala Cys Thr Gly Gly Thr Thr Cys Thr Gly Ala
 610 615 620

Thr Gly Thr Gly Gly Ala Thr Thr Ala Cys Ala Gly Gly Ala Gly
 625 630 635 640

 Cys Cys Ala Gly Ala Ala Ala Gly Cys Ala Ala Ala Ala Cys
 645 650 655

 Cys Cys Cys Gly Ala Thr Ala Ala Thr Cys Thr Thr Cys Thr Cys
 660 665 670

 Ala Ala Cys Thr Thr Thr Gly Cys Gly Ala Gly Thr Ala Cys Gly
 675 680 685

 Ala Ala Ala Ala Gly Ala Thr Thr Ala Cys Cys Gly Gly Gly Cys
 690 695 700

 Cys Cys Ala Cys Thr Thr Ala Ala Cys Cys Gly Thr Ala Thr Ala
 705 710 715 720

 Gly Cys Cys Ala Ala Cys Ala Ala Thr Thr Cys Ala Gly Cys Thr Ala
 725 730 735

 Thr Gly Cys Gly Gly Gly Ala Gly Thr Ala Thr Ala Gly Thr Thr
 740 745 750

 Ala Thr Ala Thr Gly Cys Cys Gly Gly Ala Ala Ala Gly Thr
 755 760 765

 Thr Cys Ala Ala Gly Ala Cys Thr Thr Cys Thr Thr Cys Thr Gly
 770 775 780

 Thr Gly Cys Thr Cys Gly Cys Thr Cys Cys Thr Thr Cys Thr Gly Cys
 785 790 795 800

 Gly Cys Ala Thr Thr Gly Thr Ala Ala Gly Thr Gly Cys Ala Gly Gly
 805 810 815

 Ala Thr Gly Gly Thr Gly Ala Cys Thr Gly Ala Thr Cys Thr
 820 825 830

 Thr Cys Ala Cys Cys Ala Ala Ala Cys Gly Thr Ala Thr Thr Ala Cys
 835 840 845

 Cys Gly Cys Cys Ala Gly Gly Thr Ala Ala Ala Gly Ala Ala Cys Cys
 850 855 860

 Cys Gly Ala Ala Thr Cys Cys Gly Gly Thr Gly Thr Thr Ala Cys
 865 870 875 880

 Ala-Gly-Cys-Gys-Cys-Gly-Thr-Gly-Ala-Ala-Gly-Gly-Thr-Gly-Gys-Ala
 885 890 895

Gly Gly Ala Ala Cys Gly Cys Thr Gly Ala Ala Gly Thr Thr Cys Thr
 900 905 910

Gly Cys Gly Ala Ala Ala Ala Cys Thr Gly Ala Thr Gly Gly Ala
 915 920 925

Ala Ala Ala Gly Gly Cys Gly Gly Thr Gly Gly Cys Thr Thr Cys
 930 935 940

Ala Cys Thr Thr Cys Cys Cys Gly Thr Thr Thr Gly Ala Thr Thr
 945 950 955 960

Thr Cys Gly Cys Cys Ala Thr Thr Cys Ala Thr Gly Thr Gly Cys
 965 970 975

Gly Cys Ala Cys Gly Cys Cys Gly Thr Thr Cys Gly Cys Gly Thr
 980 985 990

Gly Ala Thr Cys Thr Gly Cys Gly Thr Cys Gly Cys Gly Thr Ala
 995 1000 1005

Thr Gly Cys Cys Ala Cys Cys Ala Gly Thr Gly Cys Thr Gly Cys
 1010 1015 1020

Gly Thr Cys Gly Thr Cys Gly Gly Cys Thr Ala Thr Thr Gly
 1025 1030 1035

Ala Thr Gly Cys Gly Cys Thr Cys Thr Thr Gly Cys Ala Gly Gly
 1040 1045 1050

Gly Gly Cys Thr Gly Thr Gly Thr Thr Thr Cys Cys Ala Cys Thr
 1055 1060 1065

Ala Thr Gly Ala Cys Cys Cys Gly Cys Thr Gly Gly Cys Cys Ala
 1070 1075 1080

Ala Cys Cys Gly Cys Gly Thr Cys Cys Ala Gly Thr Gly Cys Thr
 1085 1090 1095

Cys Cys Ala Thr Cys Ala Cys Cys Ala Cys Gly Cys Thr Gly Gly
 1100 1105 1110

Cys Cys Ala Thr Thr Gly Ala Gly Thr Gly Cys Gly Gly Ala Cys
 1115 1120 1125

Thr Gly Gly Cys Gly Ala Cys Gly Gly Ala Gly Thr Cys Thr Gly
 1130 1135 1140

Cys Thr Gly Cys Cys Gly Gly Ala Ala Ala Ala Cys Thr Cys Thr
 1145 1150 1155

Cys Cys Ala Thr Cys Ala Cys Cys Cys Gly Thr Gly Cys Cys Ala
 1160 1165 1170

 Cys Cys Cys Gly Thr Gly Cys Cys Cys Thr Gly Ala Cys Gly Thr
 1175 1180 1185

 Thr Cys Cys Thr Gly Thr Cys Ala Gly Ala Gly Cys Thr Gly Gly
 1190 1195 1200

 Gly Ala Cys Thr Gly Ala Thr Thr Ala Cys Cys Thr Ala Cys Cys
 1205 1210 1215

 Ala Gly Ala Cys Gly Gly Ala Ala Thr Ala Thr Gly Ala Cys Cys
 1220 1225 1230

 Cys Gly Cys Thr Thr Ala Thr Cys Gly Gly Gly Thr Gly Cys Thr
 1235 1240 1245

 Ala Cys Ala Thr Thr Cys Cys Gly Ala Cys Cys Gly Ala Thr Ala
 1250 1255 1260

 Thr Cys Ala Cys Gly Thr Thr Cys Ala Cys Ala Thr Cys Thr Gly
 1265 1270 1275

 Cys Ala Cys Thr Gly Thr Thr Thr Gly Cys Thr Gly Cys Cys Cys
 1280 1285 1290

 Thr Cys Gly Ala Thr Gly Thr Ala Thr Cys Ala Gly Ala Gly Gly
 1295 1300 1305

 Ala Gly Gly Cys Ala Gly Thr Gly Gly Cys Cys Gly Cys Cys Gly
 1310 1315 1320

 Cys Gly Cys Gly Cys Cys Gly Cys Ala Gly Cys Cys Gly Thr Gly
 1325 1330 1335

 Thr Gly Gly Thr Ala Thr Gly Gly Gly Ala Ala Ala Ala Cys Ala
 1340 1345 1350

 Ala Ala Cys Ala Ala Cys Gly Cys Ala Ala Ala Ala Ala Gly Cys
 1355 1360 1365

 Ala Gly Gly Gly Cys Thr Gly Gly Ala Thr Ala Cys Cys Cys
 1370 1375 1380

 Thr Gly Gly Gly Cys Ala Thr Gly Gly Ala Thr Gly Ala Ala Cys
 1385 1390 1395

 Thr Gly Ala Thr Ala Gly Cys Gly Ala Ala Ala Gly Cys Cys Thr
 1400 1405 1410

Gly Gly Cys Gly Thr Thr Thr Gly Thr Thr Cys Gly Thr Gly
 1415 1420 1425

Ala Gly Cys Gly Thr Thr Thr Cys Gly Cys Ala Gly Thr Thr
 1430 1435 1440

Ala Thr Cys Ala Gly Ala Cys Ala Gly Ala Gly Cys Thr Thr Ala
 1445 1450 1455

Ala Gly Thr Cys Cys Cys Gly Thr Gly Ala Ala Thr Ala Ala
 1460 1465 1470

Ala Gly Cys Gly Thr Gly Cys Cys Cys Gly Thr Gly Cys Gly Cys
 1475 1480 1485

Gly Thr Cys Gly Thr Gly Ala Thr Gly Cys Gly Ala Cys Ala
 1490 1495 1500

Gly Gly Gly Ala Ala Cys Gly Thr Cys Ala Gly Gly Ala Thr Ala
 1505 1510 1515

Thr Thr Gly Thr Cys Ala Cys Cys Cys Thr Gly Gly Thr Gly Ala
 1520 1525 1530

Ala Ala Cys Gly Gly Cys Ala Gly Cys Thr Gly Ala Cys Gly Cys
 1535 1540 1545

Gly Cys Gly Ala Ala Ala Thr Cys Gly Cys Gly Ala Ala Gly
 1550 1555 1560

Gly Gly Cys Gly Cys Thr Thr Cys Ala Cys Thr Gly Cys Cys Ala
 1565 1570 1575

Ala Thr Cys Gly Thr Gly Ala Gly Gly Cys Gly Gly Thr Ala Ala
 1580 1585 1590

Ala Ala Cys Gly Cys Gly Ala Ala Gly Thr Thr Gly Ala Gly Cys
 1595 1600 1605

Gly Thr Cys Gly Thr Gly Thr Gly Ala Ala Gly Gly Ala Gly Cys
 1610 1615 1620

Gly Cys Ala Thr Gly Ala Thr Cys Thr Gly Thr Cys Ala Cys
 1625 1630 1635

Gly Thr Ala Ala Cys Cys Gly Thr Ala Ala Thr Thr Ala Cys Ala
 1640 1645 1650

Gly Cys Cys Gly Gly Cys Thr Gly Gly Cys Cys Ala Cys Ala Gly
 1655 1660 1665

Cys Thr Thr Cys Cys Cys Cys Cys Thr Gly Ala Ala Ala Gly Thr
 1670 1675 1680

 Gly Ala Cys Cys Thr Cys Cys Thr Cys Thr Gly Ala Ala Thr Ala
 1685 1690 1695

 Ala Thr Cys Cys Gly Gly Cys Cys Thr Gly Cys Gly Cys Cys Gly
 1700 1705 1710

 Gly Ala Gly Gly Cys Thr Thr Cys Cys Gly Cys Ala Cys Gly Thr
 1715 1720 1725

 Cys Thr Gly Ala Ala Gly Cys Cys Cys Gly Ala Cys Ala Gly Cys
 1730 1735 1740

 Gly Cys Ala Cys Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Thr Cys Ala Gly Cys
 1745 1750 1755

 Ala Cys Cys Ala Cys Ala Thr Ala Cys Ala Ala Ala Ala Ala Ala
 1760 1765 1770

 Cys Ala Ala Cys Cys Thr Cys Ala Thr Cys Ala Thr Cys Cys Ala
 1775 1780 1785

 Gly Cys Thr Thr Cys Thr Gly Gly Thr Gly Cys Ala Thr Cys Cys
 1790 1795 1800

 Gly Gly Cys Cys Cys Cys Cys Cys Cys Cys Thr Gly Thr Thr Thr
 1805 1810 1815

 Cys Gly Ala Thr Ala Cys Ala Ala Ala Ala Cys Ala Cys Gly Cys
 1820 1825 1830

 Cys Thr Cys Ala Cys Ala Gly Ala Cys Gly Gly Gly Ala Ala
 1835 1840 1845

 Thr Thr Thr Thr Gly Cys Thr Thr Ala Thr Cys Cys Ala Cys Ala
 1850 1855 1860

 Thr Thr Ala Ala Ala Cys Thr Gly Cys Ala Ala Gly Gly Gly Ala
 1865 1870 1875

 Cys Thr Thr Cys Cys Cys Cys Ala Thr Ala Ala Gly Gly Thr Thr
 1880 1885 1890

 Ala Cys Ala Ala Cys Cys Gly Thr Thr Cys Ala Thr Gly Thr Cys
 1895 1900 1905

 Ala Thr Ala Ala Ala Gly Cys Gly Cys Cys Ala Thr Cys Cys Gly
 1910 1915 1920

Cys Cys Ala Gly Cys Gly Thr Thr Ala Cys Ala Gly Gly Gly Thr
 1925 1930 1935
 Gly Cys Ala Ala Thr Gly Thr Ala Thr Cys Thr Thr Thr Ala
 1940 1945 1950
 Ala Ala Cys Ala Cys Cys Thr Gly Thr Thr Thr Ala Thr Ala Thr
 1955 1960 1965
 Cys Thr Cys Cys Thr Thr Ala Ala Ala Cys Thr Ala Cys Thr
 1970 1975 1980
 Thr Ala Ala Thr Thr Ala Cys Ala Thr Thr Cys Ala Thr Thr Thr
 1985 1990 1995
 Ala Ala Ala Ala Ala Gly Ala Ala Ala Ala Cys Cys Thr Ala Thr
 2000 2005 2010
 Thr Cys Ala Cys Thr Gly Cys Cys Thr Gly Thr Cys Cys Thr Thr
 2015 2020 2025
 Gly Gly Ala Cys Ala Gly Ala Cys Ala Gly Ala Thr Ala Thr Gly
 2030 2035 2040
 Cys Ala Cys Cys Thr Cys Cys Cys Ala Cys Cys Gly Cys Ala Ala
 2045 2050 2055
 Gly Cys Gly Gly Cys Gly Gly Cys Cys Cys Cys Thr Ala Cys
 2060 2065 2070
 Cys Gly Gly Ala Gly Cys Cys Gly Cys Thr Thr Thr Ala Gly Thr
 2075 2080 2085
 Thr Ala Cys Ala Ala Cys Ala Cys Thr Cys Ala Gly Ala Cys Ala
 2090 2095 2100
 Cys Ala Ala Cys Cys Ala Cys Cys Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala
 2105 2110 2115
 Cys Cys Cys Cys Gly Gly Thr Cys Cys Ala Gly Cys Gly Cys Ala
 2120 2125 2130
 Gly Ala Ala Cys Thr Gly Ala Ala Ala Cys Cys Ala Cys Ala Ala
 2135 2140 2145
 Ala Gly Cys Cys Cys Cys Thr Cys Cys Cys Thr Cys Ala Thr Ala
 2150 2155 2160
 Ala Cys Thr Gly Ala Ala Ala Gly Cys Gly Gly Cys Cys Cys
 2165 2170 2175

Cys Gly Cys Cys Cys Cys Gly Gly Thr Cys Cys Gly Ala Ala Gly
 2180 2185 2190

Gly Gly Cys Cys Gly Gly Ala Ala Cys Ala Gly Ala Gly Thr Cys
 2195 2200 2205

Gly Cys Thr Thr Thr Ala Ala Thr Thr Ala Thr Gly Ala Ala
 2210 2215 2220

Thr Gly Thr Thr Gly Thr Ala Ala Cys Thr Ala Cys Thr Thr Cys
 2225 2230 2235

Ala Thr Cys Ala Thr Cys Gly Cys Thr Gly Thr Cys Ala Gly Thr
 2240 2245 2250

Cys Thr Thr Cys Thr Cys Gly Cys Thr Gly Gly Ala Ala Gly Thr
 2255 2260 2265

Thr Cys Thr Cys Ala Gly Thr Ala Cys Ala Cys Gly Cys Thr Cys
 2270 2275 2280

Gly Thr Ala Ala Gly Cys Gly Gly Cys Cys Cys Thr Gly Ala Cys
 2285 2290 2295

Gly Gly Cys Cys Cys Gly Cys Thr Ala Ala Cys Gly Cys Gly Gly
 2300 2305 2310

Ala Gly Ala Thr Ala Cys Gly Cys Cys Cys Cys Gly Ala Cys Thr
 2315 2320 2325

Thr Cys Gly Gly Gly Thr Ala Ala Ala Cys Cys Cys Thr Cys Gly
 2330 2335 2340

Thr Cys Gly Gly Ala Cys Cys Ala Cys Thr Cys Cys Gly Ala
 2345 2350 2355

Cys Cys Gly Cys Gly Cys Ala Cys Ala Gly Ala Ala Gly Cys Thr
 2360 2365 2370

Cys Thr Cys Thr Cys Ala Thr Gly Gly Cys Thr Gly Ala Ala Ala
 2375 2380 2385

Gly Cys Gly Gly Gly Thr Ala Thr Gly Gly Thr Cys Thr Gly Gly
 2390 2395 2400

Cys Ala Gly Gly Cys Thr Gly Gly Gly Ala Thr Gly Gly
 2405 2410 2415

Gly Thr Ala Ala Gly Gly Thr Gly Ala Ala Ala Thr Cys Thr Ala
 2420 2425 2430

Thr Cys Ala Ala Thr Cys Ala Gly Thr Ala Cys Cys Gly Gly Cys
 2435 2440 2445

Thr Thr Ala Cys Gly Cys Cys Gly Gly Gly Cys Thr Thr Cys Gly
 2450 2455 2460

Gly Cys Gly Gly Thr Thr Thr Ala Cys Thr Cys Cys Thr Gly
 2465 2470 2475

Thr Thr Thr Cys Ala Thr Ala Thr Ala Thr Gly Ala Ala Ala Cys
 2480 2485 2490

Ala Ala Cys Ala Gly Gly Thr Cys Ala Cys Cys Gly Cys Cys Thr
 2495 2500 2505

Thr Cys Cys Ala Thr Gly Cys Cys Gly Cys Thr Gly Ala Thr Gly
 2510 2515 2520

Cys Gly Gly Cys Ala Thr Ala Thr Cys Cys Thr Gly Gly Thr Ala
 2525 2530 2535

Ala Cys Gly Ala Thr Ala Thr Cys Thr Gly Ala Ala Thr Thr Gly
 2540 2545 2550

Thr Thr Ala Thr Ala Cys Ala Thr Gly Thr Gly Thr Ala Thr Ala
 2555 2560 2565

Thr Ala Cys Gly Thr Gly Gly Thr Ala Ala Thr Gly Ala Cys Ala
 2570 2575 2580

Ala Ala Ala Ala Thr Ala Gly Gly Ala Cys Ala Ala Gly Thr Thr
 2585 2590 2595

Ala Ala Ala Ala Ala Thr Thr Thr Ala Cys Ala Gly Gly Cys Gly
 2600 2605 2610

Ala Thr Gly Cys Ala Ala Thr Gly Ala Thr Thr Cys Ala Ala Ala
 2615 2620 2625

Cys Ala Cys Gly Thr Ala Ala Thr Cys Ala Ala Thr Ala Thr Cys
 2630 2635 2640

Gly Gly Gly Gly Thr Gly Gly Gly Cys Gly Ala Ala Gly Ala
 2645 2650 2655

Ala Cys Thr Cys Cys Ala Gly Cys Ala Thr Gly Ala Gly Ala Thr
 2660 2665 2670

Cys Cys Cys Cys Gly Cys Gly Cys Thr Gly Gly Ala Gly-Gly-Ala
 2675 2680 2685

Thr Cys Ala Thr Cys Cys Ala Gly Cys Cys Gly Gly Cys Gly Thr
 2690 2695 2700

 Cys Cys Cys Gly Gly Ala Ala Ala Ala Cys Gly Ala Thr Thr Cys
 2705 2710 2715

 Cys Gly Ala Ala Gly Cys Cys Cys Ala Ala Cys Cys Thr Thr Thr
 2720 2725 2730

 Cys Ala Thr Ala Gly Ala Ala Gly Gly Cys Gly Gly Cys Gly Gly
 2735 2740 2745

 Thr Gly Gly Ala Ala Thr Cys Gly Ala Ala Ala Thr Cys Thr Cys
 2750 2755 2760

 Gly Thr Gly Ala Thr Gly Gly Cys Ala Gly Gly Thr Thr Gly Gly
 2765 2770 2775

 Gly Cys Gly Thr Cys Gly Cys Thr Thr Gly Gly Thr Cys Gly Gly
 2780 2785 2790

 Thr Cys Ala Thr Thr Thr Cys Gly Ala Ala Cys Cys Cys Cys Ala
 2795 2800 2805

 Gly Ala Gly Thr Cys Cys Cys Gly Cys Thr Cys Ala Gly Ala Ala
 2810 2815 2820

 Gly Ala Ala Cys Thr Cys Gly Thr Cys Ala Ala Gly Ala Ala Gly
 2825 2830 2835

 Gly Cys Gly Ala Thr Ala Gly Ala Ala Gly Gly Cys Gly Ala Thr
 2840 2845 2850

 Gly Cys Gly Cys Thr Gly Cys Gly Ala Ala Thr Cys Gly Gly Gly
 2855 2860 2865

 Ala Gly Cys Gly Gly Cys Gly Ala Thr Ala Cys Cys Gly Thr Ala
 2870 2875 2880

 Ala Ala Gly Cys Ala Cys Gly Ala Gly Gly Ala Ala Gly Cys Gly
 2885 2890 2895

 Gly Thr Cys Ala Gly Cys Cys Cys Ala Thr Thr Cys Gly Cys Cys
 2900 2905 2910

 Gly Cys Cys Ala Ala Gly Cys Thr Cys Thr Cys Ala Gly Cys
 2915 2920 2925

 Ala Ala Thr Ala Thr Cys Ala Cys Gly Gly Gly Thr Ala Gly Cys
 2930 2935 2940

Cys Ala Ala Cys Gly Cys Thr Ala Thr Gly Thr Cys Cys Thr Gly
 2945 2950 2955
 .
 Ala Thr Ala Gly Cys Gly Gly Thr Cys Cys Gly Cys Cys Ala Cys
 2960 2965 2970
 Ala Cys Cys Cys Ala Gly Cys Cys Gly Gly Cys Cys Ala Cys Ala
 2975 2980 2985
 Gly Thr Cys Gly Ala Thr Gly Ala Ala Thr Cys Cys Ala Gly Ala
 2990 2995 3000
 Ala Ala Ala Gly Cys Gly Cys Cys Ala Thr Thr Thr Cys
 3005 3010 3015
 Cys Ala Cys Cys Ala Thr Gly Ala Thr Ala Thr Thr Cys Gly Gly
 3020 3025 3030
 Cys Ala Ala Gly Cys Ala Gly Gly Cys Ala Thr Cys Gly Cys Cys
 3035 3040 3045
 Ala Thr Gly Ala Gly Thr Cys Ala Cys Gly Ala Cys Gly Ala Gly
 3050 3055 3060
 Ala Thr Cys Cys Thr Cys Gly Cys Cys Gly Thr Cys Gly Gly Gly
 3065 3070 3075
 Cys Ala Thr Gly Cys Gly Cys Gly Cys Cys Thr Thr Gly Ala Gly
 3080 3085 3090
 Cys Cys Thr Gly Gly Cys Gly Ala Ala Cys Ala Gly Thr Thr Cys
 3095 3100 3105
 Gly Gly Cys Thr Gly Gly Cys Gly Cys Gly Ala Gly Cys Cys Cys
 3110 3115 3120
 Cys Thr Gly Ala Thr Gly Cys Thr Cys Thr Thr Cys Gly Thr Cys
 3125 3130 3135
 Cys Ala Gly Ala Thr Cys Ala Thr Cys Cys Thr Gly Ala Thr Cys
 3140 3145 3150
 Gly Ala Cys Ala Ala Gly Ala Cys Cys Gly Gly Cys Thr Thr Cys
 3155 3160 3165
 Cys Ala Thr Cys Cys Gly Ala Gly Thr Ala Cys Gly Thr Gly Cys
 3170 3175 3180
 -
 Thr Cys Gly Cys Thr Cys Gly Ala Thr Gly Cys Gly Ala Thr Gly
 3185 3190 3195

Thr Thr Thr Cys Gly Cys Thr Thr Gly Gly Thr Gly Gly Thr Cys
 3200 3205 3210
 Gly Ala Ala Thr Gly Gly Cys Ala Gly Gly Thr Ala Gly Cys
 3215 3220 3225
 Cys Gly Gly Ala Thr Cys Ala Ala Gly Cys Gly Thr Ala Thr Gly
 3230 3235 3240
 Cys Ala Gly Cys Cys Gly Cys Cys Gly Cys Ala Thr Thr Gly Cys
 3245 3250 3255
 Ala Thr Cys Ala Gly Cys Cys Ala Thr Gly Ala Thr Gly Gly Ala
 3260 3265 3270
 Thr Ala Cys Thr Thr Cys Thr Cys Gly Gly Cys Ala Gly Gly
 3275 3280 3285
 Ala Gly Cys Ala Ala Gly Gly Thr Gly Ala Gly Ala Thr Gly Ala
 3290 3295 3300
 Cys Ala Gly Gly Ala Gly Ala Thr Cys Cys Thr Gly Cys Cys Cys
 3305 3310 3315
 Cys Gly Gly Cys Ala Cys Thr Thr Cys Gly Cys Cys Cys Ala Ala
 3320 3325 3330
 Thr Ala Gly Cys Ala Gly Cys Cys Ala Gly Thr Cys Cys Cys Thr
 3335 3340 3345
 Thr Cys Cys Cys Gly Cys Thr Thr Cys Ala Gly Thr Gly Ala Cys
 3350 3355 3360
 Ala Ala Cys Gly Thr Cys Gly Ala Gly Cys Ala Cys Ala Gly Cys
 3365 3370 3375
 Thr Gly Cys Gly Cys Ala Ala Gly Gly Ala Ala Cys Gly Cys Cys
 3380 3385 3390
 Cys Gly Thr Cys Gly Thr Gly Gly Cys Cys Ala Gly Cys Cys Ala
 3395 3400 3405
 Cys Gly Ala Thr Ala Gly Cys Cys Gly Cys Gly Cys Thr Gly Cys
 3410 3415 3420
 Cys Thr Cys Gly Thr Cys Cys Thr Gly Cys Ala Ala Thr Thr Cys
 3425 3430 3435
 Ala Thr Thr Cys Ala Gly Gly Ala Cys Ala Cys Cys Gly Gly Ala
 3440 3445 3450

Cys Ala Gly Gly Thr Cys Gly Gly Thr Cys Thr Thr Gly Ala Cys
 3455 3460 3465

Ala Ala Ala Ala Ala Gly Ala Ala Cys Cys Gly Gly Gly Cys Gly
 3470 3475 3480

Cys Cys Cys Cys Thr Gly Cys Gly Cys Thr Gly Ala Cys Ala Gly
 3485 3490 3495

Cys Cys Gly Gly Ala Ala Cys Ala Cys Gly Gly Cys Gly Gly Cys
 3500 3505 3510

Ala Thr Cys Ala Gly Ala Gly Cys Ala Gly Cys Cys Gly Ala Thr
 3515 3520 3525

Thr Gly Thr Cys Thr Gly Thr Thr Gly Thr Gly Cys Cys Ala
 3530 3535 3540

Gly Thr Cys Ala Thr Ala Gly Cys Cys Gly Ala Ala Thr Ala Gly
 3545 3550 3555

Cys Cys Thr Cys Thr Cys Cys Ala Cys Cys Cys Ala Ala Gly Cys
 3560 3565 3570

Gly Gly Cys Cys Gly Gly Ala Gly Ala Ala Cys Cys Thr Gly Cys
 3575 3580 3585

Gly Thr Gly Cys Ala Ala Thr Cys Cys Cys Ala Thr Cys Thr Thr Gly
 3590 3595 3600

Thr Thr Cys Ala Ala Thr Cys Ala Thr Gly Cys Gly Ala Ala Ala
 3605 3610 3615

Cys Gly Ala Thr Cys Cys Thr Cys Ala Thr Cys Cys Thr Gly Thr
 3620 3625 3630

Cys Thr Cys Thr Thr Gly Ala Thr Cys Thr Gly Ala Thr Cys Thr
 3635 3640 3645

Thr Gly Ala Thr Cys Cys Cys Thr Gly Cys Gly Cys Cys Ala
 3650 3655 3660

Thr Cys Ala Gly Ala Thr Cys Cys Thr Thr Gly Gly Cys Gly Gly
 3665 3670 3675

Cys Ala Ala Gly Ala Ala Ala Gly Cys Cys Ala Thr Cys Cys Ala
 3680 3685 3690

Gly Thr Thr Thr Ala Cys Thr Thr Thr Gly Cys Ala Gly Gly Gly
 3695 3700 3705

Cys Thr Thr Cys Cys Cys Ala Ala Cys Cys Thr Thr Ala Cys Cys
 3710 3715 3720

Ala Gly Ala Gly Gly Gly Cys Gly Cys Cys Cys Cys Ala Gly Cys
 3725 3730 3735

Thr Gly Gly Cys Ala Ala Thr Thr Cys Cys Gly Gly Thr Thr Cys
 3740 3745 3750

Gly Cys Thr Thr Gly Cys Thr Gly Thr Cys Cys Ala Thr Ala Ala
 3755 3760 3765

Ala Ala Cys Cys Gly Cys Cys Cys Ala Gly Thr Cys Thr Ala Gly
 3770 3775 3780

Cys Thr Ala Thr Cys Gly Cys Cys Ala Thr Gly Thr Ala Ala Gly
 3785 3790 3795

Cys Cys Cys Ala Cys Thr Gly Cys Ala Ala Gly Cys Thr Ala Cys
 3800 3805 3810

Cys Thr Gly Cys Thr Thr Cys Thr Cys Thr Thr Cys Thr Gly Cys
 3815 3820 3825

Gly Cys Thr Thr Gly Cys Gly Thr Thr Thr Cys Cys Cys Thr
 3830 3835 3840

Thr Gly Thr Cys Cys Ala Gly Ala Thr Ala Gly Cys Cys Cys Ala
 3845 3850 3855

Gly Thr Ala Gly Cys Thr Gly Ala Cys Ala Thr Thr Cys Ala Thr
 3860 3865 3870

Cys Cys Gly Gly Gly Thr Cys Ala Gly Cys Ala Cys Cys Gly
 3875 3880 3885

Thr Thr Thr Cys Thr Gly Cys Gly Gly Ala Cys Thr Gly Gly Cys
 3890 3895 3900

Thr Thr Thr Cys Thr Ala Cys Gly Thr Gly Thr Thr Cys Cys Gly
 3905 3910 3915

Cys Thr Thr Cys Cys Thr Thr Thr Ala Gly Cys Ala Gly Cys Cys
 3920 3925 3930

Cys Thr Thr Gly Cys Gly Cys Cys Thr Gly Ala Gly Thr Gly
 3935 3940 3945

Cys Thr Thr Gly Cys Gly Cys Ala Gly Cys Gly Thr Gly-Ala
 3950 3955 3960

Ala Gly Cys Thr Ala Cys Ala Thr Ala Thr Ala Thr Gly Thr Gly
 3965 3970 3975

Ala Thr Cys Cys Gly Gly Cys Ala Ala Ala Thr Cys Gly Cys
 3980 3985 3990

Thr Gly Ala Ala Thr Ala Thr Thr Cys Cys Thr Thr Thr Gly
 3995 4000 4005

Thr Cys Thr Cys Cys Gly Ala Cys Cys Ala Thr Cys Ala Gly Gly
 4010 4015 4020

Cys Ala Cys Cys Thr Gly Ala Gly Thr Cys Gly Cys Thr Gly Thr
 4025 4030 4035

Cys Thr Thr Thr Thr Cys Gly Thr Gly Ala Cys Ala Thr Thr
 4040 4045 4050

Cys Ala Gly Thr Thr Cys Gly Cys Thr Gly Cys Gly Cys Thr Cys
 4055 4060 4065

Ala Cys Gly Gly Cys Thr Cys Thr Gly Gly Cys Ala Gly Thr Gly
 4070 4075 4080

Ala Ala Thr Gly Gly Gly Thr Ala Ala Ala Thr Gly Gly
 4085 4090 4095

Cys Ala Cys Thr Ala Cys Ala Gly Gly Cys Gly Cys Cys Thr Thr
 4100 4105 4110

Thr Thr Ala Thr Gly Ala Thr Thr Cys Ala Thr Gly Cys Ala
 4115 4120 4125

Ala Gly Gly Ala Ala Ala Cys Thr Ala Cys Cys Cys Ala Thr Ala
 4130 4135 4140

Ala Thr Ala Cys Ala Ala Gly Ala Ala Ala Ala Gly Cys Cys Cys
 4145 4150 4155

Gly Thr Cys Ala Cys Gly Gly Gly Cys Thr Thr Cys Thr Cys Ala
 4160 4165 4170

Gly Gly Gly Cys Gly Thr Thr Thr Ala Thr Gly Gly Cys Gly
 4175 4180 4185

Gly Gly Thr Cys Thr Gly Cys Thr Ala Thr Gly Thr Gly Gly Thr
 4190 4195 4200

Gly Cys Thr Ala Thr Cys Thr Gly Ala Cys Thr Thr Thr Thr
 4205 4210 4215

Gly Cys Thr Gly Thr Thr Cys Ala Gly Cys Ala Gly Thr Thr Cys
 4220 4225 4230

 Cys Thr Gly Cys Cys Cys Thr Cys Thr Gly Ala Thr Thr Thr Thr
 4235 4240 4245

 Cys Cys Ala Gly Thr Cys Thr Gly Ala Cys Cys Ala Cys Thr Thr
 4250 4255 4260

 Cys Gly Gly Ala Thr Thr Ala Thr Cys Cys Cys Gly Thr Gly Ala
 4265 4270 4275

 Cys Ala Gly Gly Thr Cys Ala Thr Thr Cys Ala Gly Ala Cys Thr
 4280 4285 4290

 Gly Gly Cys Thr Ala Ala Thr Gly Cys Ala Cys Cys Cys Ala Gly
 4295 4300 4305

 Thr Ala Ala Gly Gly Cys Ala Gly Cys Gly Gly Thr Ala Thr Cys
 4310 4315 4320

 Ala Thr Cys Ala Ala Cys Ala Gly Gly Cys Thr Thr Ala Cys Cys
 4325 4330 4335

 Cys Gly Thr Cys Thr Thr Ala Cys Thr Gly Thr Cys Gly Ala Ala
 4340 4345 4350

 Gly Ala Cys Gly Thr Gly Cys Gly Thr Ala Ala Cys Gly Thr Ala
 4355 4360 4365

 Thr Gly Cys Ala Thr Gly Gly Thr Cys Thr Cys Cys Cys Ala
 4370 4375 4380

 Thr Gly Cys Gly Ala Gly Ala Gly Thr Ala Gly Gly Gly Ala Ala
 4385 4390 4395

 Cys Thr Gly Cys Cys Ala Gly Gly Cys Ala Thr Cys Ala Ala Ala
 4400 4405 4410

 Thr Ala Ala Ala Ala Cys Gly Ala Ala Ala Gly Gly Cys Thr Cys
 4415 4420 4425

 Ala Gly Thr Cys Gly Ala Ala Ala Gly Ala Cys Thr Gly Gly Gly
 4430 4435 4440

 Cys Cys Thr Thr Thr Cys Gly Thr Thr Thr Cys Ala Thr Cys Thr
 4445 4450 4455

 Gly-Thr-Thr-Gly-Thr-Thr-Gly-Thr-Cys-Gly-Gly-Thr-Gly-Ala
 - 4460 4465 4470

Ala Cys Gly Cys Thr Cys Thr Cys Cys Thr Gly Ala Gly Thr Ala
 4475 4480 4485

 Gly Gly Ala Cys Ala Ala Ala Thr Cys Cys Gly Cys Cys Gly Gly
 4490 4495 4500

 Gly Ala Gly Cys Gly Gly Ala Thr Thr Thr Gly Ala Ala Cys Gly
 4505 4510 4515

 Thr Thr Gly Cys Gly Ala Ala Gly Cys Ala Ala Cys Gly Gly Cys
 4520 4525 4530

 Cys Cys Gly Gly Ala Gly Gly Gly Thr Gly Gly Cys Gly Gly Gly
 4535 4540 4545

 Cys Ala Gly Gly Ala Cys Gly Cys Cys Cys Gly Cys Cys Ala Thr
 4550 4555 4560

 Ala Ala Ala Cys Thr Gly Cys Cys Ala Gly Gly Cys Ala Thr Cys
 4565 4570 4575

 Ala Ala Ala Thr Thr Ala Ala Gly Cys Ala Gly Ala Ala Gly Gly
 4580 4585 4590

 Cys Cys Ala Thr Cys Cys Thr Gly Ala Cys Gly Gly Ala Thr Gly
 4595 4600 4605

 Gly Cys Cys Thr Thr Thr Thr Gly Cys Gly Thr Thr Thr Cys
 4610 4615 4620

 Thr Ala Cys Ala Ala Ala Cys Thr Cys Thr Thr Thr Gly Thr
 4625 4630 4635

 Thr Thr Ala Thr Thr Thr Thr Cys Thr Ala Ala Ala Thr Ala
 4640 4645 4650

 Cys Ala Thr Thr Cys Ala Ala Ala Thr Ala Thr Gly Gly Ala Cys
 4655 4660 4665

 Gly Thr Cys Gly Thr Ala Cys Thr Thr Ala Ala Cys Thr Thr Thr
 4670 4675 4680

 Thr Ala Ala Ala Gly Thr Ala Thr Gly Gly Gly Cys Ala Ala Thr
 4685 4690 4695

 Cys Ala Ala Thr Thr Gly Cys Thr Cys Cys Thr Gly Thr Thr Ala
 4700 4705 4710

 Ala Ala Ala Thr Thr Gly Cys Thr Thr Thr Ala Gly Ala Ala Ala
 4715 4720 4725

Thr Ala Cys Thr Thr Gly Gly Cys Ala Gly Cys Gly Gly Thr
 4730 4735 4740

Thr Thr Gly Thr Thr Gly Thr Ala Thr Thr Gly Ala Gly Thr Thr
 4745 4750 4755

Thr Cys Ala Thr Thr Gly Cys Gly Cys Ala Thr Thr Gly Gly
 4760 4765 4770

Thr Thr Ala Ala Ala Thr Gly Gly Ala Ala Ala Gly Thr Gly Ala
 4775 4780 4785

Cys Cys Gly Thr Gly Cys Gly Cys Thr Thr Ala Cys Thr Ala Cys
 4790 4795 4800

Ala Gly Cys Cys Thr Ala Ala Thr Ala Thr Thr Thr Thr Gly
 4805 4810 4815

Ala Ala Ala Thr Ala Thr Cys Cys Ala Ala Gly Ala Gly Cys
 4820 4825 4830

Thr Thr Thr Thr Cys Cys Thr Thr Cys Gly Cys Ala Thr Gly
 4835 4840 4845

Cys Cys Cys Ala Cys Gly Cys Thr Ala Ala Ala Cys Ala Thr Thr
 4850 4855 4860

Cys Thr Thr Thr Thr Cys Thr Cys Thr Thr Thr Gly Gly
 4865 4870 4875

Thr Thr Ala Ala Ala Thr Cys Gly Thr Thr Gly Thr Thr Gly
 4880 4885 4890

Ala Thr Thr Thr Ala Thr Thr Ala Thr Thr Thr Gly Cys Thr Ala
 4895 4900 4905

Thr Ala Thr Thr Ala Thr Thr Thr Thr Cys Gly Ala Thr
 4910 4915 4920

Ala Ala Thr Thr Ala Thr Cys Ala Ala Cys Thr Ala Gly Ala Gly
 4925 4930 4935

Ala Ala Gly Gly Ala Ala Cys Ala Ala Thr Thr Ala Ala Thr Gly
 4940 4945 4950

Gly Thr Ala Thr Gly Thr Thr Cys Ala Thr Ala Cys Ala Cys Gly
 4955 4960 4965

Cys Ala Thr Gly Thr Ala Ala Ala Ala Ala Ala Thr Ala Ala Ala Cys
 4970 4975 4980

Thr Ala Thr Cys Thr Ala Thr Ala Thr Ala Gly Thr Thr Gly Th
4985 4990 4995

Cys Thr Thr Thr Cys Thr Cys Thr Gly Ala Ala Thr Gly Thr Gl
5000 5005 5010

Cys Ala Ala Ala Ala Cys Thr Ala Ala Gly Cys Ala Thr Thr Cys
5015 5020 5025

Cys Gly Ala Ala Gly Cys Cys Ala Thr Thr Ala Thr Thr Ala Gly
5030 5035 5040

Cys Ala Gly Thr Ala Thr Gly Ala Ala Thr Ala Gly Gly Gly Ala
5045 5050 5055

Ala Ala Cys Thr Ala Ala Ala Cys Cys Cys Ala Gly Thr Gly Ala
5060 5065 5070

Thr Ala Ala Gly Ala Cys Cys Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Thr
5075 5080 5085

Thr Cys Gly Cys Thr Thr Cys Thr Thr Thr Ala Ala Thr Thr Ala
5090 5095 5100

Cys Ala Thr Thr Thr Gly Gly Ala Gly Ala Thr Thr Thr Thr
5105 5110 5115

Thr Ala Thr Thr Thr Ala Cys Ala Gly Cys Ala Thr Thr Gly Thr
5120 5125 5130

Thr Thr Thr Cys Ala Ala Ala Thr Ala Thr Ala Thr Thr Cys Cys
5135 5140 5145

Ala Ala Thr Thr Ala Ala Thr Cys Gly Gly Thr Gly Ala Ala Thr
5150 5155 5160

Gly Ala Thr Thr Gly Gly Ala Gly Thr Thr Ala Gly Ala Ala Thr
5165 5170 5175

Ala Ala Thr Cys Thr Ala Cys Thr Ala Thr Ala Gly Gly Ala Thr
5180 5185 5190

Cys Ala Thr Ala Thr Thr Thr Thr Ala Thr Thr Ala Ala Thr
5195 5200 5205

Thr Ala Gly Cys Gly Thr Cys Ala Thr Cys Ala Thr Ala Ala Thr
5210 5215 5220

Ala Thr Thr Gly Cys Cys Thr Cys Cys Ala Thr Thr Thr Thr Thr
5225 5230 5235

Thr Ala Gly Gly Gly Thr Ala Ala Thr Thr Ala Thr Cys Cys Ala
 5240 5245 5250
 Gly Ala Ala Thr Thr Gly Ala Ala Ala Thr Ala Thr Cys Ala Gly
 5255 5260 5265
 Ala Thr Thr Thr Ala Ala Cys Cys Ala Thr Ala Gly Ala Ala Thr
 5270 5275 5280
 Gly Ala Gly Gly Ala Thr Ala Ala Ala Thr Gly Ala Thr Cys Gly
 5285 5290 5295
 Cys Gly Ala Gly Thr Ala Ala Ala Thr Ala Ala Thr Ala Thr Thr
 5300 5305 5310
 Cys Ala Cys Ala Ala Thr Gly Thr Ala Cys Cys Ala Thr Thr Thr
 5315 5320 5325
 Thr Ala Gly Thr Cys Ala Thr Ala Thr Cys Ala Gly Ala Thr Ala
 5330 5335 5340
 Ala Gly Cys Ala Thr Thr Gly Ala Thr Thr Ala Ala Thr Ala Thr
 5345 5350 5355
 Cys Ala Thr Thr Ala Thr Thr Gly Cys Thr Thr Cys Thr Ala Cys
 5360 5365 5370
 Ala Gly Gly Cys Thr Thr Ala Ala Thr Thr Thr Ala Thr
 5375 5380 5385
 Thr Ala Ala Thr Thr Ala Thr Thr Cys Thr Gly Thr Ala Ala Gly
 5390 5395 5400
 Thr Gly Thr Cys Gly Thr Cys Gly Gly Cys Ala Thr Thr Thr Ala
 5405 5410 5415
 Thr Gly Thr Cys Thr Thr Ala Cys Cys Cys Ala
 5420 5425 5430
 Thr Cys Thr Cys Thr Thr Ala Thr Cys Cys Thr Thr Ala Cys
 5435 5440 5445
 Cys Thr Ala Thr Thr Gly Thr Thr Thr Gly Thr Cys Gly Cys Ala
 5450 5455 5460
 Ala Gly Thr Thr Thr Gly Cys Gly Thr Gly Thr Thr Ala Thr
 5465 5470 5475
 Ala Thr Ala Thr Cys Ala Thr Thr Ala Ala Ala Ala Cys Gly Gly
 5480 5485 5490

Thr Ala Ala Thr Ala Gly Ala Thr Thr Gly Ala Cys Ala Thr Thr
 5495 5500 5505

 Thr Gly Ala Thr Thr Cys Thr Ala Ala Thr Ala Ala Ala Thr Thr
 5510 5515 5520

 Gly Gly Ala Thr Thr Thr Thr Gly Thr Cys Ala Cys Ala Cys
 5525 5530 5535

 Thr Ala Thr Thr Ala Thr Ala Thr Cys Gly Cys Thr Thr Gly Ala
 5540 5545 5550

 Ala Ala Thr Ala Cys Ala Ala Thr Thr Gly Thr Thr Ala Ala
 5555 5560 5565

 Cys Ala Thr Ala Ala Gly Thr Ala Cys Cys Thr Gly Thr Ala Gly
 5570 5575 5580

 Gly Ala Thr Cys Gly Thr Ala Cys Ala Gly Gly Thr Thr Ala
 5585 5590 5595

 Cys Gly Cys Ala Ala Gly Ala Ala Ala Ala Thr Gly Gly Thr Thr
 5600 5605 5610

 Thr Gly Thr Thr Ala Thr Ala Gly Thr Cys Gly Ala Thr Thr Ala
 5615 5620 5625

 Ala Thr Cys Gly Ala Thr Thr Gly Ala Thr Thr Cys Thr Ala
 5630 5635 5640

 Gly Ala Thr Thr Thr Gly Thr Thr Thr Ala Ala Cys Thr Ala
 5645 5650 5655

 Ala Thr Thr Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gly Ala Ala Thr Ala
 5660 5665 5670

 Ala Cys Ala Thr Ala Thr Gly Ala Thr Cys Gly Cys Thr Cys Cys
 5675 5680 5685

 Ala Cys Cys Ala Thr Gly Cys Ala Cys Cys Ala Gly Thr Gly Ala
 5690 5695 5700

 Gly Ala Ala Gly Cys Ala Thr Thr Ala Thr Gly Ala Gly Cys Ala
 5705 5710 5715

 Thr Cys Thr Gly Gly Ala Cys Gly Gly Thr Gly Cys Thr Gly
 5720 5725 5730

 Thr Ala Ala Cys Ala Ala Ala Thr Gly Thr Gly Ala Ala Cys Cys
 5735 5740 5745

Ala Gly Gly Ala Ala Ala Gly Thr Ala Cys Ala Thr Gly Thr Cys
 5750 5755 5760

 Thr Thr Cys Thr Ala Ala Ala Thr Gly Cys Ala Cys Thr Ala Cys
 5765 5770 5775

 Thr Ala Cys Cys Thr Cys Thr Gly Ala Cys Ala Gly Thr Gly Thr
 5780 5785 5790

 Ala Thr Gly Thr Cys Thr Gly Cys Cys Cys Thr Gly Thr Gly Gly
 5795 5800 5805

 Cys Cys Cys Gly Gly Ala Thr Gly Ala Ala Thr Ala Cys Thr Thr
 5810 5815 5820

 Gly Gly Ala Thr Ala Gly Cys Thr Gly Gly Ala Ala Thr Gly Ala
 5825 5830 5835

 Ala Gly Ala Ala Gly Ala Thr Ala Ala Ala Thr Gly Cys Thr Thr
 5840 5845 5850

 Gly Cys Thr Gly Cys Ala Thr Ala Ala Ala Gly Thr Thr Thr Gly
 5855 5860 5865

 Thr Gly Ala Thr Ala Cys Ala Gly Gly Cys Ala Ala Gly Gly Cys
 5870 5875 5880

 Cys Cys Thr Gly Gly Thr Gly Gly Cys Cys Gly Thr Gly Gly Thr
 5885 5890 5895

 Cys Gly Cys Cys Gly Gly Cys Ala Ala Cys Ala Gly Thr Ala Cys
 5900 5905 5910

 Gly Ala Cys Cys Cys Cys Cys Cys Gly Gly Cys Gly Cys Thr Gly
 5915 5920 5925

 Cys Gly Cys Gly Thr Gly Cys Ala Cys Gly Gly Cys Thr Gly Gly
 5930 5935 5940

 Gly Thr Ala Cys Cys Ala Cys Thr Gly Gly Ala Gly Cys Cys Ala
 5945 5950 5955

 Gly Gly Ala Cys Thr Gly Cys Gly Ala Gly Thr Gly Cys Thr Gly
 5960 5965 5970

 Cys Cys Gly Cys Cys Gly Cys Ala Ala Cys Ala Cys Cys Gly Ala
 5975 5980 5985

 -Gly-Thr--Gly-Cys-Gly Cys Gly Cys Cys Gly Gly Cys Cys Thr
 5990 5995 6000

Gly Gly Gly Cys Gly Cys Cys Cys Ala Gly Cys Ala Cys Cys Cys
 6005 6010 6015
 Gly Thr Thr Gly Cys Ala Gly Cys Thr Cys Ala Ala Cys Ala Ala
 6020 6025 6030
 Gly Gly Ala Cys Ala Cys Ala Gly Thr Gly Thr Gly Cys Ala Ala
 6035 6040 6045
 Ala Cys Cys Thr Thr Gly Cys Cys Thr Thr Gly Cys Ala Gly Gly
 6050 6055 6060
 Cys Thr Ala Cys Thr Thr Cys Thr Cys Thr Gly Ala Thr Gly Cys
 6065 6070 6075
 Cys Thr Thr Thr Cys Cys Thr Cys Cys Ala Cys Gly Gly Ala
 6080 6085 6090
 Cys Ala Ala Ala Thr Gly Cys Ala Gly Ala Cys Cys Cys Thr Gly
 6095 6100 6105
 Gly Ala Cys Cys Ala Ala Cys Thr Gly Thr Ala Cys Cys Thr Thr
 6110 6115 6120
 Cys Cys Thr Thr Gly Ala Ala Ala Gly Ala Gly Ala Gly Thr
 6125 6130 6135
 Ala Gly Ala Ala Cys Ala Thr Cys Ala Thr Gly Gly Ala Cys
 6140 6145 6150
 Ala Gly Ala Gly Ala Ala Ala Thr Cys Cys Gly Ala Thr Gly Thr
 6155 6160 6165
 Gly Gly Thr Thr Thr Gly Cys Ala Gly Thr Thr Cys Thr Thr Cys
 6170 6175 6180
 Thr Cys Thr Gly Cys Cys Ala Gly Cys Thr Ala Gly Ala Ala Ala
 6185 6190 6195
 Ala Cys Cys Ala Cys Cys Ala Ala Ala Thr Gly Ala Ala Cys Cys
 6200 6205 6210
 Cys Cys Ala Thr Gly Thr Thr Ala Cys Gly Thr Cys Gly Ala
 6215 6220 6225
 Cys Ala Ala Ala Ala Cys Thr Cys Ala Cys Ala Cys Ala Thr Gly
 6230 6235 6240
 Thr Cys Cys Ala Cys Cys Thr Thr Gly Thr Cys Cys Ala Gly Cys
 6245 6250 6255

Thr Cys Cys Gly Gly Ala Ala Cys Thr Cys Cys Thr Gly Gly Gly
 6260 6265 6270

 Gly Gly Gly Ala Cys Cys Gly Thr Cys Ala Gly Thr Cys Thr Thr
 6275 6280 6285

 Cys Cys Thr Cys Thr Thr Cys Cys Cys Cys Cys Ala Ala Ala
 6290 6295 6300

 Ala Cys Cys Cys Ala Ala Gly Gly Ala Cys Ala Cys Cys Cys Thr
 6305 6310 6315

 Cys Ala Thr Gly Ala Thr Cys Thr Cys Cys Gly Gly Ala Cys
 6320 6325 6330

 Cys Cys Cys Thr Gly Ala Gly Gly Thr Cys Ala Cys Ala Thr Gly
 6335 6340 6345

 Cys Gly Thr Gly Gly Thr Gly Gly Thr Gly Gly Ala Cys Gly Thr
 6350 6355 6360

 Gly Ala Cys Cys Ala Cys Gly Ala Ala Gly Ala Cys Cys Cys
 6365 6370 6375

 Thr Gly Ala Gly Gly Thr Cys Ala Ala Gly Thr Thr Cys Ala Ala
 6380 6385 6390

 Cys Thr Gly Gly Thr Ala Cys Gly Thr Gly Gly Ala Cys Gly Gly
 6395 6400 6405

 Cys Gly Thr Gly Gly Ala Gly Gly Thr Gly Cys Ala Thr Ala Ala
 6410 6415 6420

 Thr Gly Cys Cys Ala Ala Gly Ala Cys Ala Ala Ala Gly Cys Cys
 6425 6430 6435

 Gly Cys Gly Gly Gly Ala Gly Gly Ala Gly Cys Ala Gly Thr Ala
 6440 6445 6450

 Cys Ala Ala Cys Ala Gly Cys Ala Cys Gly Thr Ala Cys Cys Gly
 6455 6460 6465

 Thr Gly Thr Gly Gly Thr Cys Ala Gly Cys Gly Thr Cys Cys Thr
 6470 6475 6480

 Cys Ala Cys Cys Gly Thr Cys Cys Thr Gly Cys Ala Cys Cys Ala
 6485 6490 6495

 Gly Gly Ala Cys Thr Gly Gly Cys Thr Gly Ala Ala Thr Gly Gly
 6500 6505 6510

Cys Ala Ala Gly Gly Ala Gly Thr Ala Cys Ala Ala Gly Thr Gly
 6515 6520
 Cys Ala Ala Gly Gly Thr Cys Thr Cys Cys Ala Ala Cys Ala Ala
 6530 6535 6540
 Ala Gly Cys Cys Cys Thr Cys Cys Cys Ala Gly Cys Cys Cys Cys
 6545 6550 6555
 Cys Ala Thr Cys Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Cys Cys Ala Thr
 6560 6565 6570
 Cys Thr Cys Cys Ala Ala Ala Gly Cys Cys Ala Ala Gly Gly
 6575 6580 6585
 Gly Cys Ala Gly Cys Cys Cys Cys Gly Ala Gly Ala Ala Cys Cys
 6590 6595 6600
 Ala Cys Ala Gly Gly Thr Gly Thr Ala Cys Ala Cys Cys Cys Thr
 6605 6610 6615
 Gly Cys Cys Cys Cys Cys Ala Thr Cys Cys Cys Gly Gly Gly Ala
 6620 6625 6630
 Thr Gly Ala Gly Cys Thr Gly Ala Cys Cys Ala Ala Gly Ala Ala
 6635 6640 6645
 Cys Cys Ala Gly Gly Thr Cys Ala Gly Cys Cys Thr Gly Ala Cys
 6650 6655 6660
 Cys Thr Gly Cys Cys Thr Gly Gly Thr Cys Ala Ala Ala Gly Gly
 6665 6670 6675
 Cys Thr Thr Cys Thr Ala Thr Cys Cys Cys Ala Gly Cys Gly Ala
 6680 6685 6690
 Cys Ala Thr Cys Gly Cys Cys Gly Thr Gly Gly Ala Gly Thr Gly
 6695 6700 6705
 Gly Gly Ala Gly Ala Gly Cys Ala Ala Thr Gly Gly Gly Cys Ala
 6710 6715 6720
 Gly Cys Cys Gly Gly Ala Gly Ala Ala Cys Ala Ala Cys Thr Ala
 6725 6730 6735
 Cys Ala Ala Gly Ala Cys Cys Ala Cys Gly Cys Cys Thr Cys Cys
 6740 6745 6750
 Cys Gly Thr Gly Cys Thr Gly Gly Ala Cys Thr Cys Cys Gly Ala
 6755 6760 6765

Cys Gly Gly Cys Thr Cys Cys Thr Thr Cys Thr Thr Cys Cys Thr
 6770 6775 6780

Cys Thr Ala Cys Ala Gly Cys Ala Ala Gly Cys Thr Cys Ala Cys
 6785 6790 6795

Cys Gly Thr Gly Gly Ala Cys Ala Ala Gly Ala Gly Cys Ala Gly
 6800 6805 6810

Gly Thr Gly Gly Cys Ala Gly Cys Ala Gly Gly Gly Ala Ala
 6815 6820 6825

Cys Gly Thr Cys Thr Thr Cys Thr Cys Ala Thr Gly Cys Thr Cys
 6830 6835 6840

Cys Gly Thr Gly Ala Thr Gly Cys Ala Thr Gly Ala Gly Gly Cys
 6845 6850 6855

Thr Cys Thr Gly Cys Ala Cys Ala Ala Cys Cys Ala Cys Thr Ala
 6860 6865 6870

Cys Ala Cys Gly Cys Ala Gly Ala Ala Gly Ala Gly Cys Cys Thr
 6875 6880 6885

Cys Thr Cys Cys Cys Thr Gly Thr Cys Thr Cys Cys Gly Gly Gly
 6890 6895 6900

Thr Ala Ala Ala Thr Ala Ala Thr Gly Gly Ala Thr Cys Cys Gly
 6905 6910 6915

Cys Gly Gly Ala Ala Ala Gly Ala Ala Gly Ala Ala Gly Ala Ala
 6920 6925 6930

Gly Ala Ala Gly Ala Ala Gly Ala Ala Ala Gly Cys Cys Cys Gly
 6935 6940 6945

Ala Ala Ala Gly Gly Ala Ala Gly Cys Thr Gly Ala Gly Thr Thr
 6950 6955 6960

Gly Gly Cys Thr Gly Cys Thr Gly Cys Cys Ala Cys Cys Gly Cys
 6965 6970 6975

Thr Gly Ala Gly Cys Ala Ala Thr Ala Ala Cys Thr Ala Gly Cys
 6980 6985 6990

Ala Thr Ala Ala Cys Cys Cys Cys Thr Thr Gly Gly Gly Cys
 6995 7000 7005

-Cys Thr Cys Thr Ala Ala Ala Cys Gly Gly Gly THR Cys Thr Thr
 7010 7015 7020

010435

Gly Ala Gly Gly Gly Thr Thr Thr Thr Thr Gly Cys Thr
 7025 7030 7035

Gly Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gly Ala Ala Cys Cys Gly Cys
 7040 7045 7050

Thr Cys Thr Thr Cys Ala Cys Gly Cys Thr Cys Thr Cys Ala
 7055 7060 7065

Cys Gly Cys Gly Gly Ala Thr Ala Ala Ala Thr Ala Ala Gly Thr
 7070 7075 7080

Ala Ala Cys Gly Ala Thr Cys Cys Gly Gly Thr Cys Cys Ala Gly
 7085 7090 7095

Thr Ala Ala Thr Gly Ala Cys Cys Thr Cys Ala Gly Ala Ala Cys
 7100 7105 7110

Thr Cys Cys Ala Thr Cys Thr Gly Gly Ala Thr Thr Thr Gly Thr
 7115 7120 7125

Thr Cys Ala Gly Ala Ala Cys Gly Cys Thr Cys Gly Gly Thr Thr
 7130 7135 7140

Gly Cys Cys Gly Cys Cys Gly Gly Gly Cys Gly Thr Thr Thr Thr
 7145 7150 7155

Thr Thr Ala Thr Thr Gly Gly Thr Gly Ala Gly Ala Ala Thr Cys
 7160 7165 7170

Gly Cys Ala Gly Cys Ala Ala Cys Thr Thr Gly Thr Cys Gly Cys
 7175 7180 7185

Gly Cys Cys Ala Ala Thr Cys Gly Ala Gly Cys Cys Ala Thr Gly
 7190 7195 7200

Thr Cys Gly Thr Cys Gly Thr Cys Ala Ala Cys Gly Ala Cys Cys
 7205 7210 7215

Cys Cys Cys Cys Ala Thr Thr Cys Ala Ala Gly Ala Ala Cys Ala
 7220 7225 7230

Gly Cys Ala Ala Gly Cys Ala Gly Cys Ala Thr Thr Gly Ala Gly
 7235 7240 7245

Ala Ala Cys Thr Thr Gly Gly Ala Ala Thr Cys Cys Ala Gly
 7250 7255 7260

Thr Cys Cys Cys Thr Cys Thr Thr Cys Cys Ala Cys Cys Thr Gly
 7265 7270 7275

Cys Thr Gly Ala Cys Cys Gly
7280 7285

<210> 29
<211> 14
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Предпочтительные TALL-1 модулирующие домены
<400> 29

Pro Gly Thr Cys Phe Pro Phe Pro Trp Glu Cys Thr His Ala
1 5 10

<210> 30
<211> 14
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Предпочтительные TALL-1 модулирующие домены
<400> 30

Trp Gly Ala Cys Trp Pro Phe Pro Trp Glu Cys Phe Lys Glu
1 5 10

<210> 31
<211> 14
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Предпочтительные TALL-1 модулирующие домены
<400> 31

Val Pro Phe Cys Asp Leu Leu Thr Lys His Cys Phe Glu Ala
1 5 10

<210> 32
<211> 18
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Предпочтительные TALL-1 модулирующие домены
<400> 32

Gly Ser Arg Cys Lys Tyr Lys Trp Asp Val Leu Thr Lys Gln Cys Phe
1 5 10 15

His His

<210> 33
<211> 18
<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Предпочтительные TALL-1 модулирующие домены

<400> 33

Leu	Pro	Gly	Cys	Lys	Trp	Asp	Leu	Leu	Ile	Lys	Gln	Trp	Val	Cys	Asp
1				5					10				15		

Pro Leu

<210> 34

<211> 18

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Предпочтительные TALL-1 модулирующие домены

<400> 34

Ser	Ala	Asp	Cys	Tyr	Phe	Asp	Ile	Leu	Thr	Lys	Ser	Asp	Val	Cys	Thr
1				5					10				15		

Ser Ser

<210> 35

<211> 18

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Предпочтительные TALL-1 модулирующие домены

<400> 35

Ser	Asp	Asp	Cys	Met	Tyr	Asp	Gln	Leu	Thr	Arg	Met	Phe	Ile	Cys	Ser
1				5					10				15		

Asn Leu

<210> 36

<211> 18

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Предпочтительные TALL-1 модулирующие домены

<400> 36

Asp	Leu	Asn	Cys	Lys	Tyr	Asp	Glu	Leu	Thr	Tyr	Lys	Glu	Trp	Cys	Gln
1				5					10				15		

Phe Asn

<210> 37
 <211> 18
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Предпочтительные TALL-1 модулирующие домены
 <400> 37

 Phe His Asp Cys Lys Tyr Asp Leu Leu Thr Arg Gln Met Val Cys His
 1 5 10 15

Gly Leu

<210> 38
 <211> 18
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Предпочтительные TALL-1 модулирующие домены
 <400> 38

 Arg Asn His Cys Phe Trp Asp His Leu Leu Lys Gln Asp Ile Cys Pro
 1 5 10 15

Ser Pro

<210> 39
 <211> 18
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Предпочтительные TALL-1 модулирующие домены
 <400> 39

 Ala Asn Gln Cys Trp Trp Asp Ser Leu Thr Lys Lys Asn Val Cys Glu
 1 5 10 15

Phe Phe

<210> 40
 <211> 8
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Полиглициновые линкеры
 <400> 40
 gggkggggg
 -
 <210> 41

<211> 8
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Полиглициновые линкеры

<220> misc_признак
 <221> (4)..(4)
 <223> N обозначает аспарагин

<400> 41
 gggngsgg

8

<210> 42
 <211> 8
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Полиглициновые линкеры

<400> 42
 gggcgggg

8

<210> 43
 <211> 5
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Полиглициновые линкеры

<400> 43

Gly Pro Asn Gly Gly
 1 5

<210> 44
 <211> 19
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Пептидная связь

<220> misc_признак
 <221> (19)..(19)
 <223> Xaa = пептидная связь

Fc домен присоединён в положение 19 к C-концу

<400> 44

Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys Asp
 1 5 10 15

~~Pro-Leu-Xaa~~

<210> 45
<211> 19
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пептидная связь

<220>
<221> misc_признак
<222> (1) .. (1)
<223> Xaa = пептидная связь

Fc домен присоединён в положение 1 к N- концу

<400> 45

Xaa Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys
1 5 10 15

Asp Pro Leu

<210> 46
<211> 38
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пептидная связь

<220>
<221> misc_признак
<222> (38) .. (38)
<223> Xaa = пептидная связь

Fc домен присоединён в положение 38 к C- концу

<220>
<221> misc_признак
<222> (19) .. (19)
<223> Xaa = пептидная связь

<400> 46

Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys Asp
1 5 10 15

Pro Leu Xaa Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp
20 25 30

Val Cys Asp Pro Leu Xaa
35

<210> 47
<211> 38
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пептидная связь

<220> misc_признак
<221>
<222> (1) .. (1)
<223> Xaa = пептидная связь

Fc домен присоединён в положение 1 к N- концу

<220> misc_признак
<221>
<222> (20) .. (20)
<223> Xaa = пептидная связь

<400> 47

Xaa	Leu	Pro	Gly	Cys	Lys	Trp	Asp	Leu	Leu	Ile	Lys	Gln	Trp	Val	Cys
1				5									10		15

Asp	Pro	Leu	Xaa	Leu	Pro	Gly	Cys	Lys	Trp	Asp	Leu	Leu	Ile	Lys	Gln
				20				25					30		

Trp	Val	Cys	Asp	Pro	Leu
		35			

<210> 48
<211> 19
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пептидная связь

<220> misc_признак
<221>
<222> (19) .. (19)
<223> Xaa = пептидная связь

Fc домен присоединён в положение 19 к C- концу

<400> 48

Ser	Ala	Asp	Cys	Tyr	Phe	Asp	Ile	Leu	Thr	Lys	Ser	Asp	Val	Cys	Thr
1					5								10		15

Ser Ser Xaa

<210> 49
<211> 19
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пептидная связь

<220> misc_признак
<221>
<222> (1) .. (1)
<223> Xaa = пептидная связь

Fc домен присоединён в положение 1 к N- концу

<400> 49

Xaa Ser Ala Asp Cys Tyr Phe Asp Ile Leu Thr Lys Ser Asp Val Cys
 1 5 10 15

Thr Ser Ser

<210> 50
 <211> 36
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Пептидная связь

<220>
 <221> misc_признак
 <222> (36)..(36)
 <223> Xaa = пептидная связь

Fc домен присоединён в положение 36 к C- концу

<220> misc_признак
 <221> (18)..(18)
 <223> Xaa = пептидная связь

<400> 50

Ser Ala Asp Cys Tyr Phe Asp Ile Leu Thr Lys Ser Asp Val Thr Ser
 1 5 10 15

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

Thr Ser Ser Xaa
 35

<210> 51
 <211> 36
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Пептидная связь

<220>
 <221> misc_признак
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa = пептидная связь

Fc домен присоединён в положение 1 к N- концу¹

<220> misc_признак
 <221> (19)..(19)
 <223> Xaa = пептидная связь

<400> 51

Xaa Ser Ala Asp Cys Tyr Phe Asp Ile Leu Thr Lys Ser Asp Val Thr

1

5

10

15

Ser Ser Xaa Ser Ala Asp Cys Tyr Phe Asp Ile Leu Thr Lys Ser Asp
 20 25 30

Val Thr Ser Ser
 35

<210> 52
 <211> 19
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

<220> |
 <223> Пептидная связь |

<220> |
 <221> misc_признак |
 <222> | (19) .. (19)
 <223> | Хаа = пептидная связь

Fc домен присоединяется в положение 19 к С- концу

<400> 52

Phe His Asp Cys Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Val Cys His
 1 5 10 15

Gly Leu Xaa

<210> 53
 <211> 19
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность |

<220> |
 <223> Пептидная связь |

<220> |
 <221> misc_признак |
 <222> | (1) .. (1)
 <223> | Хаа = пептидная связь

Fc домен присоединяется в положение 1 к N- концу

<400> 53

Xaa Phe His Asp Cys Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Val Cys
 1 5 10 15

His Gly Leu

<210> 54
 <211> 38
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

<220> |
 <223> Пептидная связь |

<220>
<221> misc_признак
<222> (19) .. (19)
<223> Xaa = пептидная связь

<220>
<221> misc_признак
<222> (38) .. (38)
<223> Xaa = пептидная связь

Fc домен присоединён в положение 38 к C- концу

<400> 54

Phe	His	Asp	Cys	Lys	Trp	Asp	Leu	Leu	Thr	Lys	Gln	Trp	Val	Cys	His
1				5						10			15		

Gly	Leu	Xaa	Phe	His	Asp	Cys	Lys	Trp	Asp	Leu	Leu	Thr	Lys	Gln	Trp
		20										25			30

Val	Cys	His	Gly	Leu	Xaa
	35				

<210> 55
<211> 38
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Пептидная связь

<220>
<221> misc_признак
<222> (1) .. (1)
<223> Xaa = пептидная связь

Fc домен присоединён в положение 1 к N- концу

<220>
<221> misc_признак
<222> (20) .. (20)
<223> Xaa = пептидная связь

<400> 55

Xaa	Phe	His	Asp	Cys	Lys	Trp	Asp	Leu	Leu	Thr	Lys	Gln	Trp	Val	Cys
1					5					10			15		

His	Gly	Leu	Xaa	Phe	His	Asp	Cys	Lys	Trp	Asp	Leu	Leu	Thr	Lys	Gln
		20										25			30

Trp	Val	Cys	His	Gly	Leu
	35				

<210> 56
<211> 25
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

```

<220>
<223> Олигонуклеотид

<400> 56
cggcgcaact atcggtatca agctg                                25

<210> 57
<211> 26
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Олигонуклеотид

<400> 57
catgtaccgt aacactgagt ttgcgc                                26

<210> 58
<211> 18
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Консенсусный пептид

<400> 58

Phe His Asp Cys Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Val Cys His
1           5          10          15

Gly Leu

<210> 59
<211> 23
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Предпочитительная линкерная последовательность

<400> 59

Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Thr Ala Ser Ser Gly
1           5          10          15

Ser Gly Ser Ala Thr His Met
20

<210> 60
<211> 18
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Предпочитительные TALL-1 модулирующие домены

<400> 60

Asn Gln Thr Leu Trp Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Phe Ile Thr
1           5          10          15

```

Tyr Met

<210> 61
<211> 18
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Предпочтительные TALL-1 модулирующие домены

<400> 61

Pro Val Tyr Gln Gly Trp Trp Asp Thr Leu Thr Lys Leu Tyr Ile Trp
1 5 10 15

Asp Gly

<210> 62
<211> 18
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Предпочтительные TALL-1 модулирующие домены

<400> 62

Trp Leu Asp Gly Gly Trp Arg Asp Pro Leu Ile Lys Arg Ser Val Gln
1 5 10 15

Leu Gly

<210> 63
<211> 18
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Предпочтительные TALL-1 модулирующие домены

<400> 63

Gly His Gln Gln Phe Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Val Gln
1 5 10 15

Ser Asn

<210> 64
<211> 18
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Предпочтительные TALL-1 модулирующие домены

<400> 64

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

Gly Ser

<210> 65
 <211> 18
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Предпочтительные TALL-1 модулирующие домены
 <400> 65

Gln Ala Gln Gly Trp Ser Tyr Asp Ala Leu Ile Lys Thr Trp Ile Arg
 1 5 10 15

Trp Pro

<210> 66
 <211> 18
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Предпочтительные TALL-1 модулирующие домены
 <400> 66

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

Trp Met

<210> 67
 <211> 18
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Предпочтительные TALL-1 модулирующие домены
 <400> 67

Gly His Pro Thr Tyr Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Ile Leu
 1 5 10 15

Gln Met

<210> 68
 <211> 18
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Предпочтительные TALL-1 модулирующие домены

<400> 68

Trp	Asn	Asn	Trp	Ser	Leu	Trp	Asp	Pro	Leu	Thr	Lys	Leu	Trp	Leu	Gln
1	.				5					10					15

Gln Asn

<210> 69

<211> 18

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Предпочтительные TALL-1 модулирующие домены

<400> 69

Trp	Gln	Trp	Gly	Trp	Lys	Trp	Asp	Leu	Leu	Thr	Lys	Gln	Trp	Val	Gln
1					5					10					15

Gln Gln

<210> 70

<211> 18

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Предпочтительные TALL-1 модулирующие домены

<400> 70

Gly	Gln	Met	Gly	Trp	Arg	Trp	Asp	Pro	Leu	Thr	Lys	Met	Trp	Leu	Gly
1					5					10					15

Thr Ser

<210> 71

<211> 62

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Олигонуклеотиды

<400> 71

tatgcgggt acttgttcc cgttccccgtg ggaatgcact cacgctggcg gagggcggtgg

60

gg

62

<210> 72

<211> 64

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

```

<220>    Олигонуклеотиды
<223>    Олигонуклеотиды

<400> 72
tcgaccccac cgcctcctgg agcgtagtg cattccccacg ggaaggcccaa acaagttaccc      60
64
ggca

<210> 73
<211> 62
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Олигонуклеотиды

<400> 73
tatgtgggt gcttggc cgttcccgtg ggaatgtttc aaagaagggtg gaggcggtgg      60
62
gg

<210> 74
<211> 64
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Олигонуклеотиды

<400> 74
tcgaccccac cgcctccacc ttctttgaaa cattccccacg ggaacggcca acaagcaccc      60
64
caca

<210> 75
<211> 62
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Олигонуклеотиды

<400> 75
tatggttccg ttctgtgacc tgctgactaa acactgtttc gaagctggtg gaggcggtgg      60
62
gg

<210> 76
<211> 64
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Олигонуклеотиды

<400> 76
tcgaccccac cgcctccacc agtttcgaaa cagtgtttag tcagcaggta acagaacggta      60
64
acca

<210> 77
<211> 74
<212> ДНК

```

<213> Искусственная последовательность¹

<220>

<223> Олигонуклеотиды

<400> 77
tatgggttct cgttgtaaat acaaatggga cgttctgact aaacagtgtt tccaccacgg 60
tggaggcggt gggg 74

<210> 78
<211> 76
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Олигонуклеотиды

<400> 78
tcgaccccccac cgccctccacc gtggtgaaaa cactgttttag tcagaacgtc ccatttgtat 60
ttacaacccag aaccca 76

<210> 79
<211> 74
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Олигонуклеотиды

<400> 79
tatgcgtgccg ggttgtaaat gggacctgct gatcaaacag tgggtttgtg acccgctggg 60
tggaggcggt gggg 74

<210> 80
<211> 76
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Олигонуклеотиды

<400> 80
tcgaccccccac cgccctccacc cagcgggtca caaaccctact gtttgatcag caggtcccat 60
ttacaaccccg gcagca 76

<210> 81
<211> 74
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Олигонуклеотиды

<400> 81
tatgtctgtct gactgttact tcgacatcct gactaaatct gacgtttgtt cttcttctgg 60
tggaggcggt gggg 74

<210> 82

<211>	76		
<212>	ДНК		
<213>	Искусственная последовательность		
<220>			
<223>	Олигонуклеотиды		
<400>	82		
tgcaccccac cgccctccacc agaagaagta caaacgtcag attttagtcag gatgtcgaag	60		
taacagttagt cagaca	76		
<210>	83		
<211>	74		
<212>	ДНК		
<213>	Искусственная последовательность		
<220>			
<223>	Олигонуклеотиды		
<400>	83		
tatgtctgac gactgtatgt acgaccagct gactcgatg ttcatctgtt ctaacctggg	60		
tggaggcgggt gggg	74		
<210>	84		
<211>	76		
<212>	ДНК	/	
<213>	Искусственная последовательность		
<220>			
<223>	Олигонуклеотиды		
<400>	84		
tgcaccccac cgccctccacc caggttagaa cagatgaaca tacgagtcag ctggcgtac	60		
atacagtgcgt cagaca	76		
<210>	85		
<211>	74		
<212>	ДНК		
<213>	Искусственная последовательность		
<220>			
<223>	Олигонуклеотиды		
<400>	85		
tatggacctg aactgtaaat acgacgaact gacttacaaa gaatggtgac agttcaacgg	60		
tggaggcgggt gggg	74		
<210>	86		
<211>	76		
<212>	ДНК		
<213>	Искусственная последовательность		
<220>			
<223>	Олигонуклеотиды		
<400>	86		
tgcaccccac cgccctccacc gttgaactga caccattttt tggtaagtcaag ttccgtcgtat	60		
ttacagttca ggtcca	76		

<210> 87		
<211> 74		
<212> ДНК		
<213> Искусственная последовательность		
<220>		
<223> Олигонуклеотиды		
<400> 87		
tatgttccac gactgtaaat acgacacctgtat gactcgtagatggtttgc acggctctggg	60	
tggaggcgggt gggg	74	
<210> 88		
<211> 76		
<212> ДНК		
<213> Искусственная последовательность		
<220>		
<223> Олигонуклеотиды		
<400> 88		
tgcaccccaac cgcctccacc cagaccgtga caaaccatct gacgagtcag caggctgtat	60	
ttacaagtgcgt ggaaca	76	
<210> 89		
<211> 74		
<212> ДНК		
<213> Искусственная последовательность		
<220>		
<223> Олигонуклеотиды		
<400> 89		
tatgcgttaac cactgtttct gggaccacct gctgaaaacag gacatctgtc cgtctccggg	60	
tggaggcgggt gggg	74	
<210> 90		
<211> 76		
<212> ДНК		
<213> Искусственная последовательность		
<220>		
<223> Олигонуклеотиды		
<400> 90		
tgcaccccaac cgcctccacc cggagacgga cagatgtctt gtttcagcag gtggtcccag	60	
aaacagtgggt tacgca	76	
<210> 91		
<211> 74		
<212> ДНК		
<213> Искусственная последовательность		
<220>		
<223> Олигонуклеотиды		
<400> 91		
tatgcgttaac cagtgttggt gggactctct gctgaaaaaa aacgtttgtg aattcttcgg	60	

tggaggcggt gggg	74
<210> 92	
<211> 76	
<212> ДНК	
<213> Искусственная последовательность	
<220>	
<223> Олигонуклеотиды	
<400> 92	
tcgaccccac cgccctccacc gaagaattca caaacgtttt ttttcagcag agagtcccac	60
caaacactggt tagcca	76
<210> 93	
<211> 74	
<212> ДНК	
<213> Искусственная последовательность	
<220>	
<223> Олигонуклеотиды	
<400> 93	
tatgttccac gactgcaaat gggacctgct gaccaaacag tgggtttgcc acggctctggg	60
tggaggcggt gggg	74
<210> 94	
<211> 76	
<212> ДНК	
<213> Искусственная последовательность	
<220>	
<223> Олигонуклеотиды	
<400> 94	
tcgaccccac cgccctccacc cagaccgtgg caaaccact gtttggttag caggtcccat	60
ttgcagtcgt ggaaca	76
<210> 95	
<211> 141	
<212> ДНК	
<213> Искусственная последовательность	
<220>	
<223> Вектор pAMG21-RANK-Fc	
<400> 95	
ctaattccgc tctcacctac caaacaatgc cccctgcaa aaaataaatt catataaaaa	60
acatacagat aaccatctgc ggtgataaaat tatctctggc ggtgttgaca taaataccac	120
tggcggtgat actgagcaca t	141
<210> 96	
<211> 55	
<212> ДНК	
<213> Искусственная последовательность	
<220>	
<223> Вектор pAMG21-RANK-Fc	

<400> 96	cgatttgatt ctagaaggag gaataacata tggtaacgc gttggaattc ggtac	55
<210> 97		
<211> 1546		
<212> ДНК		
<213> Искусственная последовательность		
- <220>		
<223> pAMG21		
<400> 97	gcgttaacgta tgcatggct ccccatgcga gagtagggaa ctgccaggca tcaaataaaa	60
cgtttaggttc agtcgaaaga ctggccctt cgtttatct gttgtttgtc ggtgaacgct		120
ctcctgagta ggacaaatcc gcccggagcg gatttgaacg ttgcgaagca acggcccgga		180
gggtggcggg caggacgccc gccataaact gccaggcatc aaattaagca gaaggccatc		240
ctgacggatg gccttttgc gttttacaa actctttgt ttattttct aaatacatc		300
aaatatggac gtcgtactta acttttaag tatggcaat caattgctcc tggtaaaatt		360
gttttagaaa tactttggca ggggttgtt gtattgagtt tcatttgccgc attggtaaa		420
tggaaagtga ccgtgcgtt actacagcct aatatttttgg aaatatccca agagctttt		480
ccttcgcattt cccacgcata acattttttt tctttttgg ttaaatcggtt gtttgcattt		540
ttatttgcta tatttatattt tcgataattt tcaactagag aaggaacaat taatggatg		600
ttcatacacg catgtaaaaaa taaactatct atatagttgt ctttctctga atgtgcaaaa		660
ctaagcattt cgaagccattt attagcagta tgaataggaa aactaaaccc agtgataaga		720
cctgtatgatt tcgcttctt aattacattt ggagattttt tatttacagc attgtttca		780
aatatattcc aattaatcgg tgaatgattt gagttttagat aatctactat aggatcatat		840
tttattaaat tagcgtatc ataataattgc ctccatttt taggtaattt atccagaattt		900
gaaatatcag atttaccat agaatgagga taaatgatcg cgagtaaaa atattcacaa		960
tgtaccattt tagtcatatc agataagcat tgatataat cattattgtt tcacaggct		1020
ttaattttat taattttct gtaagtgtcg tcggcattt tgcgtttcat acccatctt		1080
ttatccctac tatttttg tcgcaagttt tgcgtttat atatcattaa aacgtaata		1140
gattgacatt tgatttataat aaattggatt ttttcacac tattatatcg cttgaaatac		1200
aattgtttaa cataagtacc tgcgtatcg tacaggtttgcgcaagaaaa tggtttggta		1260
tagtcgatc atcgatatttgc ttctatattt gttttaacta attaaaggag gaataacata		1320
tggtaacgc gttggaaattc gagctcaacta gtcgtacccgc gcaagggtacc atggaaagctt		1380
actcgaggat ccgcggaaag aagaagaaga agaagaaggc ccgaaaggaa gctgagttgg		1440
ctgcgtccac cgctgagcaa taactagcat aacccttgg ggcctctaaa cgggtcttgc		1500
<u>gggtttttt gctgaaaggaa_ggaaccgctc_ttcacgtct_tcacgc</u>		1546
<210> 98		

<211> 872
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <223> GM221

 <400> 98
 ttatTTcgt gcggccgcac cattatcacc gccagaggta aactagtcaa cacgcacgg 60
 gtttagatatt tatcccttc ggtgatagat tgacacatc gatttggattc tagaaggagg 120
 gataatatat gagcacaaaa aagaaaccat taacacaaga gcagcttgag gacgcacgtc 180
 gccttaaaggc aatttatgaa aaaaagaaaa atgaacttgg cttatcccag gaatctgtcg 240
 cagacaagat ggggatgggg cagttagggcg ttggtgcttt atttaatggc atcaatgcat 300
 taaatgctta taacgccgca ttgcttacaa aaattctcaa agtttagcggtt gaagaattta 360
 - gcccttcaat cgccagagaa tctacgagat gtatgaagcg gtttagtatgc agccgtca 420
 tagaagttagtacg tcttttttc tcatgttcag gcagggatgt tctcacctaa 480
 gcttagaacc ttacccaaag gtgatgcggg gagatgggta agcacaacca aaaaagccag 540
 tgattctgca ttctggcttg aggttgaagg taattccatg accgcacccaa caggctccaa 600
 gccaagcttt cctgacggaa tgtaattct ctgttgcacctt gagcaggctg ttgagccagg 660
 tgatttctgc atagccagac ttgggggtga tgagtttacc ttcaagaaac tgatcaggga 720
 tagcggtcag gtgttttac aaccactaaa cccacagtac ccaatgtcc catgcaatga 780
 gagttgttcc gttgtgggaa aagttatcgc tagtcagtgg cctgaagaga cgtttggctg 840
 atagactagt ggatccacta gtgttctgc cc 872

 <210> 99
 <211> 1197
 <212> ДНК |
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <223> GM221

 <400> 99
 ggccggaaacc gacgtccatc gaatggtgca aaaccttgc cggtatggca tgatagcgcc 60
 cggaaagagag tcaattcagg gtggtaatg taaaaccagt aacgttatac gatgtcgtag 120
 agtatgcgg tgcctttat cagaccgttt cccgcgttgtt gaaccaggcc agccacgttt 180
 ctgcgaaaac gccccaaaaa gtcgaagcgg cgatggcggg gctgaattac attcccaacc 240
 gctgtggcaca acaactggcg ggcaaacagt cgctcctgat tggcggttgc acctccagtc 300
 tggccctgca cgcgcgcgtcg caaatgtcg cggcgattaa atctcgccgcatcaactgg 360
 gtgcacaaatct tctcgccaa cgcgtcagtgg cgtgtatcat taactatccg ctggatgacc 420
 - aggtatgcctat tgcgtggaa gctgcctgca ctaatgttcc ggcgttattt ctgtatgtct 480
 ctgaccagac acccatcaac agtattatcc tctccatga agacggtagc cgactggcg 540
 600

tggagcatct	ggtcgcattg	ggtcaccaggc	aaatcgcgct	gttaggggc	ccattaagtt	660
ctgtctcgcc	gcgtctgcgt	ctggctggct	ggcataaata	tctcactcgc	aatcaaattc	720
agccgatagc	ggAACGGGAA	ggcgactgga	gtgccatgtc	cggtttcaa	caaaccatgc	780
aaatgctgaa	tgagggcattc	gttcccactg	cgtatgttgt	tgcacacat	cagatggcgc	840
tgggcgcaat	gcgcgcattt	accgagtcgg	ggctgegcgt	tggtgccgtat	tctcggtat	900
tgggatacga	cgataccgaa	gacagtcat	gttatatccc	gccgttaacc	accatcasac	960
aggatttcg	cctgctgggg	caaaccagcg	tggaccgcctt	gtgcacatc	tctcagggcc	1020
aggcgggtgaa	gggcaatcag	ctgttgcgg	tctcactgtt	gaaaagaaaa	accaccctgg	1080
cgcacaatac	gcAAACCGCC	tctccccgcg	cgttggccga	tccatataatg	cagctggcac	1140
gacaggtttc	ccgactggaa	agcggacagt	aaggtaat	aggatccagg	cacagga	1197

<210> 100

<211> 14

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Модуляторы TALL-1

<220>

<221> misc_признак

<222> (1, 2, 3, 13)..(14)

<223> Xaa (положения 1,2,3,13,14), каждый независимо, отсутствуют или представляют собой аминокислотные остатки;

<220>

<221> misc_признак

<222> (6)..(6)

<223> Xaa (положение 6) обозначает аминокислотный остаток;

<220>

<221> misc_признак

<222> (8)..(8)

или

<223> Xaa (положение 8) обозначает треонил или изолейцил;

<220>

<221> misc_признак

<222> (9)..(9)

<223> Xaa (положение 9) обозначает основной или гидрофобный остаток;

<220>

<221> misc_признак

<222> (10)..(10)

<223> Xaa (положение 10) обозначает аминокислотный остаток;

<220>

<221> misc_признак

<222> (12)..(12)

<223> Xaa (положение 12) обозначает нейтральный гидрофобный остаток.

<400> 100

Xaa Xaa Xaa Cys Asp Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Xaa

1

5

10

<210> 101
 <211> 14
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Модуляторы TALL-1

<220>
 <221> misc_признак
 <222> (1, 2, 3, 12 и)..(13)
 <223> Xaa (положения1,2,3,12,13), каждый независимо, отсутствуют или представляют собой аминокислотные остатки;

<220>
 <221> misc_признак
 <222> (5 и)..(8)
 <223> Xaa (положения5,8) обозначает нейтральный гидрофобный остаток;

<220>
 <221> misc_признак
 <222> (10)..(10)
 <223> Xaa (положение10) обозначает кислый остаток;

<220>
 <221> misc_признак
 <222> (14)..(14)
 <223> Xaa (положение14) отсутствует или обозначает аминокислотный остаток.

<400> 101

Xaa	Xaa	Xaa	Cys	Xaa	Pro	Phe	Xaa	Trp	Xaa	Cys	Xaa	Xaa
1				5					10			

<210> 102
 <211> 14
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Модулятор TALL-1

<220>

<221> misc_признак
 <222> (1, 2, 3, 12, 13 и)..(14)
 <223> Xaa (положения 1,2,3,12,13,14), каждый независимо, отсутствуют или представляют собой аминокислотные остатки;

<220>
 <221> misc_признак
 <222> (6 и)..(7)
 <223> Xaa (положения 6,7) обозначает гидрофобный остаток;

<220>
 <221> misc_признак
 <222> (10)..(10)
 <223> Xaa (положение 10) обозначает кислый или полярный гидрофобный остаток.

<400> 102

Xaa	Xaa	Xaa	Cys	Trp	Xaa	Xaa	Trp	Gly	Xaa	Cys	Xaa	Xaa	Xaa
1				5				10					

<210> 103
 <211> 14
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Модулятор TALL-1

<220>
 <221> misc_признак
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa (положение 1) отсутствует или представляет собой аминокислотный остаток;

<220>
 <221> misc_признак
 <222> (2 и)..(14)
 <223> Xaa (положения 2,14) обозначает нейтральный гидрофобный остаток;

<220>
 <221> misc_признак
 <222> (3 и)..(10)
 <223> Xaa (положения 3,10) обозначает аминокислотный остаток;

<220>
 <221> misc_признак
 <222> (5, 6, 7, 8, 12 и)..(13)
 <223> Xaa (положения 5,6,7,8,12,13), каждый независимо, обозначают аминокислотные остатки;

<220>
 <221> misc_признак
 <222> (9)..(9)
 <223> Xaa (положение 9) обозначает кислый остаток.

<400> 103

Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Xaa
 1 5 10

<210> 104
 <211> 18
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Модулятор TALL-1

<220>
 <221> misc_признак
 <222> (1, 2, 12, 13, 16, 17 и)..(18)
 <223> Xaa (положения 1,2,12,13,16,17,18), каждый независимо, отсутствуют или представляют собой аминокислотные остатки;

<220>
 <221> misc_признак
 <222> (3)..(3)
 <223> Xaa (положение 3) обозначает кислый или амидный остаток;

<220>
 <221> misc_признак
 <222> (5 и)..(8)
 <223> Xaa (положения 5,8) обозначает аминокислотный остаток;

<220>
 <221> misc_признак
 <222> (6)..(6)

<223> Xaa (положение 6) обозначает ароматический остаток;

<220>

<221> misc_признак

<222> (10)..(10)

<223> Xaa (положение 10) обозначает Т или I;

<220>

<221> misc_признак

<222> (11)..(11)

<223> Xaa (положение 11) обозначает основной остаток;

<220>

<221> misc_признак

<222> (14)..(14)

<223> Xaa (положение 14) обозначает нейтральный гидрофобный остаток.

<400> 104

Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Asp Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa

1 5 10 15

Xaa Xaa

<210> 105

<211> 18

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Модулятор TALL-1

<220>

<221> misc_признак

<222> (1, 2 и..(3)

<223> Xaa (положения 1,2,3), каждый независимо, отсутствуют или представляют собой аминокислотный остатки;

<220>

<221> misc_признак

<222> (5, 7, 14 и..(16)

<223> Xaa (положения 5,7,14,16) обозначает аминокислотный остаток;

<220>
 <221> misc_признак
 <222> (9)..(9)
 <223> Xaa (положение 9) обозначает T или I;

 <220>
 <221> misc_признак
 <222> (10)..(10)
 <223> Xaa (положение10) обозначает основной остаток;

 <220>
 <221> misc_признак
 <222> (11 и)..(12)
 <223> Xaa (положения 11,12), каждый независимо, обозначают аминокислотные остатки;

 <220>
 <221> misc_признак
 <222> (13 и)..(17)
 <223> Xaa (положения 13,17) обозначает нейтральный гидрофобный остаток;

 <220>
 <221> misc_признак
 <222> (18)..(18)
 <223> Xaa (положение 18) обозначает аминокислотный остаток или отсутствует.

<400> 105

Xaa	Xaa	Xaa	Cys	Xaa	Asp	Xaa	Leu	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Cys	Xaa
1				5				10				15	

Xaa Xaa

<210> 106
 <211> 18
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <223> Модулятор TALL-1

<220>
 <221> misc_признак
 <222> (1, 2, 3, 16, 17 и)..(18)
 <223> Xaa (положения 1,2,3,16,17,18), каждый независимо, отсутствуют или представляют собой аминокислотные остатки;

<220>
 <221> misc_признак
 <222> (5, 6, 7, 10 и)..(14)
 <223> Xaa (положения 5,6,7,10,14), каждый независимо, обозначают аминокислотные остатки.

<220>
 <221> misc_признак
 <222> (12)..(12)
 <223> Xaa (положение 12) обозначает Т или І;

<220>
 <221> misc_признак
 <222> (13)..(13)
 <223> Xaa (положение 13) обозначает аминокислотный остаток;

<400> 106

Xaa	Xaa	Xaa	Cys
1	5	10	15

Xaa Xaa

<210> 107
 <211> 18
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Модулятор TALL-1

<220>
 <221> misc_признак
 <222> (1,2,3,15,16,17)..(18)

<223> Xaa (положения 1,2,3,15,16,17,18), каждый независимо, отсутствуют или представляют собой аминокислотные остатки;

<220>

<221> misc_признак

<222> (5, 6, 7, 9 и)..(13)

<223> Xaa (положения 5,6,7,9 13), каждый независимо, обозначают аминокислотные остатки;

<220>

<221> misc_признак

<222> (11)..(11)

<223> Xaa (положение 11) обозначает Т или I; и

<400> 107

Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Asp Xaa Leu Xaa Lys Xaa Cys Xaa Xaa
 1 5 10 15

Xaa Xaa

<210> 108

<211> 4

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Модулятор TALL-1

<220>

<221> misc_признак

<222> (2)..(2)

<223> X в (положении 2) обозначает аминокислотный остаток;

<220>

<221> misc_признак

<222> (4)..(4)

<223> X в (положении 4) обозначает треонил или изолейцил

<400> 108

Asp Xaa Leu Xaa

1

<210> 109
 <211> 14
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Модулятор TALL-1

<220>
 <221> misc_признак
 <222> (1, 2 и)..(3)
 <223> X в (положениях 1, 2, 3) отсутствует или обозначает аминокислотные остатки (при этом предпочтительно, чтобы один из X1, X2 и X3 обозначал C, когда один из X12, X13 и X14 обозначает C);

<220>
 <221> misc_признак
 <222> (5)..(5)
 <223> X в (положении 5) обозначает W, Y или F (предпочтительно, W);

<220>
 <221> misc_признак
 <222> (7)..(7)
 <223> X в (положении 7) обозначает аминокислотный остаток (предпочтительно, L);

<220>
 <221> misc_признак
 <222> (9)..(9)
 <223> X в (положении 9) обозначает T или I (предпочтительно, T);

<220>
 <221> misc_признак
 <222> (10)..(10)
 <223> X в (положении 10) обозначает K, R или H (предпочтительно, K).

<220>
 <221> misc_признак
 <222> (12)..(12)
 <223> X в (положении 12) обозначает C, нейтральный гидрофобный остаток или основной остаток (предпочтительно, W, C или R);

<220>
 <221> misc_признак
 <222> (13)..(13)
 <223> X в (положении 13) обозначает C, нейтральный гидрофобный остаток или отсутствует (предпочтительно, V);

<220>
 <221> misc_признак
 <222> (14)..(14)
 <223> X в (положении 14) обозначает любой аминокислотный остаток или отсутствует.

<400> 109

Xaa Xaa Xaa Lys Xaa Asp Xaa Leu Xaa Xaa Gln Xaa Xaa Xaa

<210> 110
<211> 5
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность
-
<220>
<223> Модулятор TALL-1

<400> 110

Pro Phe Pro Trp Glu
1 5

<210> 111
<211> 248
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> "Пептила", ингибирующие TALL-1

<400> 111

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

Gly Gly Gly Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
20 25 30

Pro-Glu-Leu-Leu-Gly-Gly-Pro-Ser-Val Phe-Leu-Phe-Pro-Pro-Lys-Pro
35 40 45

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
 50 55 60

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
 65 70 75 80

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
 85 90 95

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
 100 105 110

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
 115 120 125

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
 130 135 140

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
 145 150 155 160

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 165 170 175

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
 180 185 190

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
 195 200 205

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
 210 215 220

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 225 230 235 240

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 245

<210> 112
 <211> 248
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> "Пептила", ингибирующие TALL-1
 <400> 112

Met Trp Gly Ala Cys Trp Pro Phe Pro Trp Glu Cys Phe Lys Glu Gly
 1 5 10 15

Gly Gly Gly Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala

20

25

30

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
 35 40 45

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
 50 55 60

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
 65 70 75 80

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
 85 90 95

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
 100 105 110

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
 115 120 125

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
 130 135 140

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
 145 150 155 160

Lys Asn Gln Val Ser, Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 165 170 175

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
 180 185 190

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
 195 200 205

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
 210 215 220

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 225 230 235 240

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 245

<210> 113

<211> 248

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> "Пептила", ингибирующие TALL-1

<400> 113

Met Val Pro Phe Cys Asp Leu Leu Thr Lys His Cys Phe Glu Ala Gly
 1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
 20 25 30

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
 35 40 45

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
 50 55 60

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
 65 70 75 80

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
 85 90 95

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
 100 105 110

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
 115 120 125

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
 130 135 140

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
 145 150 155 160

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 165 170 175

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
 180 185 190

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
 195 200 205

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
 210 215 220

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 225 230 235 240

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 245

<210> 114
 <211> 252
 <212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> "Пептида", ингибирующие TALL-1

<400> 114

Met	Gly	Ser	Arg	Cys	Lys	Tyr	Lys	Trp	Asp	Val	Leu	Thr	Lys	Gln	Cys
1				5				10					15		

Phe	His	His	Gly	Gly	Gly	Gly	Val	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro
							20		25			30		

Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe
					35			40			45				

Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val
					50			55			60				

Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe
					65			70		75		80			

Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro
					85			90			95				

Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr
					100			105			110				

Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val
					115			120			125				

Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala
					130			135			140				

Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg
					145			150		155		160			

Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly
					165			170			175				

Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro
					180			185			190				

Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser
					195			200			205				

Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln
					210			215			220				

Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His
					225			230		235	...		240		

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

<210> 115
<211> 252
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> "Пептила", ингибирующие TALL-1
<400> 115

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

Asp Pro Leu Gly Gly Gly Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
20 25 30

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
35 40 45

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
50 55 60

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
65 70 75 80

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
85 90 95

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
100 105 110

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
115 120 125

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
130 135 140

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
145 150 155 160

Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
165 170 175

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
180 185 190

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
195 200 205

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
210 215 220

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
 225 230 235 240

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 245 250

<210> 116
 <211> 252
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> "Пептила", ингибирующие TALL-1

<400> 116

Met Ser Ala Asp Cys Tyr Phe Asp Ile Leu Thr Lys Ser Asp Val Cys
 1 5 10 15

Thr Ser Ser Gly Gly Gly Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
 20 25 30

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
 35 40 45

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
 50 55 60

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
 65 70 75 80

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
 85 90 95

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
 100 105 110

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
 115 120 125

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
 130 135 140

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
 145 150 155 160

Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
 165 170 175

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
 180 185 190

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Ile Ser Asp Gly Ser

195	200	205
-----	-----	-----

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln	210 215	220
---	-----------------------------------	-----

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His	225 230	235 240
---	-----------------------------------	-----------------------------------

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys	245	250
---	-----	-----

<210> 117

<211> 252

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> "Пептила", ингибитирующие TALL-1

<400> 117

Met Ser Asp Asp Cys Met Tyr Asp Gln Leu Thr Arg Met Phe Ile Cys	1 5	10 15
---	-------------------------------	---------------------------------

Ser Asn Leu Gly Gly Gly Gly Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro	20 25	30
---	---------------------------------	----

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe	35 40	45
---	---------------------------------	----

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val	50 55	60
---	---------------------------------	----

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe	65 70	75 80
---	---------------------------------	---------------------------------

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro	85	90 95
---	----	---------------------------------

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr	100	105 110
---	-----	-----------------------------------

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val	115	120 125
---	-----	-----------------------------------

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala	130	135 140
---	-----	-----------------------------------

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg	145	150 155 160
---	-----	---

Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly	165	170 175
---	-----	-----------------------------------

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
180 185 190

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
195 200 205

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
210 215 220

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
225 230 235 240

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
245 250

<210> 118
<211> 252
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> "Пептигела", ингибирующие TALL-1

<400> 118

Met Asp Leu Asn Cys Lys Tyr Asp Glu Leu Thr Tyr Lys Glu Trp Cys
 1 5 10 15

Gln Phe Asn Gly Gly Gly Gly Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
20 25 30

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
35 40 45

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
50 55 60

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
65 70 75 80

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
85 90 95

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
 100 105 110

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
115 120 125

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
130 135 140

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg

145	150	155	160
Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly				
165 170 175				
Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro				
180 185 190				
Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser				
195 200 205				
Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln				
210 215 220				
Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His				
225 230 235 240				
Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys				
245 250				
<210> 119				
<211> 252				
<212> Белок				
<213> Искусственная последовательность				
<220>				
<223> "Пептиды", ингибирующие TALL-1				
<400> 119				
Met Phe His Asp Cys Lys Tyr Asp Leu Leu Thr Arg Gln Met Val Cys				
1	5	10	15	
His Gly Leu Gly Gly Gly Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro				
20 25 30				
Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe				
35	40	45		
Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val				
50	55	60		
Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe				
65	70	75	80	
Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro				
85	90	95		
Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr				
100	105	110		
Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val				
115	120	125		

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
 130 135 140

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
 145 150 155 160

Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
 165 170 175

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gln Pro
 180 185 190

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
 195 200 205

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
 210 215 220

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
 225 230 235 240

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 245 250

<210> 120

<211> 252

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> "Пептила", ингибирующие TALL-1

<400> 120

Met Arg Asn His Cys Phe Trp Asp His Leu Leu Lys Gln Asp Ile Cys
 1 5 10 15

Pro Ser Pro Gly Gly Gly Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
 20 25 30

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
 35 40 45

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
 50 55 60

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
 65 70 75 80

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
 85 90 95

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr

100	105	110
-----	-----	-----

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val	115 120 125	
---	---	--

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala	130 135 140	
---	---	--

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg	145 150 155 160	
---	--	--

Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly	165 170 175	
---	---	--

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro	180 185 190	
---	---	--

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser	195 200 205	
---	---	--

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln	210 215 220	
---	---	--

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His	225 230 235 240	
---	--	--

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys	245 250	
---	----------------------------	--

<210> 121

<211> 252

<212> Белок I

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> "Пептигела", ингибирующие TALL-1

<400> 121

Met Ala Asn Gln Cys Trp Trp Asp Ser Leu Thr Lys Lys Asn Val Cys	1 5 10 15	
---	--	--

Glu Phe Phe Gly Gly Gly Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro	20 25 30	
---	--	--

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe	35 40 45	
---	--	--

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val	50 55 60	
---	--	--

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe	65 70 75 80	
---	--	--

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
85 90 95

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
100 105 110

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
115 120 125

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
130 135 140

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
145 150 155 160

Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
165 170 175

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
180 185 190

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
195 200 205

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
210 215 220

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
225 230 235 240

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
245 250

<210> 122

<211> 252

<212> Белок /

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> "Пептила", ингибирующие TALL-1

<400> 122

Met Phe His Asp Cys Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Val Cys
1 5 10 15

His Gly Leu Gly Gly Gly Gly Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
20 25 30

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
35 40 45

=

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val

50

55

60

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
 65 70 75 80

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
 85 90 95

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
 100 105 110

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
 115 120 125

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
 130 135 140

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
 145 150 155 160

Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
 165 170 175

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
 180 185 190

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
 195 200 205

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
 210 215 220

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
 225 230 235 240

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 245 250

<210> 123

<211> 293

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> "Пептидера", ингибитирующие TALL-1

<400> 123

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

Asp Pro Leu Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Thr Ala
 20 25 30

Ser Ser Gly Ser Gly Ser Ala Thr His Met Leu Pro Gly Cys Lys Trp
 35 40 45

Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys Asp Pro Leu Gly Gly Gly
 50 55 60

Gly Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu
 65 70 75 80

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
 85 90 95

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
 100 105 110

Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
 115 120 125

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser
 130 135 140

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
 145 150 155 160

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
 165 170 175

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
 180 185 190

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln
 195 200 205

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
 210 215 220

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
 225 230 235 240

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
 245 250 255

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
 260 265 270

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
 275 280 285

Leu Ser Pro Gly Lys
 290

<210> 124
<211> 293
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> "Пептила", ингибирующие TALL-1
<400> 124

Met Phe His Asp Cys Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Val Cys
1 5 10 15

His Gly Leu Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Thr Ala
20 25 30

Ser Ser Gly Ser Gly Ser Ala Thr His Met Phe His Asp Cys Lys Trp
35 40 45

Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Val Cys His Gly Leu Gly Gly Gly
50 55 60

Gly Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu
65 70 75 80

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
85 90 95

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
100 105 110

Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
115 120 125

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser
130 135 140

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
145 150 155 160

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
165 170 175

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
180 185 190

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln
195 200 205

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
210 215 220

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
} }

225	230	235	240
-----	-----	-----	-----

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu	245	250	255
---	-----	-----	-----

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser	260	265	270
---	-----	-----	-----

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser	275	280	285
---	-----	-----	-----

Leu Ser Pro Gly Lys	290
---------------------	-----

<210> 125

<211> 14

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Консенсусная (согласованная) последовательность

<220> misc_признак

<221> (1, 2 .. .) .. (3)

<223> X в (положениях 1, 2, 3) отсутствует или обозначает аминокислотные остатки (при этом предпочтительно, когда один из X1, X2 и X3 обозначает C, когда один из X12, X13 и X14 обозначает C);

<220>

misc_признак

<221> (7) .. (7)

<223> X в (положении 7) обозначает аминокислотный остаток (предпочтительно, L);

<220>

misc_признак

<221> (9) .. (9)

<223> X в (положении 9) обозначает T или I;

<220>

misc_признак

<221> (12) .. (12)

<223> X в (положении 12) обозначает C, или нейтральный гидрофобный остаток, или основной остаток (предпочтительно, W, C или R);

<220>

misc_признак

<221> (13) .. (13)

<223> X в (положении 13) обозначает C, нейтральный гидрофобный остаток, или отсутствует (предпочтительно, V);

<220> misc_признак ,
 <221> (14)..(14)
 <223> X в (положении 14) обозначает любой аминокислотный остаток или отсутствует

<400> 125

Xaa Xaa Xaa Lys Trp Asp Xaa Leu Xaa Lys Gln Xaa Xaa Xaa
 1 5 10

<210> 126

<211> 18

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Предпочтительные TALL-модулирующие домены

<400> 126

Tyr Lys Gly Arg Gln Met Trp Asp Ile Leu Thr Arg Ser Trp Val Val
 1 5 10 15

Ser Leu

<210> 127

<211> 18

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Предпочтительные TALL-модулирующие домены

<400> 127

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

Asn Ile

<210> 128

<211> 18

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Предпочтительные TALL-модулирующие домены

<400> 128

Gln Asn Ala Gln Arg Val Trp Asp Leu Leu Ile Arg Thr Trp Val Tyr
 1 5 10 15

Pro Gln

<210> 129
 <211> 18
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <223> Предпочтительные TALL-модулирующие домены

 <400> 129

Gly Trp Asn Glu Ala Trp Trp Asp Glu Leu Thr Lys Ile Trp Val Leu
 1 5 10 15

Glu Gln

<210> 130
 <211> 18
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <223> Предпочтительные TALL-модулирующие домены

 <400> 130

Arg Ile Thr Cys Asp Thr Trp Asp Ser Leu Ile Lys Lys Cys Val Pro
 1 5 10 15

Gln Ser

<210> 131
 <211> 18
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <223> Предпочтительные TALL-модулирующие домены

 <400> 131

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

Gln Ser

<210> 132
 <211> 18
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <223> Предпочтительные TALL-модулирующие домены

 <400> 132

Trp-Leu His-Ser Gly-Trp-Trp Asp-Pro-Leu Thr-Lys-His-Trp-Leu Gln
 1 5 10 15

Lys Val

<210> 133
 <211> 18
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Предпочтительные TALL-модулирующие домены
 <400> 133

Ser Glu Trp Phe Phe Trp Phe Asp Pro Leu Thr Arg Ala Gln Leu Lys
 1 5 10 15

Phe Arg

<210> 134
 <211> 18
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Предпочтительные TALL-модулирующие домены
 <400> 134

Gly Val Trp Phe Trp Trp Phe Asp Pro Leu Thr Lys Gln Trp Thr Gln
 1 5 10 15

Ala Gly

<210> 135
 <211> 18
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Предпочтительные TALL-модулирующие домены
 <400> 135

Met Gln Cys Lys Gly Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Lys Trp Cys Val Thr
 1 5 10 15

Asn Gly

<210> 136
 <211> 18
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Предпочтительные TALL-модулирующие домены
 <400> 136

Leu Trp Ser Lys Glu Val Trp Asp Ile Leu Thr Lys Ser Trp Val Ser
 1 5 10 15

Gln Ala

<210> 137
 <211> 18
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Предпочтительные TALL-модулирующие домены
 <400> 137

Lys Ala Ala Gly Trp Trp Phe Asp Trp Leu Thr Lys Val Trp Val Pro
 1 5 10 15

Ala Pro

<210> 138
 <211> 18
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Предпочтительные TALL-модулирующие домены
 <400> 138

Ala Tyr Gln Thr Trp Phe Trp Asp Ser Leu Thr Arg Leu Trp Leu Ser
 1 5 10 15

Thr Thr

<210> 139
 <211> 18
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Предпочтительные TALL-модулирующие домены
 <400> 139

Ser Gly Gln His Phe Trp Trp Asp Leu Leu Thr Arg Ser Trp Thr Pro
 1 5 10 15

Ser Thr

<210> 140
 <211> 18
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Предпочтительные TALL-модулирующие домены

<400> 140

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

Arg Gly

<210> 141

<211> 18

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Предпочтительные TALL-модулирующие домены

<400> 141

Val	Gly	Lys	Met	Cys	Gln	Trp	Asp	Pro	Leu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Cys
1				5						10				15	

Val Gly

<210> 142

<211> 18

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Предпочтительные TALL-модулирующие домены

<400> 142

Cys	Arg	Gln	Gly	Ala	Lys	Phe	Asp	Leu	Leu	Thr	Lys	Gln	Cys	Leu	Leu
1				5						10			15		

Gly Arg

<210> 143

<211> 18

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Предпочтительные TALL-модулирующие домены

<400> 143

Gly	Gln	Ala	Ile	Arg	His	Trp	Asp	Val	Leu	Thr	Lys	Gln	Trp	Val	Asp
1				5						10			15		

Ser Gln

<210> 144

<211> 18
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность
 |
 <220>
 <223> Предпочтительные TALL-модулирующие домены
 <400> 144

Arg Gly Pro Cys Gly Ser Trp Asp Leu Leu Thr Lys His Cys Leu Asp
1 5 10 15

Ser Gln

<210> 145
 <211> 18
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Предпочтительные TALL-модулирующие домены
 <400> 145

Trp Gln Trp Lys Gln Gln Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Met Val Trp
1 5 10 15

Val Gly

<210> 146
 <211> 18
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Предпочтительные TALL-модулирующие домены
 <400> 146

Pro Ile Thr Ile Cys Arg Lys Asp Leu Leu Thr Lys Gln Val Val Cys
1 5 10 15

Leu Asp

<210> 147
 <211> 18
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Предпочтительные TALL-модулирующие домены
 <400> 147

Lys Thr Cys Asn Gly Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Cys Leu Gln
1 5 10 15

Gln Ala

<210> 148
 <211> 18
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Предпочтительные TALL-модулирующие домены
 <400> 148

Lys Cys Leu Lys Gly Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Cys Val Thr
1 5 10 15

Glu Val

<210> 149
 <211> 18
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Предпочтительные TALL-модулирующие домены
 <400> 149

Arg Cys Trp Asn Gly Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Cys Ile His
1 5 10 15

Pro Trp

<210> 150
 <211> 18
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Предпочтительные TALL-модулирующие домены
 <400> 150

Asn Arg Asp Met Arg Lys Trp Asp Pro Leu Ile Lys Gln Trp Ile Val
1 5 10 15

Arg Pro

<210> 151
 <211> 18
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Предпочтительные TALL-модулирующие домены
 <400> 151

Gln Ala Ala Ala Ala Thr Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Leu Val

1

5

10

15

Pro Pro

<210> 152
<211> 18
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Предпочтительные TALL-модулирующие домены
<400> 152

Pro	Glu	Gly	Gly	Pro	Lys	Trp	Asp	Pro	Leu	Thr	Lys	Gln	Phe	Leu	Pro
1				5					10					15	

Pro Val

<210> 153
<211> 18
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Предпочтительные TALL-модулирующие домены
<400> 153

Gln	Thr	Pro	Gln	Lys	Lys	Trp	Asp	Leu	Leu	Thr	Lys	Gln	Trp	Phe	Thr
1				5				10					15		

Arg Asn

<210> 154
<211> 18
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Предпочтительные TALL-модулирующие домены
<400> 154

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

Gln Thr

<210> 155
<211> 18
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Предпочтительные TALL-модулирующие домены

<400> 155

Cys	Thr	Ala	Ala	Gly	Lys	Trp	Asp	Leu	Leu	Thr	Lys	Gln	Cys	Ile	Gln
1					5					10				15	

Glu Lys

<210> 156

<211> 18

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Предпочтительные TALL-модулирующие домены

<400> 156

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

Gly Trp

<210> 157

<211> 18

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Предпочтительные TALL-модулирующие домены

<400> 157

Val	Trp	Gly	Thr	Trp	Lys	Trp	Asp	Leu	Leu	Thr	Lys	Gln	Tyr	Leu	Pro
1					5					10			15		

Pro Gln

<210> 158

<211> 18

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Предпочтительные TALL-модулирующие домены

<400> 158

Gly	Trp	Trp	Glu	Met	Lys	Trp	Asp	Leu	Leu	Thr	Lys	Gln	Trp	Tyr	Arg
1					5					10			15		

Pro Gln

<210> 159

<211> 18

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220> Предпочтительные TALL-модулирующие домены

<400> 159

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

Leu Ala

<210> 160

<211> 18

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Предпочтительные TALL-модулирующие домены

<400> 160

Gln	Leu	Trp	Gly	Thr	Lys	Trp	Asp	Leu	Leu	Thr	Lys	Gln	Tyr	Ile	Gln
1				5					10				15		

Ile Met

<210> 161

<211> 18

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Предпочтительные TALL-модулирующие домены

<400> 161

Trp	Ala	Thr	Ser	Gln	Lys	Trp	Asp	Leu	Leu	Thr	Lys	Gln	Trp	Val	Gln
1				5					10				15		

Asn Met

<210> 162

<211> 18

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Предпочтительные TALL-модулирующие домены

<400> 162

Gln	Arg	Gln	Cys	Ala	Lys	Trp	Asp	Leu	Leu	Thr	Lys	Gln	Cys	Val	Leu
1				5					10				15		

Phe-Tyr

<210> 163

<211> 18

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Предпочтительные TALL-модулирующие домены

<400> 163

Lys Thr Thr Asp Cys Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Arg Ile Cys
1 5 10 15

Gln Val

<210> 164

<211> 18

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Предпочтительные TALL-модулирующие домены

<400> 164

Leu Leu Cys Gln Gly Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Cys Leu Lys
1 5 10 15

Leu Arg

<210> 165

<211> 18

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Предпочтительные TALL-модулирующие домены

<400> 165

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

Thr Phe

<210> 166

<211> 18

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Предпочтительные TALL-модулирующие домены

<400> 166

Gln Thr Trp Ala Trp Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Ile Gly
1 5 10 15

Pro Met

<210> 167
 <211> 18
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Предпочтительные TALL-модулирующие домены¹
 <400> 167

Asn Lys Glu Leu Leu Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Cys Arg Gly
 1 5 10 15

Arg Ser

<210> 168
 <211> 18
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Предпочтительные TALL-модулирующие домены¹
 <400> 168

Gly Gln Lys Asp Leu Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Tyr Val Arg
 1 5 10 15

Gln Ser

<210> 169
 <211> 18
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Предпочтительные TALL-модулирующие домены
 <400> 169

Pro Lys Pro Cys Gln Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Cys Leu Gly
 1 5 10 15

Ser Val

<210> 170
 <211> 18
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Предпочтительные TALL-модулирующие домены
 <400> 170

Gly Gln Ile Gly Trp Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Ile Gln
 1 5 10 15

Thr Arg

<210> 171

<211> 18

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Предпочтительные TALL-модулирующие домены

<400> 171

Val Trp Leu Asp Trp Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Ile His
 1 5 10 15

Pro Gln

<210> 172

<211> 18

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Предпочтительные TALL-модулирующие домены

<400> 172

Gln Glu Trp Glu Tyr Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Gly Trp
 1 5 10 15

Leu Arg

<210> 173

<211> 18

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Предпочтительные TALL-модулирующие домены

<400> 173

His Trp Asp Ser Trp Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Val Val
 1 5 10 15

Gln Ala

~~<210> 174~~

~~<211> 18~~

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Предпочтительные TALL-модулирующие домены

<400> 174

Thr Arg Pro Leu Gln Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Leu Arg
 1 5 10 15

Val Gly

<210> 175

<211> 18

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Предпочтительные TALL-модулирующие домены

<400> 175

Ser Asp Gln Trp Gln Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Phe Trp
 1 5 10 15

Asp Val

<210> 176

<211> 18

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Предпочтительные TALL-модулирующие домены

<400> 176

Gln Gln Thr Phe Met Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Ile Arg
 1 5 10 15

Arg His

<210> 177

<211> 18

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Предпочтительные TALL-модулирующие домены

<400> 177

Gln Gly Glu Cys Arg Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Cys Phe Pro
 1 5 10 15

Gly Gln

<210> 178

<211> 18
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Предпочтительные TALL-модулирующие домены
 <400> 178

Gly Gln Met Gly Trp Arg Trp Asp Pro Leu Ile Lys Met Cys Leu Gly
 1 5 10 15

Pro Ser

<210> 179
 <211> 18
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность |
 <220>
 <223> Предпочтительные TALL-модулирующие домены
 <400> 179

Gln Leu Asp Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Lys Val Cys
 1 5 10 15

Ile Pro

<210> 180
 <211> 18
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Предпочтительные TALL-модулирующие домены
 <400> 180

His Gly Tyr Trp Gln Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Val Ser
 1 5 10 15

Ser Glu

<210> 181
 <211> 18
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Предпочтительные TALL-модулирующие домены |
 <400> 181

His Gln Gly Gln Cys Gly Trp Asp Leu Leu Thr Arg Ile Tyr Leu Pro
 1 5 10 15

Cys His

<210> 182
 <211> 18
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <223> Предпочтительные TALL-модулирующие домены

 <400> 182

Leu His Lys Ala Cys Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Cys Trp Pro
 1 5 10 15

Met Gln

<210> 183
 <211> 18
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <223> Предпочтительные TALL-модулирующие домены

 <400> 183

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

Thr Gly

<210> 184
 <211> 18
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <223> Предпочтительные TALL-модулирующие домены

 <400> 184

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

Leu Arg

<210> 185
 <211> 18
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <223> Предпочтительные TALL-модулирующие домены

 <400> 185.

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

1

5

10

15

Val Pro

<210> 186
<211> 18
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Предпочтительные TALL-модулирующие домены
<400> 186

Gly His Gly Thr Pro Trp Trp Asp Ala Leu Thr Arg Ile Trp Ile Leu
1 5 10 15

Gly Val

<210> 187
<211> 18
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Предпочтительные TALL-модулирующие домены
<400> 187

Val Trp Pro Trp Gln Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Phe Val Phe
1 5 10 -5

Gln Asp

<210> 188
<211> 19
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Предпочтительные TALL-модулирующие домены
<400> 188

Trp Gln Gln Trp Ser Trp Lys Trp Asp Leu Leu Thr Arg Gln Tyr Ile
1 5 10 15

Ser Ser Ser

<210> 189
<211> 882
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> TALL-1 12-3 tandemный димер

<400> 189
 atgcttccag gctgcaagtggatcttcattaaagcaat ggttatgcgtccacttgga 60
 tccggttctgtactggtggttccggctaccgcaagctctggtcaggcagtgcgact 120
 catatgctgcgggtttaaatgggacctgtatcaaactgtgggttttgtagcccgctg 180
 ggtggaggcggtgggtcga caaaactcac acatgtccacctgtccagtcggaaactc 240
 ctggggggac cgtcagtccttccttcccaaaaacccaggacacccctcatgtctcc 300
 cggaccctcg aggtcacatgcgtgggtg gacgtgagcc acgaagaccc tgaggtcaag 360
 ttcaactggatcggttgcataatgcca agacaagcc gctggaggag 420
 cagtacaaca gcacgttcccg tgggtcagcgtccctcacccgtccgtccacca 480
 aatggcaagg agtacaagtgcaggtctccaaacaaagccc tccagccccatcgagaaaa 540
 accatctcca aagccaaagg gcagccccga gaaccacagg tgtacacccatcc 600
 cgggatgagctgaccaagaa ccaggtcagcgtcacccgtccatcc 660
 agcgacatcgccgtggagtg ggagagcaat gggcagccgg agaacaactcaagaccacg 720
 cctccgtgc tggactcccgacggctccatcaca gcaagctcacgtggacaag 780
 agcaggtggc agcagggaa cgtcttctca tggccgtga tgcattggc tctgcacaac 840
 cactacacgcagaagagccctccctgtctccggtaaat aa 882

<210> 190

<211> 23

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность!

<220>

<223> Предпочтительный линкер

<400> 190

Gly	Ser	Gly	Ser	Ala	Thr	Gly	Gly	Ser	Gly	Ser	Thr	Ala	Ser	Ser	Gly
1															15
5															10

Ser	Gly	Ser	Ala	Thr	Gly	Met
						20

<210> 191

<211> 23

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Предпочтительный линкер

<400> 191

Gly	Ser	Gly	Ser	Ala	Thr	Gly	Gly	Ser	Gly	Ser	Thr	Ala	Ser	Ser	Gly
1															15
5															10

Ser	Gly	Ser	Ala	Thr	Gly	Ser
						20

<210> 192
 <211> 46
 <212> Белок
 <213>

Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Предпочтительный линкер

<400> 392

Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Thr Ala Ser Ser Gly
 1 5 10 15

Ser Gly Ser Ala Thr His Met Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser
 20 25 30

Gly Ser Thr Ala Ser Ser Gly Ser Gly Ser Ala Thr His Met
 35 40 45

<210> 193
 <211> 23
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Предпочтительный линкер

<220> misc_признак
 <221>
 <222> (22)..(23)

<223> X в (положении 22), независимо обозначает основной или гидрофобный остаток и X в
 (положении 23), независимо обозначает гидрофобный остаток

<400> 193

Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Thr Ala Ser Ser Gly
 1 5 10 15

Ser Gly Ser Ala Thr xaa Xaa
 20

<210> 194
 <211> 46
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Предпочтительный линкер

<220> misc_признак

<221> (22, 23, 45 and) .. (46)

<223> X в (положении 22) и (положении 45), каждый независимо, обозначают основные или
 гидрофобные остатки, и X в (положении 23) и (положений 46), каждый независимо,
 обозначают гидрофобные остатки ..

<400> 194

Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Thr Ala Ser Ser Gly
 1 5 10 15

Ser Gly Ser Ala Thr Xaa Xaa Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser
 20 25 30

Gly Ser Thr Ala Ser Ser Gly Ser Gly Ser Ala Thr Xaa Xaa
 35 40 45

<210> 195
 <211> 38
 <212> Белок
 <213> Человеческий
 <400> 195

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

Thr Pro Cys Val Pro Thr Glu Cys Tyr Asp Leu Leu Val Arg Lys Cys
 20 25 30

Val Asp Cys Arg Leu Leu
 35

<210> 196
 <211> 41
 <212> Белок
 <213> Человеческий
 <400> 196

Thr Ile Cys Asn His Gln Ser Gln Arg Thr Cys Ala Ala Phe Cys Arg
 1 5 10 15

Ser Leu Ser Cys Arg Lys Glu Gln Gly Lys Phe Tyr Asp His Leu Leu
 20 25 30

Arg Asp Cys Ile Ser Cys Ala Ser Ile
 35 40

<210> 197
 <211> 42
 <212> Белок
 <213> Человеческий
 <400> 197

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

Gln Met Ala Gly Gln Cys Ser Gln Asn Glu Tyr Phe Asp Ser Leu Leu
 20 25 30

His Ala Cys Ile Pro Cys Gln Leu Arg Cys
 35 40

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Связывающаяся с TALL-1 молекула, содержащая аминокислотную последовательность формулы

$f^1 f^2 K f^3 D f^7 L f^9 f^{10} Q f^{12} f^{13} f^{14}$

(SEQ ID NO: 109)

где f^1 , f^2 и f^3 отсутствуют или обозначают любые аминокислотные остатки;

f^5 обозначает W;

f^7 обозначает любой аминокислотный остаток;

f^9 обозначает T или I;

f^{10} обозначает K, R или H;

f^{12} обозначает C, нейтральный гидрофобный остаток или основной остаток;

f^{13} обозначает C, нейтральный гидрофобный остаток или отсутствует и

f^{14} обозначает любой аминокислотный остаток или отсутствует; при условии, что только один из f^1 , f^2 или f^3 может обозначать C и только один из f^{12} , f^{13} и f^{14} может обозначать C.

2. Молекула по п.1, отличающаяся тем, что f^{12} обозначает W, C или R.

3. Молекула по п.1, отличающаяся тем, что f^7 обозначает L.

4. Молекула по п.1, отличающаяся тем, что f^9 обозначает T.

5. Молекула по п.1, отличающаяся тем, что f^{l^0} обозначает K.
6. Молекула по п.1, отличающаяся тем, что f^{l^2} обозначает C, а один из f^l , f^2 и f^3 обозначает C.
7. Молекула по п.1, отличающаяся тем, что f^{l^3} обозначает V.
8. Молекула по п.1, содержащая аминокислотную последовательность формулы

$f^{l^2}f^{l^3}KWDf^{l^7}Lf^{l^8}KQf^{l^2}f^{l^3}f^{l^4}$

(SEQ ID NO: 125)

9. Молекула по п.8, содержащая аминокислотную последовательность, выбранную из группы, включающей SEQ ID NO: 32, 33, 58, 60, 63, 66, 67, 69, 114, 115, 122, 123, 124, 147-150, 152-177, 179, 180 и 187.

10. Связывающаяся с TALL-1 молекула, содержащая аминокислотную последовательность формулы LPGCKWDLLIKQWVCDPL (SEQ ID NO: 33).

11. Молекула, связывающаяся с TALL-1, имеющая формулу

$(X^1)_a - V^1 - (X^2)_b$

и его мультимеры,

где V^1 обозначает носитель;

X^1 и X^2 , каждый независимо, выбирают из

$-(L^1)_c-P^1$,
 $-(L^1)_c-P^1-(L^2)_d-P^2$,
 $-(L^1)_c-P^1-(L^2)_d-P^2-(L^3)_e-P^3$ и
 $-(L^1)_c-P^1-(L^2)_d-P^2-(L^3)_e-P^3-(L^4)_f-P^4$

один или более из P^1 , P^2 , P^3 и P^4 , каждый независимо, представляют собой SEQ ID NO: 109;

L^1 , L^2 , L^3 и L^4 , каждый независимо, обозначают линкеры и

a, b, c, d, e и f, каждый независимо, обозначают 0 или 1, при условии, что по меньшей мере один из a и b обозначает 1.

12. Молекула по п.11, имеющая формулу

$P^1-(L^1)_c-P^2-(L^2)_d-V^1$.

13. Молекула по п.11, имеющая формулу

$V^1-(L^1)_c-P^1-(L^2)_d-P^2$.

14. Молекула по п.11, отличающаяся тем, что V^1 обозначает Fc домен.

15. Молекула по п.11, отличающаяся тем, что V^1 обозначает IgG Fc домен.

16. Молекула по п.11, отличающаяся тем, что V^1 обозначает IgGl Fc домен.

17. Молекула по п.11, отличающаяся тем, что V^1 представляет собой последовательность SEQ ID NO: 2.

18. Молекула по п.11, отличающаяся тем, что f^5 обозначает W; f^7 обозначает L; f^{l^0} обозначает K и f^{l^3} обозначает V.

19. Молекула по п.11, отличающаяся тем, что L^2 имеет более 5 аминокислот.

20. Молекула по п.19, отличающаяся тем, что L^2 выбирают из GSGSATGGSGSTASSGSGSATx¹x² (SEQ ID NO: 193) и GSGSATGGSGSTASSGSGSATx¹x²GSGSATGGSGSTASSGSGSATx³x⁴ (SEQ ID NO: 194), где x¹ и x³, каждый независимо, обозначают основные или гидрофобные остатки, а x² и x⁴, каждый независимо, обозначают гидрофобные остатки.

21. Молекула по п.11, отличающаяся тем, что L^2 выбирают из GSGSATGGSGSTASSGSGSATH (SEQ ID NO: 59).

22. Молекула по п.11, отличающаяся тем, что L^2 выбирают из GSGSATGGSGSTASSGSGSATGM (SEQ ID NO: 190).

23. Молекула по п.11, отличающаяся тем, что L^2 выбирают из GSGSATGGSGSTASSGSGSATGS (SEQ ID NO: 191).

24. Молекула по п.11, отличающаяся тем, что L^2 выбирают из GSGSATGGSGSTASSGSGSATHM (SEQ ID NO: 192).

25. Молекула по п.11, содержащая последовательность, выбранную из группы, включающей SEQ ID NOS: 32, 33, 58, 60, 63, 66, 67, 69, 114, 115, 122, 123, 124, 147-150, 152-177, 179, 180 и 187.

26. Связывающаяся с TALL-1 молекула, имеющая аминокислотную последовательность

```
MFHDCKWDL TKQWVCHGLG GGGGVQKTIT CPPCPAPELL CGPSVFLFPP
KPKDTLMISR TPEVTCVUVD VSHEDPEVKP NWYVUDGVEVH NAKTKPREEQ
YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKEYCKVSN KALPAPIEKT ISKAKGQPRE
PQVVTLPPSR DELTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPMNNYKTP
PVLDSDGSFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNH YTQKSLSLSP GK
```

(SEQ ID NO: 122).

27. Связывающаяся с TALL-1 молекула, имеющая аминокислотную последовательность

MLPGCKWDL IRQMVCDPLG SGSGATGGSGS TASSGGSGSAT HMLPGCKWDL
 LIKQWVCDPL GGGGVDKTH TCPPCPAPEL LGGPSPVLFPP PKPKDTLMIS
 RTPEVTCVVV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREE QYNSTYRVVS
 VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEK TISKAKGQPR EPQVYTLPPS
 RDELTKNQVS LTCLVKGFYP SDIAVEWESN QQPENNYKTT PPVLDSDGSF
 FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMEHALHN HYTQKSLSLS PGK

(SEQ ID NO: 123).

28. Связывающаяся с TALL-1 молекула, имеющая аминокислотную последовательность

MFHDCKWDL TKQWVCHGLG SGSGATGGSGS TASSGGSGSAT HMFDCKWDL
 LTKQWVCHGL GGGGVDKTH TCPPCPAPEL LGGPSPVLFPP PKPKDTLMIS
 RTPEVTCVVV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREE QYNSTYRVVS
 VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEK TISKAKGQPR EPQVYTLPPS
 RDELTKNQVS LTCLVKGFYP SDIAVEWESN QQPENNYKTT PPVLDSDGSF
 FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMEHALHN HYTQKSLSLS PGK

(SEQ ID NO: 124).

29. ДНК, кодирующая молекулу по одному из пп.1-28.

30. Вектор экспрессии, содержащий ДНК по п.29.

31. Клетка-хозяин, содержащая вектор экспрессии по п.33.

32. Клетка по п.34, отличающаяся тем, что эта клетка является клеткой E.coli.

33. Применение молекулы по одному из пп.1 или 11 для приготовления фармацевтической композиции для лечения аутоиммунного заболевания, опосредуемого В-клетками.

34. Применение молекулы по одному из пп.26-28 для приготовления фармацевтической композиции для лечения аутоиммунного заболевания, опосредуемого В-клетками.

35. Применение молекулы по одному из пп.1 или 11 для приготовления фармацевтической композиции для лечения волчанки.

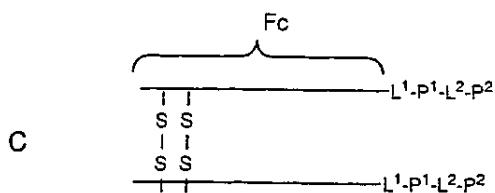
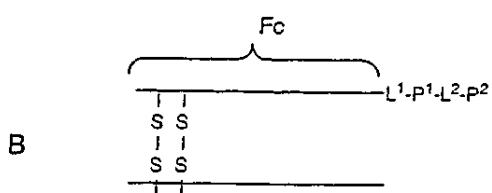
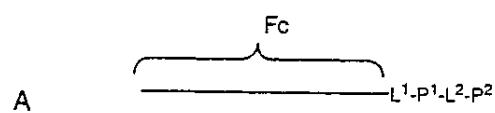
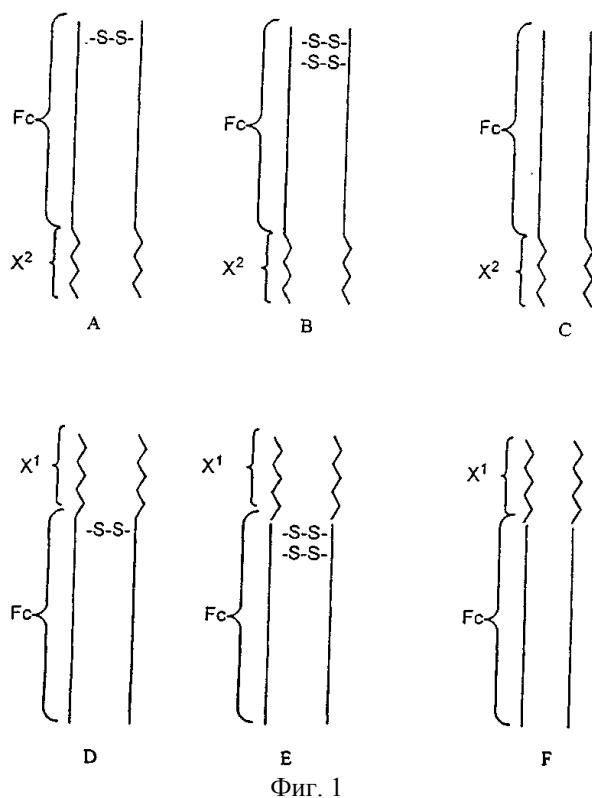
36. Применение молекулы по одному из пп.26-28 для приготовления фармацевтической композиции для лечения волчанки.

37. Применение молекулы по одному из пп.1 или 11 для приготовления фармацевтической композиции для лечения рака, опосредуемого В-клетками.

38. Применение молекулы по одному из пп.26-28 для приготовления фармацевтической композиции для лечения рака, опосредуемого В-клетками.

39. Применение молекулы по одному из пп.1 или 11 для приготовления фармацевтической композиции для лечения В-клеточной лимфомы.

40. Применение молекулы по одному из пп.26-28 для приготовления фармацевтической композиции для лечения В-клеточной лимфомы.



ФИГ. 2

ATGGACAAACTCACACATGTCCACCTGTCCAGCTCGGAACCTCTGGGGGACCGTCA
 1 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 60
 TACCTGTTTGACTGTGACAGGTGAAACAGGTCGAGGCCTTGAGGGACCCCCCTGGCAGT

 a M D K T H T C P P C P A P E L L G G P S -
 GTCTCCCTTCCCCAAAACCCAAAGGACACCTCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTC
 61 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 120
 CAGAAGGAGAACGGGGTTGGTCTGTGGGAGTACTAGAGGGCTGGGACTCCAG

 a V F L F P P K D T L M I S R T P E V -
 ACATGCGTGGTGGTGAGCTGAGCCACGAAGACCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTG
 121 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 180
 TGACGCACCACCCACCTGACTCGGTGCTCTGGGACTCCAGTTCAAGTTGACCATGCAC

 a T C V V V D V S H E D P E V K F N N W Y V -
 GACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACG
 181 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 240
 CTGGCGCACCTCACGTATTACGGTCTGTTGGGCCCCCTCGTCATGTTGCGTGC

 a D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T -
 TACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGCCAAGGAGTAC
 241 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 300
 ATGGCACACCAAGTCGCAAGGAGTCGAGCTGACCGACTTACCGTTCTCATG

 a Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y -
 AAGTGCAAGGTCTCAAACAAAGCCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCC
 301 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 360
 TTACGTTCCAGAGGTTGTTGGGAGGGTAGCTCTTGCTAGAGTTTCGG

 a R C K V S N K A L P A P I E K T I S K A -
 AAAGGGCAGCCCCGAGAACACAGGTGTACACCCCTGCCCATCCGGGATGAGCTGACC
 361 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 420
 TTTCCCGTGGGGCTCTGGTCCACATGTGGACGGGCTAGGGCCCTACTCGACTGG

 a K G Q P R E P Q V Y T L P P S R D E L T -
 AAGAACCAAGGTCAACCTGACCTGCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCAGATGCCGTC
 421 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 480
 TTCTTGGTCCAGTCGGACTGGACGGACAGTTCCGAAGATAGGTCCGTAGCCGAC

 a K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V -
 GAGTGGAGAGCAATGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACACGCCCTCCGTGGAC
 481 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 540
 CTCACCCCTCGTGTACCCGTCGGCTCTGGTGTGGAGGGCACGACCTG

 a E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D -
 TCCGACGGCTCTCTCTACACCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAG
 541 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 600
 AGGCTGCCAGGAAGAACGGAGATGTCGTTGGCACCTGTTCTCGTCCACCGTC

 a S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q -
 GGGAAACGTCTCTCATGCTCCGTATGCAATGAGGCTCTGCACAAACCACTACACGAG
 601 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 660
 CCCCTGGCAGAACAGATGGAGGCACTACGTACTCCGAGACGTGTTGGTGTGGCTTC

 a G N V Y S C S V M H E A L H N H Y T Q K -
 AGCCTCTCCCTGTCTCGGGGTA
 661 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 684
 TCCGAGAGGGACAGACCCATT

 a S L S L S P G K

ФИГ. 3

1) AGP3-8-1-a

NdeI
|
TATGCCGGGTACTTGTTCGGTCCCGTGGGAATGCACTCACGCTGGTGGAGGCGGT
1 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 60
GGCCCATGAACAAAGGGCAAGGGCACCCCTACGTGAGTGCGACCACCTCCGCCA

a M P G T C F P F P W E C T H A G G G G -
SalI
|
GGGG
61 ----- 69
CCCCAGCT

a G V D -

2) AGP3-8-2-a

NdeI
|
TATGTGGGTGCTTGTGGCCGTTCCCGTGGGAATGTTCAAAGAAGGTGGAGGCGGT
1 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 60
ACACCCCACGAACAAACGGCAAGGGCACCCCTACAAAGTTCTTCCACCTCCGCCA

a M W G A C W P F P W E C F K E G G G G -
SalI
|
GGGG
61 ----- 69
CCCCAGCT

a G V D -

Фиг. 4А

3) AGP3-8-4-a

NdeI
|
TATGGTTCCGTTCTGTGACCTGCTGACTAAACACTGTTTCGAAGCTGGTGGAGGCGGT
1 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 60
ACCAAGGCAAGACACTGGACGACTGATTTGTGACAAAGCTTCGACCACCTCCGCCA

a M V P F C D L L T K H C F E A G G G G -

SalI
|
GGGG
61 ----- 69
CCCCAGCT

a G V D -

4) AGP3-12-4-a

November 6, 2000 12:53 ..

NdeI
|
TATGGTTCTCGTTGTAATACAAATGGGACGTTCTGACTAAACAGTGTTCCACCAC
1 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 60
ACCCAAGAGAACATTATGTTACCTGCAAGACTGATTTGTACAAAGGTGGTG

a M G S R C K Y K W D V L T K Q C F H H -

SalI
|
GGTGGAGGCGGTGGGG
61 -----+-----+-----+ 81
CCACCTCCGCCACCCCAGCT

a G G G G G V D -

Фиг. 4В

5) AGP3-12-3-a

NdeI

|
TATGCTGCCGGGTTGTAAATGGGACCTGCTGATCAAACAGTGGGTTGTGACCCGCTG
1 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 60
ACGACGGGCCAACATTTACCTGGACGACTAGTTGTCAACCAAACACTGGGCAC

a M L P G C K W D L L I K Q W V V C D P L -

SalI

|
GGTGGAGGCCGGTGGGG
61 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 81
CCACCTCCGCCACCCCAGCT

a G G G G V D -

6) AGP3-12-5-a

NdeI

|
TATGCTGCTGACTGTTACTTCGACATCCTGACTAAATCTGACGTTGTACTTCTCT
1 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 60
ACAGACGACTGACAATGAAGCTGTAGGACTGATTAGACTGCAAACATGAAGAAGA

a M S A D C Y F D I L T K S D V C T S S -

SalI

|
GGTGGAGGCCGGTGGGG
61 -----+-----+-----+ 81
CCACCTCCGCCACCCCAGCT

a G G G G V D -

Фиг. 4C

7) AGP3-12-8-a

NdeI

|

TATGTCTGACGACTGTATGTACGACCAGCTGACTCGTATGTTCATCTGTTCTAACCTG

1 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 60

ACAGACTGCTGACATACATGCTGGTCAGTGAGCATACAAGTAGACAAGATTGGAC

a

M S D D C M Y D Q L T R M F I C S N L -

SalI

|

GGTGGAGGCCGGTGGGG

61 -----+-----+-----+ 81

CCACCTCCGCCACCCCAGCT

a

G G G G V D -

8) AGP3-12-9-a

NdeI

|

TATGGACCTGAACGTAAATA CGACGAAC TGACTTACAAAGAATGGTGTCAAGTTAAC

1 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 60

ACCTGGACTTGACATTATGCTGCTTGACTGAATGTTCTTACACAGTCAAGTTG

a

M D L N C K Y D E L T Y K E W C Q F N -

SalI

|

GGTGGAGGCCGGTGGGG

61 -----+-----+-----+ 81

CCACCTCCGCCACCCCAGCT

a

G G G G V D -

Фиг. 4D

9) AGP3-12-10-a

NdeI
|
TATGTTCCACGACTGTAAATACGACCTGCTGACTCGTCAGATGGTTGTACGGTCTG
1 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 60
ACAAGGTGCTGACATTATGCTGGACACTGAGCAGTCTACCAAACAGTGCCAGAC

a M F H D C K Y D L L T R Q M V C H G L -

SalI
|
GGTGGAGGCCGGTGGGG
61 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 81
CCACCTCCGCCACCCCAGCT -

a G G G G G V D -

10) AGP3-12-11-a

NdeI
|
TATGCGTAACCACTGTTCTGGGACCACCTGCTGAAACAGGACATCTGTCCGTCTCCG
1 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 60
ACGCATTGGTGACAAAAGACCCCTGGTGACACTTTGTCTGTAGACAGGCAGAGGC

a M R N H C F W D H L L K Q D I C P S P -

SalI
|
GGTGGAGGCCGGTGGGG
61 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 81
CCACCTCCGCCACCCCAGCT

a G G G G G V D -

Фиг. 4Е

11) AGP3-12-14-a

NdeI
|
TATGGCTAACAGTGTGGTGGGACTCTCTGCTGAAAAAAACGTTGTGAATTCTTC
1 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 60
ACCGATTGGTCACAACCACCCCTGAGAGACGACTTTTTGGCAACACTTAAGAAG

a M A N Q C W W D S L L K K N V C E F F -

SalI
|
GGTGGAGGCCGGTGGGG
61 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 81
CCACCTCCGCCACCCCAGCT

a G G G G G V D -

12) AGP3 Consensus

NdeI
|
TATGTTCCACGACTGCAAATGGGACCTGCTGACCAAACAGTGGTTGCCACGGTCTG
1 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 60
gtATACAAAGGTGCTGACGTTACCCCTGGACACTGGTTGTCAACCAAACGGTGCCAGAC

a M F H D C K W D L L T K Q W V C H G L -

SalI
|
GGTGGAGGCCGGTGGGG
61 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 81
CCACCTCCGCCACCCCAGCT

a G G G G G V D -

Фиг. 4F

P
 f
 1
 1
 0
 8
 I
 GATCAGCAGTCCCCGGAACATCGTAGCTGACGCCCTCGCGTTGCTCAGTTGTCACCAACCCC
 1 CTAGTCGTCAAGGGGCCTGTAGCATCGACTGCGGAAGCGCAACGAGTCAACAGGTTGGGG 60

GGAAACGGGAAAAAGCAAGTTTCCCGCTCCCGCGTTCAATAACTGAAAACCATACT
 61 CTTTGCCCTTTCGTCAAAAGGGCGAGGGCCCAAAGTTATTGACTTTGGTATGA 120

B
 g
 l
 i
 I
 I
 ATTCACAGTTAAATCACATTAAACGACAGTAATCCCCGTTGATTGTGCGCCAACACA
 121 TAAAGTGTCAAATTAGTGTAAATTGCTGTCACTAGGGCAACTAAACACGCGGTTGTGT 180

-35 -10
 ----- Promoter (PcopB) ----->

GATCTTCGTCAACAATTCTCAAGTCGTGATTCAAAAAACTGAGTATCCTCTGCCAAC
 181 CTAGAAGCAGTGTAAAGAGTTCAAGCAGACTAAAGTTTTGACATCATAGGAGACCGTTG 240

|-->
 мРНК начало (старт)

GATCCCTGTTGAGTATTGAGGAGGCCAGATGTCGCCAGACAGAAAATGCAGTGACTTCCT
 241 CTAGGGACAAACTCATAACTCCTCCGCTCTACAGCGTCTGTCTTACGTCACTGAAGGA 300

M S Q T E N A V T S S -
 copB белок | --->

CATTGAGTCAAAAGCGGTTGCGCAGAGGTAAGCCTATGACTGACTCTGAGAAACAAA
 301 GTAACTCAGTTTCGCCAACACCGCTCTCCATTGGATACTGACTGAGACTCTTGT 360

L S Q K R F V R R G K P M T D S E K Q M -
 TGGCCGTTGCAAGAAAACGTCTTACACACAAAAGAGATAAAAGTTTTGTCAAAAATC

361 ACCGGCAACAAACGTTCTTGCAGAATGTGTGTTCTCTATTTCAAAAACAGTTTTAG 420

A V V A R K R L T H K E I K V F V K N P -
 S
 c
 a
 I
 CTCTGAAGGATCTCATGGTTGAGTACTGCGAGAGAGAGGGGATAACACAGGCTCAGTCG

421 GAGACTTCCTAGAGTACCAACTCATGACGCTCTCTCCCTATTGTGTCGGAGTCAGC 480

L K D L M V E Y C E R E G I T Q A Q F V -

Фиг. 5А

-35

---- Промотор (PrepA) ----->

| -- сайт связывания copB |

TTGAGAAAATCATCAAAGATGAACCTGCAAGACTGGATATACTAAAGTAAAGACTTTA

481 AACTCTTTAGTAGTTCTACTTGACGTTCTGACCTATATGATTTCATTCTGAAATGA + 540

E K I I K D E L Q R L D I L K *

-10

TTGTGGCGTAGCATGCTAGATTACTGATCGTTAAGGAATTTGTGGCTGGCACGCCGT

541 AACACCGCAGTACGATCTAATGACTAGCAAATTCTAAACACCGACCAGGTGCGGCA + 600

| -- mRNA -->

D

B r

m d

n I

I I

| <-----

AAGGTGGCAAGGAACTGGTTCTGATGTGGATTACAGGAGCCAGAAAAGCAAAACCCG

601 TTCCACCGTCTCTGACCAAGACTACACCTAAATGTCCTCGGTCTTCGTTTGGGGC + 660

M W I Y R S Q K S K N P D -

--- copT (ORF) --->

<---- copA RNAI -----

ATAATCTTCTCAACTTTGGAGTACGAAAAAGATTACCGGGGCCACTTAAACCGTATA

661 TATTAGAAGAAGTTGAAACGCTCATGCTTTCTAATGGCCCCGGTGAATTGGCATAT + 720

N L L Q L L R V R K D Y R G P L K P Y S -

<---- Promoter (RNAI) -----

-10 -35

<---- | -----

GCCAACAAATCAGCTATGCCGGGAGTATAGTTATGCCCAGAAAAGTTCAAGACTTCTT

721 CGGTTGTTAAGTCGATACGCCCTCATATCAATATAACGGCCTTCAAGTTCTGAAGAA + 780

Q Q F S Y A G S I V I C P E K F K T S F -

TCTGTGCTCGCTCTGCATTGTAAGTGCAGGATGGTGTGACTGATCTCACCAA

781 AGACACGAGCGAGGAAGACCGCTAACATTACGTCTACCACACTGACTAGAAGTGGTT + 840

C A R S F C A L * M T D L H Q T -

--- белок repA --->

D

r

a

I

I

I

CGTATTACCCCAAGTAAAGAACCCGAATCCGGTFTTACACCCCGTGAAGGTGCAGGAA

841 GCATAATGGCGGTCCATTCTGGGCTTAGGCCACAAATGTGGGGCACTTCCACGTCTT + 900

Y Y R Q V K N P N P V F T P R E G A G T -

CGCTGAAGTTCTGCAGAAAAGTATGGAAAAGGCCGGTGGGCTTCACTTCCGTTTGATT

901 GCGACTTCAAGACGCTTTTGACTACCTTTCCGCCACCCGAAGTGAAGGCCAAACTAA + 960

L K P C E K L M E K A V G F T S R F D F -

Фиг. 5В

B
 S
 T
 B
 I
 961 TCGCCATTGTCGGCGCACGCCGTTCGCGTGAATCTGCCTCGCCGTATGCCACCAAGTGC + 1020
 c - A G C G G T A A G T A C A C C G C G T G C G G G C A A G C G C A C T A G A C G C A G C G G C A T A C C G T G G T C A C G +
 c - A I H V A H A R S R D L R R R M P P V L -
 1021 TCGCTCGTGGGCTATTGATCGCTCTTGCAAGGGCTGTGTTTCCACTATGACCCCTCG + 1080
 c - A C G C A G C A G C C C G A T A A C T A C G C G A G A A C G T C C C C G A C A C A A A G G T G A T A C T G G G C G A C C +
 c - R R R A I D A L L Q G L C F H Y D P L A -
 1081 CCAACCCGCTCCAGTGCTCCATCACCAACGCTGGCCATTGAGTGCGGACTGGCAGGGAGT + 1140
 c - G G T T G G C G C A G G T C A C G A G G T A G T G G T G C G C A C C G G T A A C T C A C G C C T G A C C G C T G C C T C A +
 c - N R V Q C S I T T L A I E C G L A T E S -
 A
 C
 E
 I
 I
 I
 I
 1141 CTGCTGCCGGAAAACCTCCATCACCCGTGCCACCCGTGCCCTGACGTTCTGTCAGAGC + 1200
 c - G A C G A C G G C C T T T G A G A G G T A G T G G G C A C G G T G G G C A C C G G A C T G C A A G G A C A G T C T C G +
 c - A A G K L S I T R A T R A L T F L S . E L -
 1201 TGGGACTGATTACCTACCAGACGGAATATGACCCGTTATCGGGTGTACATTCCGACCG + 1260
 c - A C C C T G A C T A A T G G A T G G T C T G C C T T A T A C T G G G C G A A T A G C C C A C G A T G T A A G G C T G G C +
 c - G L I T Y Q T E Y D P L I G C Y I P T D -
 1261 ATATCACGTTCACATCTGCACTGTTGCTGCCCTCGATGTATCAGAGGAGGAGTGGCCG + 1320
 c - T A T A G T G C A A G T G T A G A C G T G A C A A A C G A C C G G A G C T A C A T A G T C T C C T C C G T C A C C G C +
 c - I T F T S A L F A A L D V S E E A V A A -
 1321 CCGCGCGCCGAGCCGTGTGGTATGGAAAACAACAAACGCAAAGCAGGGGTGGATA + 1380
 c - G G C G C G C C G C T C G G C A C A C C A T A C C C T T T G T T G C G T T T T C G T C C C C G A C C T T A T +
 c - A R R S R V V W E N K Q R K K Q G L D T -
 1381 CCCTGGGATGGATGAACTGATAGC G A A A G C C T G G C T T T G T T C G T G A G C G T T T C G C A + 1440
 c - G G G A C C C G T A C T T A C T G A C T A T C G C T T T C G G A C C G C A A A C A A G C C A T C G C A A A A G C G T +
 c - L G M D E L I A K A W R F V R E R F R S -
 A
 E
 I
 I
 I
 I
 1441 G T T A T C A G A C A G A G G T T A A G T C C C G T G G A A T A A A G C G T G C C C G T G C G C G T C G T G A T G C G G + 1500
 c - C A A T A G T C T G T C G A A T T C A G G G C A C C T T A T T C G C A C G G G C A C G C G C A G C A C T A C G G C +
 c - Y Q T E L K S R G I K R A R A R R D A D -

Фиг. 5С

ACAGGGAACGTCAGGATATTGTCACCCCTGGTGAACGGCAGCTGACGCCGAAATCGCGG
 1501 +-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 1560
 TGTCCCTTGCAAGTCCATAACAGTGGGACCACTTGGCGTCGACTCGCGCTTAGCGCC
 c R E R Q D I V T L V K R Q L T R E I A E -

 AAGGGCGCTTCAGTGCACCGTGAAGGGGTAAAACCGCAAGTTGAGCGTCGTGAAGG
 1561 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 1620
 TTCCCGCGAAGTGACGGTAGCACTCCGCCATTGGCGCTTCAGTCGACAGCACATTCC
 c G R F T A N R E A V K R E V E R R V K E -

 AGCGCATGATTCTGTCACGTAACCGTAATTACAGCCGGCTGGCCACAGCTTCCCCCTGAA
 1621 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 1680
 TCGCGTACTAAGACAGTGCAATTGGCATTAATGTCGGCCGACCGGGTGTGAAAGGGGACTT
 c R M I L S R N R N Y S R L A T A S . P *

 AGTGACCTCTCTGAATAATCCGGCTGCGCCGGAGGGCTTCCGCACGTCTGAAGCCCAC
 1681 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 1740
 TCACGGAGGAGACTTATTAGGCCGGACGCCCTCCGAAGGCCGTGAGACTTCCGGCTG

 P
 f
 l
 M
 I

 AGCGCACAAAAATCAGCACACATACAACACCTCATCCAGCTCTGGTGCA
 1741 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 1800
 TCGCGTGTPTTTAGTCGTGGTGTATGTTTTGTTGGAGTAGTAGGTGAAAGACCAGT

 TCCGGCCCCCTGTTTGTACAAAACACGGCTCACAGACGGGAATTGGCTTATCC
 1801 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 1860
 AGGCCGGGGGGACAAAGCTATGTTGTCGGAGTGTCTGCCCTTAAACGAATAGG

 |----- ori -----
 ACATTAACCTGCAAGGGACTTCCCATAAGTTACACCGTTCATGTCATAAGCGCCAT
 1861 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 1920
 TGTAATTGACGTTCCCTGAAGGGGTATTCCAATGTTGGCAAGTACAGTATTGCGGTA

 |----- ori -----
 CCGCCAGCGTTACAGGGTCAATGTTAAACACTGTTATCTCCTTAAACT
 1921 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 1980
 GGCGGTGCAATGTCACGTTACATAGAAAATTGTCGGACAAATAGAGGAAATTGA

 |-----
 ACTTAATTACATTCAATTAAAAGAAAACCTATTCACTGCCGTGCTTGGACAGACAGAT
 1981 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 2040
 TGAATTAAATGTAAGTAAATTCTTGGATAAGTGACGGACAGGAACCTGTCGTCTA

 ATGCCACCTCCCACCGCAAGCGCGGGCCCTACCGGAGGCCCTTGTACAAACACTCAG
 2041 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 2100
 TACGTGGAGGGTGGCGTTGCCGCCGGGATGGCTCGGCAAATCAATGTTGTGAGTC
 a M H L P P Q A A G P Y R S R F S Y N T Q -
 --- repA4 protein ---> |----->

 ACACAAACCACCAAGAAAACCCCGTCCAGCGCAGAACTGAAACCACAAAGCCCCTCC
 2101 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 2160
 TGTTGGTGGCTTTGGCCAGGTGGCTTGTGACTTGGTTGGCTGGGAGGGAG
 a T Q P P E K P R S S A E L K P Q S P S L -

 ATAACGTAAAAGCGGCCCCCGGGTCCGAAGGGCGGAACAGAGTCGTTTAATTAT
 2161 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 2220
 TATGACTTTGGCCGGGGGGCCAGGCTTCCGGCTTGCTAGCAGGAAATTAAATA
 a I T E K R P R P G P K G R N R V A F N Y

Фиг. 5D

2221 GAATGTTGTAAC TACTTCATCGCTGTCA GTCTTCTCGCTGGAAAGTTCTCA GTACACCG
 CTTACAACATTGATGAAGTAGTAGCGACAGTCAGAAGAGCGACCTCAAGAGTCATGTGC
 E C C N Y F I I A V S L L A G S S Q Y T -
 BS
 gf
 li
 II
 /
 2281 CTCGTAAGCGGCCCTGACGGCCCGCTAACGGGGAGATA CGCCCCGACTTCGGGTAAACCC
 GAGCATTGCGCGGGACTGCCGGGCGATTGCGCCTCTATGCGGGGCTGAAGGCCATTGGG
 L V S G P D G P L T R R Y A P T S G K P -
 TCGTCGGGACC ACTCCGACCGCGCACAGAAGCTCTCATGGCTGAAAGCGGGTATGGTC
 2341 AGCAGCCCTGGTGAGGCTGGCGCGTCTCGAGAGAGTACCGACTTCGCCATACCAAG
 S S G P L R P R T E A L S W L K A G M V -
 TGGCAGGGCTGGGATGGTAAAGGTGAAATCTATCAATCAGTACCGGCTTACGCCGGCT
 2401 ACCGTCGGACCCCTACCCATTCCACTTTAGATAGTTAGTCATGGCGAATGCCGGCGA
 W Q G W G W V R *
 B
 S
 t
 E
 I
 I
 TCGCGGTTTACTCCTGTTCATATATGAAACAAACAGGTACCGCCTCCATGCCGCTG
 2451 AGCCGCCAAAATGAGGACAAAGTATATACTTTGTTCCAGTGGCGAAGGTACGGCGAC
 B
 S
 P
 L
 U
 I
 I
 I
 ATGCGGCATATCCTGGTAACGATATCTGAATTGTTATACATGTGTATATACGTGGAATG
 2521 TACGCCGTATAGGACCATGGCTATAGACTTAACAATATGTACACATATATGCACCAATTAC
 ACAAAAATAGGACAAGTAAAAATTACAGGCGATGCAATGATTCAAACACGTAATCAAT
 2581 TGTTTTATCCTGTTCAATTAAATGTCGCTACGTTACTAAGTTGTGCATTAGTTA
 ATCGGGGTGGCGAAGAACTCCAGCATGAGATCCCCGCGTGGAGGATCATCCAGCCGG
 2641 TAGCCCCCACCGCTTGTAGGTCGTACTCTAGGGCGCAGCTCTAGTAGGTCGGCC
 CGTCCCGGAAACGATTCCGAAGCCAAACCTTCATAGAAGGCGGGTGGAAATCGAAAT
 2701 GCAGGGCTTTGCTAAGGCTCGGGTTGGAAAGTATCTCCGCCGCCACCTTAGCTTTA

Фиг. 5Е

	N	B
	S	P
	P	I
	V	I
	CTCGTGATGGCAGGTTGGCGTCGCTTGGTCGGTCAATTGAAACCCCAGAGTCCCCTCA	2820
2761	GAGCACTACCGTCAAACCGCAGCGAACAGGCCAGTAAAGCTTGGGTCTCAGGGCGAGT	
	GAAGAACTCGTCAGAAGGCATAGAAGGCATGCGCTCGGAATCGGGAGCGGCAGTAC	2880
2821	CTTCTTGAGCAGTTCTCCGTATCTCCGCTACCGCAGCCTAGCCCTCGCGCTATGG	
f	* F F E D L L R Y F A I R Q S D P A A I G - ----- APHII protein [kanamycin resistance gene] -----	
	GTAAAGCACGAGGAAGCGGTCAAGCCATTGCGCCAGCTCTCAGCAATATCACGGGT	2940
2881	CATTTCTGCTCCCTCGCCAGTCGGTAAGCGGGCTTCGAGAAGTCGTTATAGTGCCTA	
f	Y L V L F R D A W E G G L E E A I D R T -	
	AGCCAACGCTATGTCCTGATAGCGGTCGCCACACCCAGCCGGCACAGTCGATGAATCC	3000
2941	TCGGTTGCGATACAGGACTATGCCAGGGTGTGGCTCGGCCGTTGCACTACTAGG	
f	A L A I D Q Y R D A V G L R G C D I F G -	
	AGAAAAGCGGCCATTTCCACCATGATATTGGCAAGCAGGCATGCCATGAGTCACGAC	3060
3001	TCTTTTCGCCGGTAAAGGTTGACTATAAGCCGTTGCTCCGTAGCGGTACTCAGTGC	
f	S F R G N E V M I N P D C A D G H T V V -	
	GAGATCCTCGCCGTGGGCATGCGCCCTTGAGCCTGGCAACAGTCGGCTGGCGAG	3120
3061	CTCTAGGAGCGGCAGCCCGTACCGCGGAACCTGGACCGCTGTCAAGCGACCGCGCTC	
f	L D E G D P M R A K L R A F T E A P A L -	
	CCCCCTGATGTCCTCGTCAGATCATCCTGATCGACAAGACCGGCTTCCATCCGAGTACG	3180
3121	GGGGACTACGAGAAGCAGGTCTAGTAGGACTAGCTGTTCTGGCCGAAGGTAGGCTCATGC	
f	G Q H E E D L D D Q D V L G A E M R T R -	
	TGCTCGCTCGATGCGATGTTCGCTGGTGGTCGAATGGCAGGTAGCCGGATCAAGCGT	3240
3181	ACGACCGAGCTACGCTACAAAGCGAACCAACCAGCTACCCGTCATGGCTAGTCGCA	
f	A R E I R H K A Q H D F P C T A P D L T -	
	ATGCAGCCGCCATTGCACTAGCCATGATGGATACTTCTCGGCAGGAGCAAGGTGAGA	3300
3241	TACGTCGGCCGCGTAACGTAGTCGGTACTACCTATGAAAGAGCCGTCCTCGTCACTCT	
f	H L R R M A D A M I S V K E A P A L H S -	
	TGACAGGAGATCTGCCCGCACTTCCCAATAGCAGCCAGTCCCTTCCCGCTTCAGT	3360
3301	ACTGTCCCTAGGACGGGGCGTGAAGCGGGTTATCGTCGGTCAAGGGAAAGGGCGAAGTC	
f	S L L D Q G P V E G L L L W D R G A E T -	
	GACAACGTCGAGCACAGTCGCGAACAGGAACGCCCTCGTGGCCAGCCACGATAGCCGCG	3420
3361	CTGTTGCGAGCTCGTGTGACCGCTTCCTGCGGGCACCCGGTCGGTCACTGGCGCG	
f	V V D L V A A C P V G T T A L W S L R A -	
	TGCCTCGCTCTGCAATTCAAGGACACCGGACAGGTGGTCTTGACAAAAAGAACCGG	3480
3421	ACGGAGCAGGAGCTTAAAGTCAAGTCCTGCGCCCTGTCAGCCAGAACAGTCGGCTTGGCC	

Фиг. 5F

A E D Q L E N L V G S L D T K V F L V P -

3481 GCGCCCCCTGCCTGACAGCCGGAACACGGCGGATCAGAGCAGCCGATTGTCTGTTGTGC
CGCGGGGACCGCGACTGTCGGCCTTGCGCCGCTAGTCTCGTCGGCTAACAGACAACACG
R G Q A S L R F V A A D S C G I T Q Q A -

E
a
g
i

3541 CCAAGTCATAGCCGAATAGCCTCTCCACCCAAGCGGCCGGAGAACCTGCGTCAATCCATC
GGTCAGTATCGGCTTATCGGAGAGGTGGGTTCGCCGGCTCTGGACGCACGTTAGGTAG
W D Y G F L R E V W A A P S G A H L G D -

3601 TTGTTCAATCATGCCAAACGATCCTCATCCTGCTCTTGATCTGATTTGATCCCCGCG
AACAAAGTTAGTACGCTTGCTAGGAGTAGGACAGAGAACTAGACTAGAAACTAGGGACCC
Q E I M

-- APHII белок (устойчивость к канамицину) --)

-10

<--- mRNA APHII ---|-----

3661 CCATCAGATCCTGGCGGCAAGAAAGCCATCCAGTTACTTGCAGGGCTCCAACCTT
GGTAGTCTAGGAACC CGCC TTT CGGTAGGTCAAATGAAACGTCCCCAAGGGTTGGAA

-35

----- Promoter (APHII) -----

3721 ACCAGAGGGCGCCCAAGCTGGCAATTCCGGTTCGCTTGCCTGTCCATAAAACGCCAGTC
TGGTCTCCCGCGGGGTCGACCGTTAAGGCCAAGCGAACGACAGGTATTTGGCGGGTCAG

3781 TAGCTATGCCATGTAAGCCC ACTGCAAGCTACCTGCTTCTTTGCGCTTGCCTTTC
ATCGATAGCGGTACATTGGGTGACGTTGATGGACGAAAGAGAAACGCGAACGCAAAG

3841 CCTTGTCCAGATAGCCCAGTAGCTGACATTCACTCGGGGTCAAGCACCGTTCTGGGACT
GGAACAGGTCTATCGGGTCACTGACTGTAAGTAGGCCCCAGTCGTGGCAAAGACGCCCTGA

3901 GGCTTTCTACGTGTTCCGCTTCTTTAGCAGCCCTTGCGCCCTGAGTGCTTGCAGCG
CCGAAAGATGCAACAAGCGAAGGAATCGCGGGAAACGCCGACTCACGAACGCCGTGCG

----- локус par -----

3961 TGAAGCTACATATATGTGATCCGGCAAATCGCTGAATATTCTTTGTCTCCGACCATC
ACTTCGATGTATATACTAGCCCCGTTAGCGACTTATAAGGAAAACAGAGGCTGGTAG

B
c
g
i

4021 AGGCACCTGAGTCGCTGCTTTCTGTGACATTCACTGCTGCGCTCACGGCTCTGGCA
TCCGTGGACTCAGCGACAGAAAAAGCACTGTAAGTCAAGCGACGCCGAGTGCGGAGACCGT

----- par locus -----

Фиг. 5G

```

4081 GTGAATGGGGTAAATGGCACTACAGGCCTTTATGGATTGATGCAAGGAAACTACCC + 4140
      -----+-----+-----+-----+-----+
      CACTTACCCCCATTTACCGTGATGTCGGCGAAAATACCTAAGTACGTTCTTGATGGG

----- par locus -----
4141 ATAATACAAGAAAAGCCCGTCACGGGCTTCAGGGCTTTATGGCGGGTCTGCTATGT + 4200
      -----+-----+-----+-----+-----+
      TATTATGTTCTTCTGGGCAGTGGCCGAAAGAGTCCCCTGCAAAATACCGCCAGACGATACTA

----- par locus -----
4201 GGTGCTATCTGACTTTTGCTGTTCAAGTCAGTTCTGCCCTCTGATTTCCAGTCTGACCA + 4260
      -----+-----+-----+-----+-----+
      CCACGATAGACTGAAAAACGACAAGTCGTCAGGACGGGAGACTAAAAGGTCAGACTGGT

----- par locus -----
4261 CTTCGGATTATCCCGTGACAGGTCAATTGACTGGCTAATGCAACCCAGTAAGGCAGCGGT + 4320
      -----+-----+-----+-----+-----+
      GAAGCCTAATAGGGCACTGTCCAGTAAGTCTGACCAGATTACGTGGTCATTCCGTCGCCA

                                         N     B
                                         S     S
                                         i     a
                                         I     I
-----|-----+-----+-----+-----+-----+
4321 ATCATCACAGGCTTACCCGCTTACTGTCGAAGACGTGCGTAACGTATGCATGGCTCC + 4380
      -----+-----+-----+-----+-----+
      TAGTAGTTGTCGAATGGGAGAACAGACGCTCTGCACTTGCTACGTACCGAGAGG

```

T1 "шпилька"

```

-----> <---  

4381 CCATCGCAGAGTAGGAACTGCCAGGCATCAAATAAAACGAAAGGCTCAGTCGAAAGACT  

-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 4440  

GGTACGCTCTCATCCCTGACGGTCCGTAGTTATTGCTTCCGAGTCAGCTTCTGA  

-----|  

4441 GGGCCTTCGTTATCTGTTGTTGTCGGTGAACGCTCTCTGAGTAGGACAAATCCGC  

-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 4500  

CCCCGAAAGCAAAATAGACAACAAACAGCCACTTGCGAGAGGACTCATCTGTTAGGCG  

-- T1 stop --> |

```

P
s
p
1
4
0
6
I
4501 CGGGAGCGGATTGAACGTTGCGAACCAAACGGCCCCGGAGGGTGGCGGGCAGGACGCCGC + 4560

4561 CATAAACTGCCAGGCATCAAATTAAAGCAGAAGGCCATCCGTACGGATGGCTTTTGGCT
GTATTTGACGGTCCGTAGTTAACCGTCTCCGGTAGGACTGCCCCACGGAAAAACGCA 4620
T2 окончание (стоп) --> |

Фиг. 5Н

A
a
t
I
I

TTCTACAAACTCTTGTCTTCTAAATACATTCAAATGGACGTGACTTAAC
4621 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 4680
AAGATGTTGAGAAAACAAATAAAAAGATTATGTAAGTTATACCTGCAGCATGAATTG

* -

TTTTAAAGTATGGCAATCAATTGCTCTGTTAAAATTGCTTAGAAATACTTGGCAGC
4681 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 4740
AAAATTCATACCCGTTAGTTAACGAGGACAATTAAACGAAATCTTATGAAACCGTCG
d * S K F Y P C D I A G T L I A K S I S Q C -
|<--- luxR protein ---

GGTTTGTGATTGAGTTTCATTCGCATTGGTTAAATGAAAGTGACCGTGCCTTAC
4741 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 4800
CCAAACAAACATAACTCAAAGTAAACCGCTAACCAATTACCTTCACTGGCACGCGAATG
d R N T T N L K M Q A N T L H F T V T R K -

TACAGCCTAATTTTGAAATATCCAAGAGCTTCTGCATGCCACGCTAAC
4801 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 4860
ATGTCGGATTATAAAAACTTATAGGGTTCTCGAAAAGGAAGCGTACGGTGCATTG
d S C G L I K S I D W S S K G E C A W A L -

ATTCTTTCTCTTTGGTAAATCGTGTGATTATTATTTGCTATATTATTTTC
4861 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 4920
TAAGAAAAAGAGAAAACCAATTAGCAACAAACTAAATAAACGATATAAAATAAAAAG
d C E K E R K T L D N N S K N N A I N I K -

GATAATTATCAACTAGAGAAGGAACAATTATGGTATGTTCATACACGCATGAAAAATA
4921 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 4980
CTATTAATAGTTGATCTCTCCTGTTAATTACCATACAAGTATGTGCGTACATTAT
d R Y N D V L S P V I L P I N M C A H L F -

B
S
m
I

AACTATCTATATAGTTGTCTTCTGAATGTGCAAAACTAACGATTCCGAAGCCATTAT
4981 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 5040
TTGATAGATATCAACAGAAAAGAGACTTACACGTTGATTGCTAGGCTTCGTAATA
d L S D I Y N D K E S H A F S L M G F G N -

TAGCAGTATGAATAGGGAAACTAAACCCAGTGATAAGACCTGATGATTGCTTAA
5041 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 5100
ATCGTCATACTTATCCCTTGATTGGCTACTATCTGGACTAAAGCGAAGAAATT
d N A T H I P F S F G T I L G S S K A E K -

TTACATTTGGAGATTTTATTTACAGCATGTTCAAAATATTCACATTAAATCGGTG
5101 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 5160
AATGTAACCTCTAAAAAATAATGTCGTAAACAAAGTTATATAAGGTTAATTAGCCAC
d I V N P S K K N V A N N E F I N W N I P -

AATGATTGGAGTTAGAATAATCTACTATAGGATCATTTTATTAATTAGCGTCATCAT
5161 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 5220
TTACTAACCTCAATCTTATTAGATGATACCTCTAGTATAAAATAATTAAATCGCAGTAGTA
d S H N S N S Y D V I P D Y K I L N A D D -

Фиг. 51

5221 AATATTGCCTCCATTAGGTAAATTATCCAGAATTGAAATATCAGATTAAACCATAG
 d TTATAACGGAGGTAAAAAATCCCATTAACTAGGTCTTAACCTTATAGTCTAAATTGGTATC
 Y Y Q R W K K P Y N D L I S I D S K V M -
 N
 r
 u
 i
 5281 AATGAGGATAAAATGATCGCAGTAAATAATTCACAATGTACCATTAGTCATATCAG
 5340 TTACTCCTATTACTAGCGCTATTATAAGTGTACATGGTAAATCAGTATAGTC
 S H P Y I I A L L Y Y E C H V M K T M D -
 5341 ATAAGCATTGATTAAATATCATTATTGCTCTACAGGCTTTAATTTATTAAATTCTGT
 5400 TATTGCTAACTAATTATAGTAATAACGAAGATGTCGAAATTAAAATAATAAGACA
 S L C Q N I D N N S R C A K I K N I I R -
 5401 AAAGTGTGTCGGCATTATGTCTTCATACCCATCTCTTATCCTTACCTATTGTTGTC
 5460 TTACACAGCAGCCGTAATAACAGAAAGTATGGTAGAGAAATAGGAATGGATAACAAACAG
 Y T D D A N I D K M
 <---- белок luxR ---|
 5461 GCAAGTTTGCGTGTATATATCATTAAAACGGTAATAGATTGACATTGATTCTAATAA
 5520 CGTTCAAAACGCAATAATATAGTAATTGCGATTATCTAATGTAAACTAAGATTATT
 <---- | <---- | <---- | <---- Promoter (luxPL) -----
 стартовые кодоны (сайты) мРНК luxR
 сайт связывания CRP
 5521 ATGGATTTGTCACACTATTATATCGCTTGAATACAATTGTTAACATAAGTACCTG
 5580 TAACCTAAAACAGTGTGATAATATAGCGAACCTTATGTTAACAAATTGTATTATGGAC
 оператор lux site -35 Промотор (luxPL) -> 1 b
 -----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
 TAGGATCGTACAGGTTACGCAAGAAATGGTTGTTATAGTCGATTAATCGATTGATTGATT
 5581 ATCCTAGCATGTCCAATGCGTTCTTACCAAACAATATCAGCTAATTAGCTAAACTAA
 |---- 1209-85 -----> |-- старт мРНК -->
 5641 CTAGATTGTTAACTAATTAAAGGAGGAATAACATATGATCGCTCCACCATGCACAG
 5700 GATCTAACAAAATTGATTAATTCTCTTATTGTATAGCGAGGTGGTACGTGGTC
 b
 NdeI
 5701 TGAGAACGCATTATGAGCATCTGGGACGGTGTGTAACAAATGTGAACCGAGAAAGTACAT
 5760 ACTCTTCGTAATACTCGTAGACCCCTGCCACGACATTGTTACACTTGGTCTTCATGTA
 b
 E K H Y E H L G R C C N K C E P G K Y M -
 Фиг. 5J

Фиг. 5J

GTCTTCTAAATGCACTACTACCTCTGACAGTGTATGTCTGCCCTGTGGCCCGGATGAATA
 5761 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 5820
 CAGAAGATTTACGTGATGAGACTGTACATACAGACGGACACCAGGCTACTTAC

 b S S K C T T T S D S V C L P C G P D E Y -

 CTTGGATAGCTGGAATGAAGAAGATAATGCTTGCTGCATAAAGTTGTGATACAGGCAA
 5821 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 5880
 GAACCTATCGACCTTACTTCTTCTATTACGAACGACGTATTCAAACACTATGTCCGTT

 b L D S W N E E D K C L L H K V C D T G K -

 ApaLI

 GGCCTGGTGGCCGTGGTCGCCGGAACAGTACGACCCCCCGCGCTGCGCGTGCACGGC
 5881 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 5940.
 CGGGGACCACCGGCACCAGCGGCCGTTGTCATGCTGGGGGCCGACGCCACGTGCCG

 b A L V A V V A G N S T T P R R C A C T A -

 KpnI
 Acc65I

 TGGGTACCACTGGAGCCAGGACTGCAGTGCTGCCCGAACACCGAGTGCGCGCCGGG
 5941 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 6000
 ACCCATGGTACCTCGGTCTGACGCTCACGACGGCGGCTGTGGCTACGGCGGGCCC

 b G Y H W S Q D C E C C R R N T E C A P G -

 CCTGGGCGCCCAAGCACCCGTTGCAGCTCAACAAGGACACAGTGTGCAAACCTGCCCTGC
 6001 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 6060
 GAACCGCGGGCTGTGGCAACGTCGAGTTCTGTGTCACAGTTGGAACGGAACG

 b L G A Q H P L Q L N K D T V C K P C L A -

 AGGCTACTTCTCTGATGCCTTCTCCACGGACAAATGCAGACCCCTGGACCAACTGTAC
 6061 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 6120
 TCCGATGAAGAGACTACGGAAAAGGAGGTGCTGTACGTCGGACCTGGTTGACATG

 b G Y F S D A F S S T D K C R P W T N C T -

 CTTCTTGGAAAGAGAGTAGAACATCATGGACAGAGAAATCCGATGTGGTTGCAGTTC
 6121 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 6180
 GAAGGAACCTTCTCTCATCTTGTAGTACCCCTGTCTTTAGGCTACACCAAACGTCAAG

 b F L G K R V E H H G T E K S D V V C S S -

 AccI
 SalI

 TTCTCTGCCAGCTAGAAAACCACCAAAATGAACCCATGTTACGTCGACAAAACAC
 6181 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 6240
 AAAGAGACGGTCGATCTTGTGGTTACTTGGGGTACAAATGCAGCTGTTTGACTGTG

 b S L P A R K P P N E P H V Y V D K T H T -
 <- конец RANK -||-старт Fc'c--->

Фиг. 5К

BspEI AhdI

|

ATGTCCACCTTGTCCAGCTCGGAACTCCTGGGGGACCGTCAGTCTTCCTTTCCCCC
6241 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 6300
TACAGGTGGAACAGGTGAGGCCTTGAGGACCCCCCTGGCAGTCAGAAGGAGAAGGGGG

b C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P -

BspHI

|

AAAAACCCAAAGGACACCCCATGATCTCCCGAACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGGA
6301 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 6360
TTTTGGGTTCTGTGGGAGTACTAGAGGGCCTGGGACTCCAGTGTACGCACCACCT

b K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D -

CGTGAGGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCA
6361 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 6420
GCACTCGGTGCTCTGGACTCCAGTCAAGTTGACCATGCACCTGCCGCACCTCCACGT

b V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H -

TAATGCCAAGACAAAGCCCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGT
6421 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 6480
ATTACGGTTCTGTTCGGGCCCTCCTCGTCATGTTGTCGTGCATGGCACACCAAGTCGCA

b N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V -

EcoNI

|

CCTCACCGTCTGCACCAAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAGGTCTCCAA
6481 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 6540
GGAGTGGCAGGACGTGGTCTGACCTTACCGTCCATGTTCACGTTCCAGAGGTT

b L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N -

CAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAGGGCAGCCCCGAGA
6541 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 6600
GTTTCGGGAGGGTCGGGGTAGCTTTGGTAGAGGGTTCCGTTCCCGTCGGGCTCT

b K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E -

SmaI

BsrGI BmaI SexAI

| | |

ACACAGGGTGTACACCCCTGCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAAGGTCAAGCCT
6601 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 6660
TGGTGTCCACATGTGGACGGGGTAGGGCCCTACTCGACTGGTCTTGGTCCAGTCGGA

b P Q V Y T L P P S R D E L T K N Q V S L -

GACCTGCCTGGTCAAAGCCTCTATCCAGCGACATGCCGTGGAGTGGAGAGCAATGG
6661 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 6720
CTGGACGGACCACTGGTCCAGATAGGGTCGCTGTACGGCACCTCACCCCTCGTTACC

b T C L V K G F Y P S D I A V S W E S N G -

GCAGCGGAGAACAACTACAAGACCAAGCCCTCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCCTCTT
6721 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 6780
CGTCGGCCTCTGGTATGTTCTGGTGGAGGGCACGACCTGAGGTGCGCAGGAAGAA

Фиг. 5L

b Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F -
 6781 CCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGAAACGTCTTCATG
 GGAGATGTCGTTCGAGTGGCACCTGTTCTCGTCCACCGTCGTCCCCTTGCAGAAGAGTAC 6840

b L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C -
 6841 CTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAAACACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCC
 GAGGCACACTACGTACTCCGAGACGTGGTGATGTGCGTCTCTCGGAGAGGGACAGAGG 6900

b S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P -
 6901 BamHI |
 GGGTAAATAATGGATCCGCGGAAAGAAGAAGAAGAAGAAGAAGGCCGAAAGGAAGCTGA
 CCCATTATTACCTAGGCCCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTGACT 6960

b G K * BlpI "шилька" T7
 6961 GTTGGCTGCTGCCACCGCTGAGCAATAACTAGCATAACCCCTGGGGCCTCTAAACGGGT
 -> ACTCGTTATTGATCGTATTGGGAACCCCGGAGATTGCCCCA <-> 7020

7021 <-> TTGAGGGTTTTTGCTGAAAGGAGGAACCGCTCTCACGCTCTCACGCGGATAAAATA
 GAACCTCCCCAAAAACGACTTTCTCCTTGGCGAGAAGTGCAGAAGTGCCTATTTAT
 -T7 stop --> | "шилька" toop

7081 AGTAACGATCCGGTCCAGTAATGACCTCAGAACTCCATCTGGATTGTTAGAACGCTCG
 TCATTGCTAGGCCAGGTCAATTACTGGAGTCTTGAGGTAGACCTAAACAGTCTGCGAGC 7140

7141 <-> GTGCCGCCGGCGTTTTATTGGTGAGAATCGCAGCAACTTGTGCGCCAATCGAGCC
 CAACGGCGGCCGCAAAAATAACCACTCTTAGCGTCGTTGAACAGCGCGTTAGCTCGG
 -- toop stop --> |

окончание (терминация) toop
 7201 ATGTCGTCGTCAACGACCCCCCATTCAAGAACAGCAAGCAGCATTGAGAACCTTGGAAATC
 TACAGCAGCAGTTGCTGGGGGTAAGTTCTGTCGTCGTAACCTTGAAACCTTAG 7260

7261 CAGTCCCCTCTCCACCTGCTGACCG 7285
 GTCAAGGGAGAAGGTGGACACTGGC

Фиг. 5М

[липкий конец Aat II]
(положение #4358 в pAMG21)

5' GCGTAACGTATGCATGGTCTCC-
3' TGCACGCATTGCATACTGACACCAGAGG-

-CCATGCGAGAGTAGGGAACTGCCAGGCATCAAATAAAACGAAAGGCTCAGTCGAAAGACT-
-CGTACGCTCTCATCCCTTGACGGTCCGTAGTTATTTGCTTCCGAGTCAGCTTCTGA-
-GGGCCTTCGTTTATCTGTTGTTGCGTGAACGCTCTCCTGAGTAGGACAAATCCGC-
-CCCGAAGCAAATAGACACAAACAGCCACTTGCAGAGGACTCATCCTGTTAGGCG-
-CGGGAGCGGATTGAACTGCGAAGCAACGGCCGGAGGGTGGCGGGCAGGACGCCGC-
-GCCCTCGCTAAACTTGCACCGCTCCTGCCGGGCTCCACCGCCGCTGCGGGCG-
-CATAAACTGCCAGGCATCAAATAAGCAGAACGGCATCCTGACGGATGGCTTTGCGT-
-GTATTGACGGTCCGTAGTTAATTGCTTCCGGTAGGACTGCCTACCGGAAAACGCA-

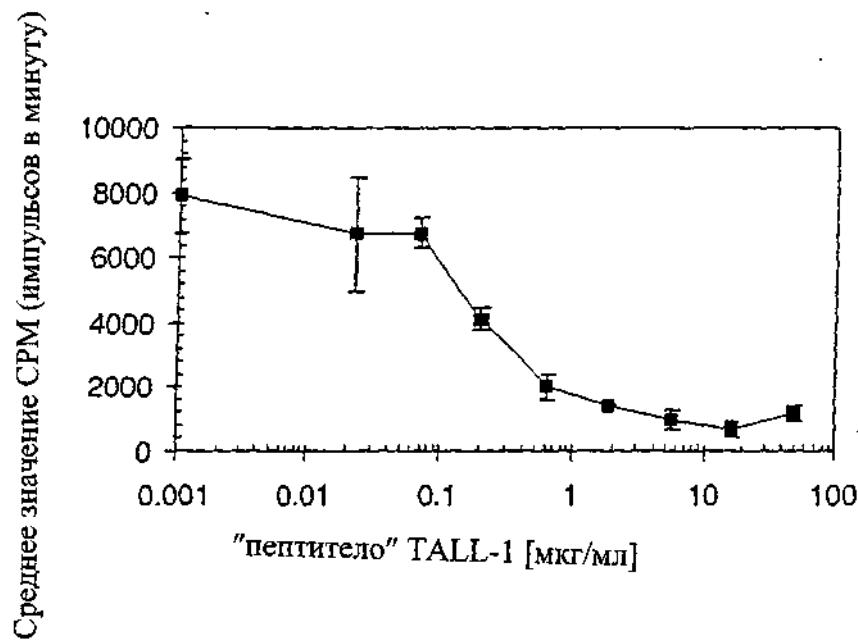
Aat II

-TTCTACAAACTCTTTGTTATTTTCTAAATACTCAAATATGGACGTACTTAAC-
-AAGATTTGAGAAAACAAATAAAAGATTTATGTAAGTTATACCTGCAGCATGAATTG-
-TTTTAAAGTATGGCAATCAATTGCTCTGTTAAATTGCTTAAAGAAATACTTGGCAGC-
-AAAATTCTACCCGTTAGTTAACGAGGACAATTAAACGAAATCTTATGAAACCGTCG-
-GGTTTGTGTTGAGTTCAATTGCGCATTGGTTAAATGGAAAGTGCACCGTGCCTAC-
-CCAAACAAACATAACTCAAAGTAAACGCGTAACCAATTACCTTCACTGGCACGCGAATG-
-TACAGCCTAATATTTTGAAATATCCAAGAGCTTTCTCGCATGCCACGCTAAAC-
-A... . : ...AACTTATAGGGTCTCGAAAAGGAAGCGTACGGGTGCGATTG-
-ATTCTTTCTCTTTGGTTAAATGTTGTTGATTATTATTTGCTATATTATTTTC-
-TAAGAAAAAGAGAAAACCAATTAGCAACAAACTAAATAAAACGATATAATAAAAAG-
-GATAATTATCAACTAGAGAACAAATTATGGTATGTTCATACACGCATGAAAAATA-
-CTATTAAATAGTTGATCTTCTGTTAATTACCATACAAGTATGTCGTAAGGCTCGTAATA-
-AACTATCTATATAGTTGCTTTCTGTAATGTCGAAACTAAAGCATTCCGAAGCCATTAT-
-TTGATAGATATATCAACAGAAAGAGACTAACGTTGATTCGTAAGGCTCGTAATA-
-TAGCAGTATGAATAGGGAAACTAAACCCAGTGATAAGACCTGATGATTGCTCTTTAA-
-ATCGTCATACTTATCCCTTGATTGGTCACTATTCTGGACTACTAAAGCGAAGAAATT-
-TTACATTTGGAGATTTTATTTACAGCATTGTTCAAATATATTCAATTATCGGTG-
-AATGTAACCTCTAAAAATAAAATGTCGTAACAAAAGTTATATAAGGTTAATTAGCCAC-
-AATGATTGGAGTTAGAATAATCTACTATAGGATCATATTAAATTAGGTCATCAT-
-TTACTAACCTCAATCTTATTAGATGATCTCTAGTATAAAATAATTAAATCGCAGTAGTA-
-AATATTGCTCCATTAGGGTAATTATCCAGAATGAAATATCAGATTAAACCATAG-
-TTATAACGGAGGTAAAAATCCCATTAAATAGGTCTTAACTTTATAGCTAAATTGGTATC-
-AATGAGGATAAAATGATCGCAGTAAATAATATTCAAAATGTACCATTTAGTCATATCAG-
-TTACT CCT ATTACTAGCGCTCATTTATATAAGTGTACATGGTAAAATCAGTATAGTC-
-ATAAGCATTGATTAATATCATTTGCTTACAGGCTTTAATTAAATTATCTGT-
-TATTGCTAACTAATTATAGTAATAACGAAAGATGTCGAAATTAAATAATTAAAGACA-
-AAGTGTGTCGGCATTTATGCTTTACACCCATCTCTTATCCTTACCTATGTTGTC-
-TTCACAGCAGCCGTAATAACAGAAAGTATGGTAGAGAAAATAGGAATGGATAACAAACAG-
-GCAAGTTTGCCTGTTATATATCATTAACGGTAATAGATTGACATTGATTCTAAATA-
-CGTTCAAAACGCACAATATATAGTAATTGCTTACCTGTAACAGATTATT-

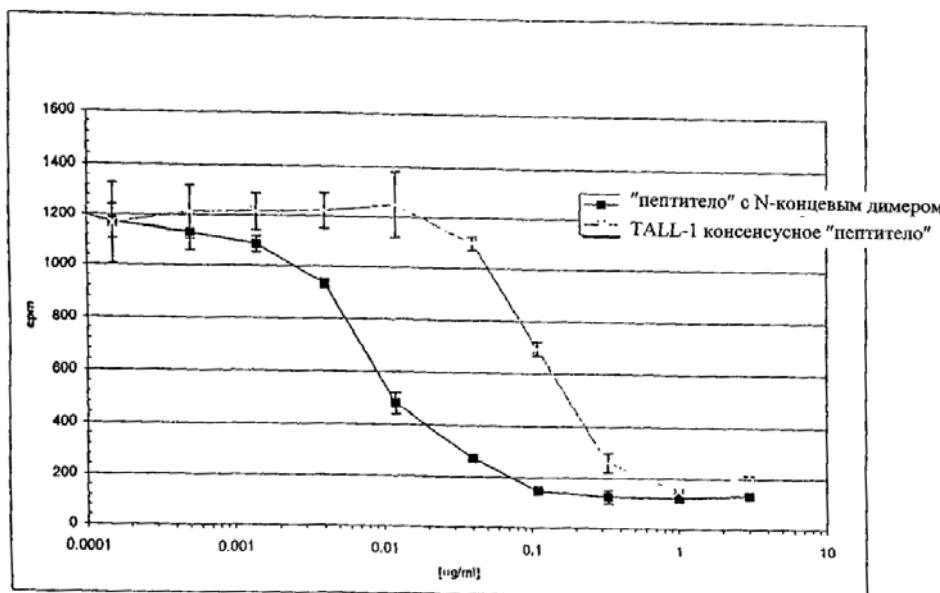
Фиг. 6А

- ATTGGATTTTGTACACTATTATCGCTGAAATAACAATTGTTAACATAAGTACCTG-
 - TAAACCTAAAAACAGTGTGATAATATAGCGAACCTTATGTTAACAAATTGTATTCATGGAC-
 - TAGGATCGTACAGGTTACCGAAGAAAATGGTTGTTATAGTCGATTAATCGATTTGATT-
 - ATCCTAGCATGTCCAAATGCCTCTTTACCAACAAATATCAGCTAATTAGCTAACTAA-
 - CTAGATTGTTTAACTAATTAAAGGAGGAATAACATATGGTTAACCGCTTGGAAATCGA-
 - GATCTAAACAAAATTGATTAATTCTCCTTATTGTATACCAATTGCGAACCTTAAGCT-
SacII
 - GCTCACTAGTGTGACCTGCACGGTACCATGGAAGCTTACTCGAGGATCCGCCGGAAAGAA-
 - CGAGTGATCACAGCTGGACGTCCCAGGTACCTTCGAATGAGCTCTAGGCCCTTCTT-
 - GAAGAAGAAGAAGAAAGCCCGAAAGGAAGCTGAGTTGGCTGCTGCCACCGCTGAGCAATA-
 - CTTCTTCTTCTTCTTGGGCTTCCACTCAACCGACGACGGTGGCGACTCGTTAT-
 - ACTAGCATAACCCCTGGGGCCTCTAAACGGGTCTTGAGGGGTTTTGCTGAAAGGAGG-
 - TGATCGTATTGGGAACCCCGAGATTGCCAGAACCCCCAAAAACGACTTTCTCC-
 - AACCGCTCTTCACGGCTTCAACGC 3'
 - TTGGCGAGAAGTGGAGAAGTG 5'
[липкий конец SacII]
(положение #5904 в pAMG21)

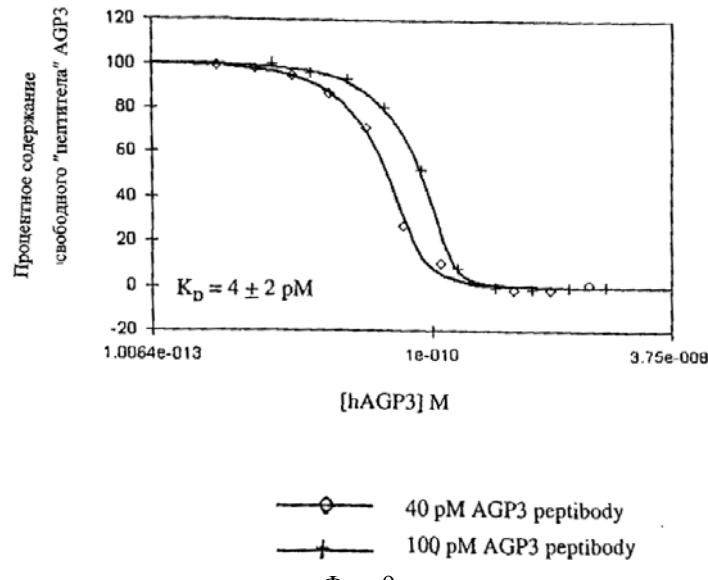
Фиг. 6В



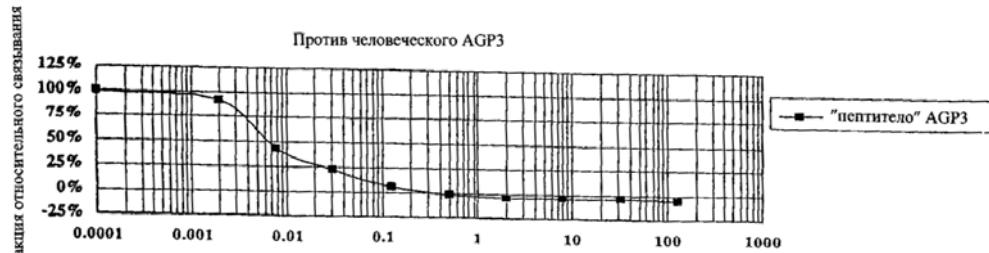
Фиг. 7



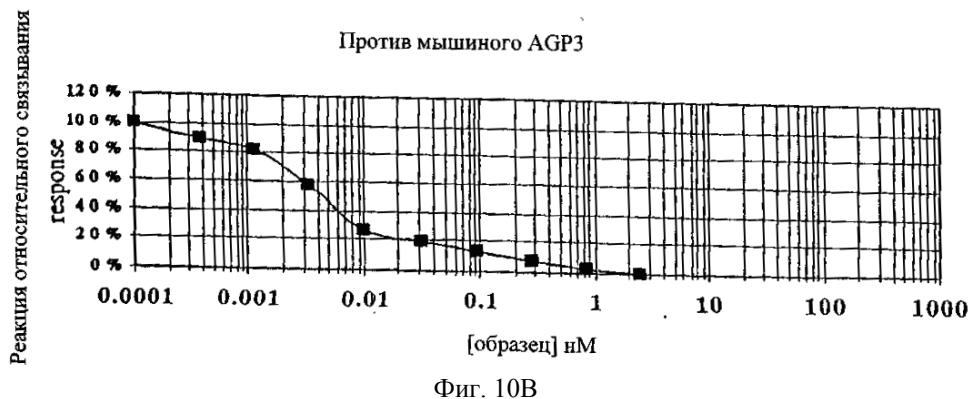
ФИГ. 8



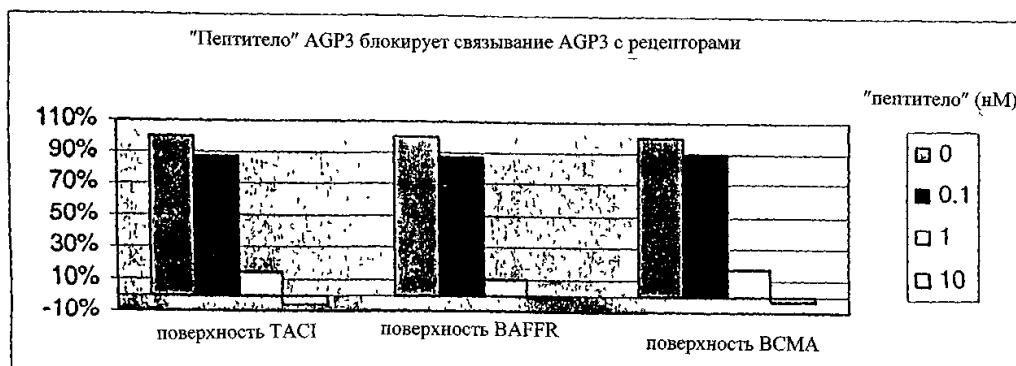
ФИГ. 9



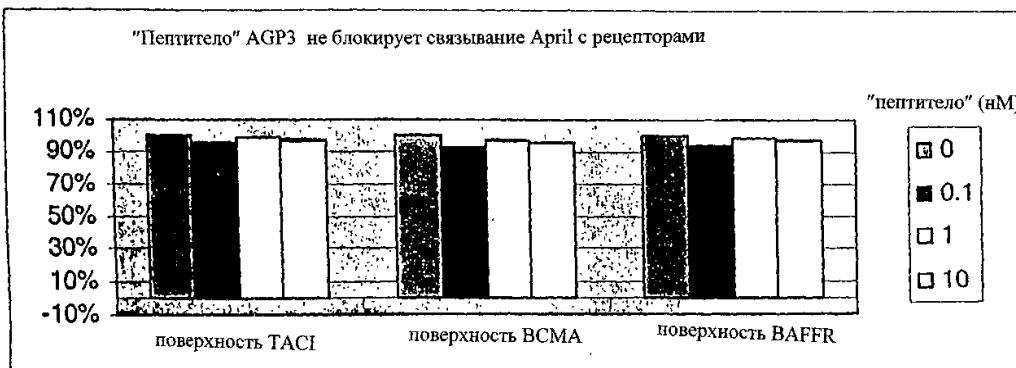
ФИГ. 10А



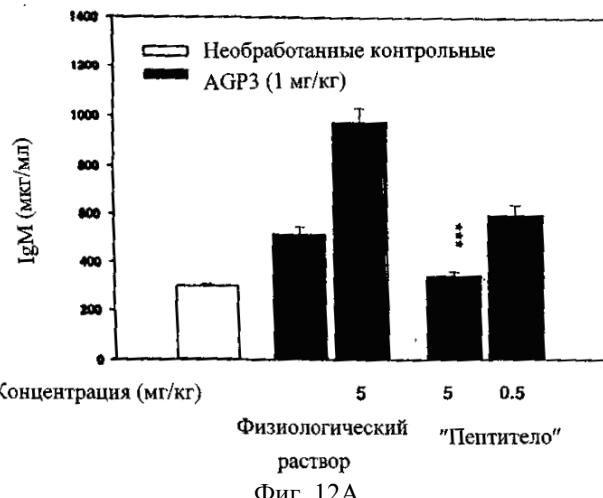
Фиг. 10В



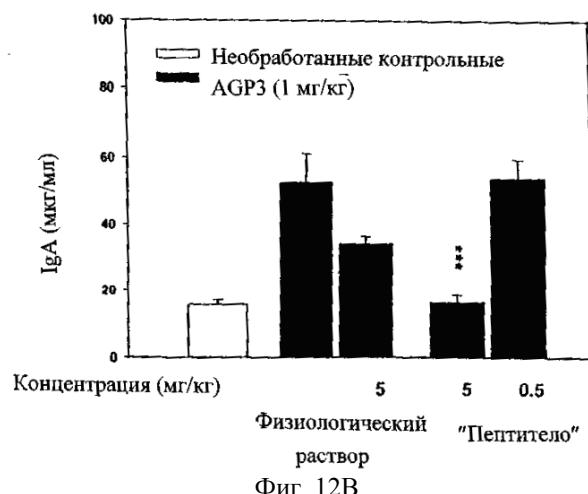
Фиг. 11А



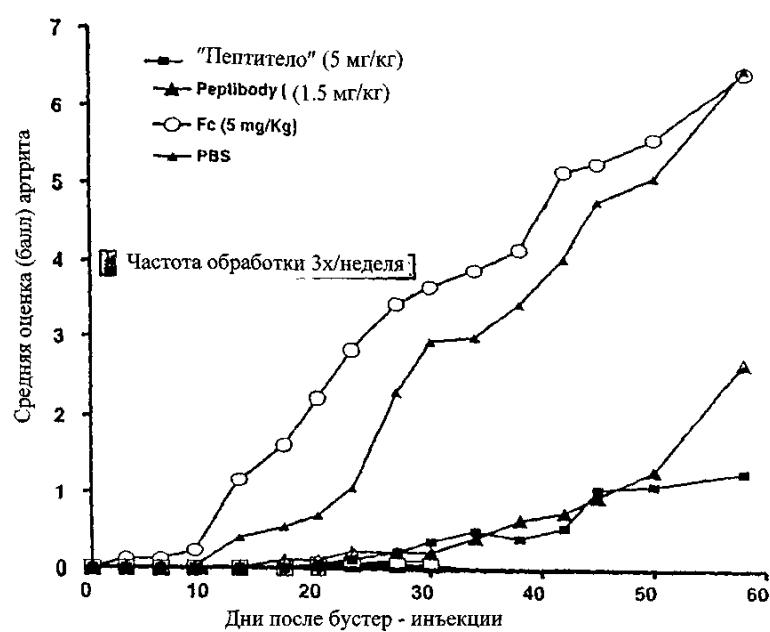
Фиг. 11В



Фиг. 12А



Фиг. 12В

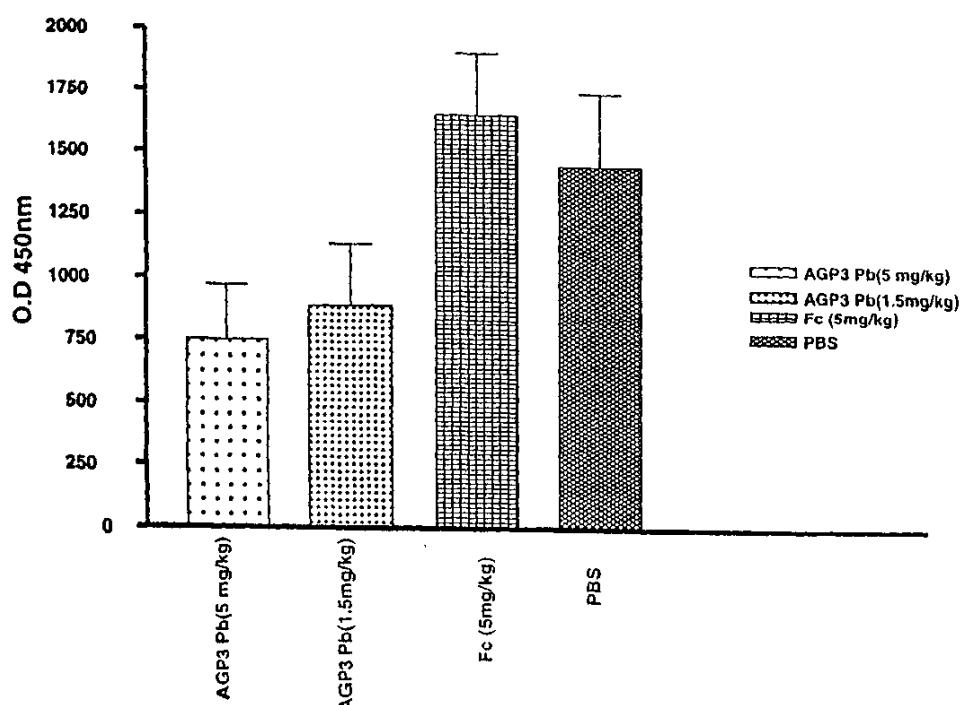


Время -до- заболевания	Pb (5 мг/кг)	Pb (1.5 мг/кг)
значение P vs. PBS	<0.0001	0.0001
значение P vs. Fc	<0.0001	0.0004

Примечание: значения р определяют с помощью log-rank теста

Фиг. 13

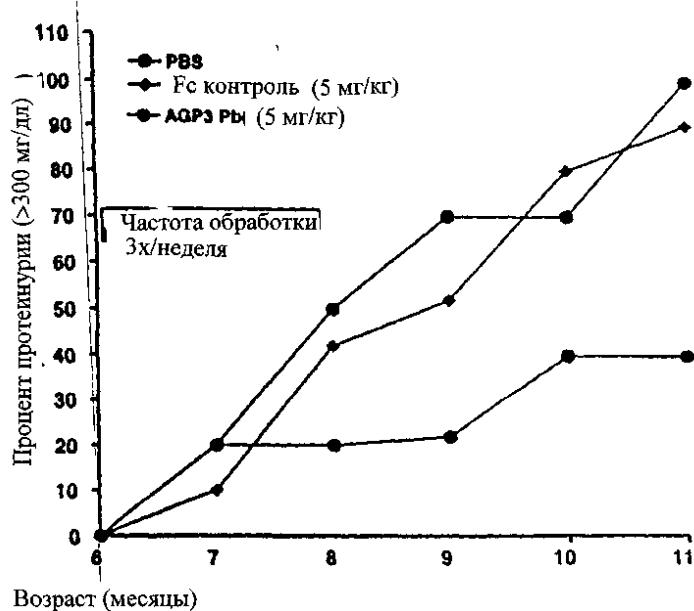
Уменьшение антиколлагенового IgG2b при
лечении "пептилем" AGP3



Образцы сыворотки отбирают через неделю после последнего введения реагента (день 35).
Вышеприведённый график представляет также изотипы IgG1, IgG3 и IgG2a.

Фиг. 14

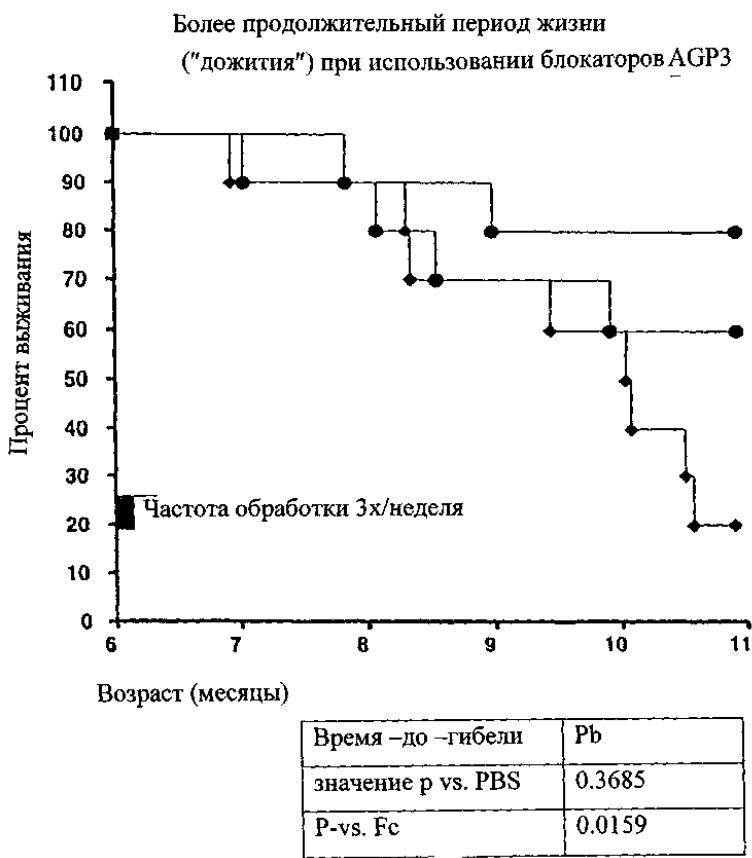
Задержка начала протеинурии с помощью блокаторов AGP3



Заболеваемость протеинурией	Pb
значение p vs. PBS	0.0108
P-vs. Fc	0.0573

Значение Р определяют с помощью "точного теста Фишера"

Фиг. 15А



BamHI

ATGCTTCCAGGCTGCAAGTGGATCTCTTATTAAGCAATGGGTATGCGATCCACTTGGA
1 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 60
TACGAAGGTCCGACGTTCACCTAGAAGAATAATTGTTACCCATACGCTAGGTGAACCT

M L P G C K W D L L I K Q W V C D P L G -

TCCGGTTCTGCTACTGGTGGTCCGGCTCCACCGCAAGCTCTGGTTCAGGCAGTGCGACT
61 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 120
AGGCCAAGACGATGACCACCAAGGCCGAGGTGGCGTTGAGACCCAAGTCCGTACGCTGA

S G S A T G G S G S T A S S S G S G S A T -

NdeI

CATATGCTGCCGGTTGTAAATGGGACCTGCTGATCAAACAGTGGGTTGTGACCCGCTG
121 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 180
GTATACGACGGCCAACATTACCTGGACCACTAGTTGTACCCAAACACTGGCGAC

H M L P G C K W D L L I K Q W V C D P L -

Sali

GGTGGAGGCCGTGGGTCGACAAAACTCACACATGTCCACCTTGTCCAGCTCCGGAACTC
181 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 240
CCACCTCCGCCACCCCAGCTGTTTGAGTGTACAGGTGGAACAGGTCCAGGCCTTGAG

G G G G V D K T H T C P P C P A P E L -

CTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCCTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCCCTCATGATCTCC
241 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 300
GACCCCCCTGGCAGTCAGAAGGAGAAGGGGGTTTGGGTTCTGTGGAGTACTAGAGG

L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S -

CGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAG
301 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 360
GCCTGGGGACTCCAGTGTACGCACCACCTGCACTCGGTGCTCTGGGACTCCAGTTC

R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K -

TTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGGGAGGAG
361 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 420
AAGTTGACCATGCACCTGCCGCACCTCCACGTATTACGGTTCTGTTGGCGCCCTCCTC

F N W Y V D G V E V H N A K T R P R E E -

CAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGCTCTCACCGTCTGCACCAAGGACTGGCTG
421 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 480
GTCATGTTGTCGTGCATGGCACACCAGTCGGCAGGAGTGGCAGGACGTGGTCTGACCGAC

Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L -

Фиг. 16А

AATGGCAAGGAGTACAAGTGCAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAA
 481 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 540
 TTACCGTTCCCTCATGTTCACGTTCCAGAGGTTGTTCGGGAGGGTCGGGGTAGCTCTT
 N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K -
 ACCATCTCAAAGCAAAGGGCAGCCCCGAGAACACAGGTGTACACCCCTGCCCTCATCC
 541 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 600
 TGGTAGAGGTTTCGGTTCCCGTCGGGCTTGGTGTCCACATGTGGGACGGGGTAGG
 T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S -
 CGGGATGAGCTGACCAAGAACCAAGGTCAACCTGACCTGGTCAAAGGCTTCTATCCC
 601 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 660
 GCCCTACTCGACTGGTTCTGGTCCAGTCGGACTGGACGGACCAGTTCCGAAGATAAGG
 R D E L T K N Q V S L T C L V K G F Y P -
 AGCGACATGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACG
 661 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 720
 TCGCTGTAGCGGCACCTCACCCCTCGTTACCGTCGGCTCTTGTGATGTTCTGGTGC
 S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T -
 CCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTCTTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAG
 721 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 780
 GGAGGGCACGACCTGAGGCTGCCGAGGAAGAAGGAGATGTCGTTGAGTGGCACCTGTC
 P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K -
 AGCAGGTGGCAGCAGGGAACGTCTCTCATGCTCCGTATGCATGAGGCTCTGCACAAAC
 781 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 840
 TCGTCCACCGTCGTCCCCCTTGAGAAGAGTACGAGGCACGTACTCCGAGACGTGTTG
 S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N -
 CACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGTAAATAA
 841 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 882
 GTGATGTGCGTCTCTCGGAGAGGGACAGAGGCCATTATT
 H Y T Q K S L S L S P G K * -
 Фиг. 16Б

