

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 цистеином 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- κ B или активации JXK. 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 рецептор клеточной поверхности OPGL 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 кау (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 подход 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. Удержанные 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, Swirla 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.

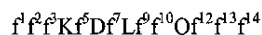
Для выявления пептидов, которые имитируют связывающую активность больших белковых лигандов, можно также использовать структурный анализ белок-белкового взаимодействия. При таком анализе кристаллическая структура может подсказать идентичность или относительную ориентацию важных остатков большого белкового 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 мембране 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, Phyllos, 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;

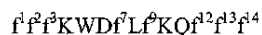
f^{10} обозначал K или

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

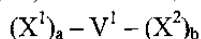


(SEQ ID NO: 125)

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



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

```
MFHDCCKWDL TKQWVCHGLG GGGGVDKTHT CPPCPAPELL GGPSVFLFPF
KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF NMYVDGVEVH NAKTKPREEQ
YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKEYCKKVS N KALPAPTEKT ISKAKQPRE
PQVYTLPPSR DELTANQVSL TCLVKGFPYS DIAVEWESNG QPENNYKTFP
PVLDSGGSFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNH YTQKSLSLSP GK
```

(SEQ ID NO: 122),

или связывающаяся с TALL-1 молекула, имеющая аминокислотную последовательность

MLPGCKWDLI IKQWVCDPLG SGSATGGSGS TASSGSGSAT HMLPGCKWDL
 LIKQWVCDPL GGGGGVDKTH TCPPCPAPEL LGGPSVFLFP PKPKDTLMIS
 RTPEVTCVVV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREE QYNSTYRVVS
 VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEK TISKAKGQPR EPQVYTLPPS
 RDELTKNQVS LTCLVKGFYP SDIAVEWESN GQFENNYKTT PPVLDSDGSF
 FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMHEALHN HYTQKSLSLG PGK

(SEQ ID NO: 123),

или связывающаяся с TALL-1 молекула, имеющая аминокислотную последовательность

MFHDCKWDLI TKQWVCHGLG SGSATGGSGS TASSGSGSAT HMFHDCKWDL
 LTKQWVCHGL GGGGGVDKTH TCPPCPAPEL LGGPSVFLFP FKPKDTLMIS
 RTPEVTCVVV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREE QYNSTYRVVS
 VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEK TISKAKGQPR EPQVYTLPPS
 RDELTKNQVS LTCLVKGFYP SDIAVEWESN GQFENNYKTT PPVLDSDGSF
 FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMHEALHN HYTQKSLSLG 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, описанным 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" ("пептиды"). 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:

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

В, 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. 1В Fc домен связан по аминоконцу пептидов; на фиг. 1Е - по карбоксильному концу;

С, 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 тандемной дубликацией фармакологически активных пептидов. На фиг. 2А показана одноцепочечная молекула, также эта фигура может представлять собой ДНК-конструкцию этой молекулы. На фиг. 2В показан димер, в котором линкер-пептидный участок присутствует только в одной цепи димера. На фиг. 2С показан димер, содержащий линкер-пептидный участок в обеих цепях. Димер, показанный на фиг. 2С, образуется спонтанно в некоторых клетках-хозяевах при экспрессии конструкции ДНК, кодирующей одну цепь, показанную на фиг. 3А. 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 человеческого 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 SalI 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 PcorB, PrepA, RNAI, APHII, luxPR и luxPL;

мРНК для APHII, luxR;

кодирующие последовательности и аминокислотные последовательности белков sorB белка, sorT, gerA1, gerA4, APHII, luxR, RANK и Fc;

сайты связывания белков sorB, CRP;

"шпильки" T1, T2, T7 и петля;

оператор белка lux;

сайты рестрикции для PflIII08I, BglII, ScaI, BmnI, DrdII, DraIII, BstBI, AceIII, AflIII, PflMI, BglI, SfiI, BstEII, BspLullI, NspV, BpII, EagI, BcgI, NsiI, BsaI, Psp1406I, AatII, BsmI, NruI, NdeI, ApaLI, Acc65I, KpnI, SalI, AccI, BspEI, AhdI, BspHI, EcnI, BsrG1, BmaI, SmaI, SexAI, BamHI и BlnI.

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 плазмиды экспрессии pAMG21 (ATCC № 98113).

На фиг. 7 показано, что "peptibody" ("пептитело") TALL-1 (SEQ ID NO: 70) ингибирует опосредуемую TALL-1В-клеточную пролиферацию. Очищенные В-клетки (10^5) мышей В6 культивируют в тройном повторе 96-луночных планшетах с указанными количествами консенсусного "пептитела" TALL-1 в присутствии 10 нг/мл TALL-1 плюс 2 мкг/мл антитела против IgM. Пролиферацию измеряют по поглощению радиоактивного [3 H]тимидина в последние 18 ч пульсового режима. Данные представляют собой среднее значение \pm SD для трёх лунок (тройной повтор).

На фиг. 8 показано, что димерные "пептитела" TALL-1 N-концевого тандема (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 В6 культивируют в тройном повторе в 96-луночных планшетах с указанными количествами "пептитела" TALL-1 12-3 и консенсусного "пептитела" TALL-1 (SEQ ID NO: 115 и 122 в табл. 5В) или родственных димерных "пептител" (SEQ ID NO: 123, 124) в присутствии 10 нг/мл TALL-1 плюс 2 мкг/мл антитела против IgM. Пролиферацию измеряют по поглощению радиоактивного [3 H]тимидина в последние 18 ч пульсового режима. Данные представляют собой среднее значение \pm SD для трёх лунок (тройной повтор).

Фиг. 9. "Пептитело" АСРЗ связывается с АРРЗ 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 "пептитела" АРРЗ, связывающегося с человеческим АРРЗ (SEQ ID NO: 123).

Фиг. 10А и 10В. Пептитело АРРЗ блокирует как человеческий, так и мышинный АРРЗ в конкурентном анализе Вiasore. Растворимый человеческий белок ТАС1 был иммобилизован в чипах В1. 1 нМ рекомбинантного человеческого белка АРРЗ (верхняя панель) или 5 нМ рекомбинантного мышинного белка АРРЗ (нижняя панель) инкубируют с указанным количеством "пептитела" АРРЗ перед инъектированием через поверхность рецептора. Показана относительная реакция связывания человеческого АРРЗ и мышинного АРРЗ (SEQ ID NO: 123).

Фиг. 11А и 11В. Пептитело АРРЗ блокирует связывание АРРЗ со всеми тремя рецепторами ТАС1, ВСМА и ВАФФР в конкурентном анализе Вiasore. Рекомбинантные растворимые рецепторные белки ТАС1, ВСМА и ВАФФР иммобилизованы на чипе СМ5. 1 нМ рекомбинантного человеческого АРРЗ (верхняя панель) инъектируют через поверхность каждого рецептора. Определяют относительное связывание АРРЗ. Аналогично, 1 нМ рекомбинантного белка АРРЛ инкубируют с указанным количеством "пептитела" АРРЗ перед инъектированием через поверхность каждого рецептора. "Пептитело" АРРЗ не ингибирует связывание АРРЛ со всеми тремя рецепторами (SEQ ID NO: 123).

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

Фиг. 13. Обработка пептителом АРРЗ уменьшает тяжесть артрита на мышинной С1А модели. От восьми до двенадцати недель старых самцов DBA/1 иммунизируют бычьим коллагеном типа II (bCII), эмульгированным в полном адьюванте Фрейнда, интрадермально в основание хвоста, и повторно иммунизируют (бустинг) через 3 недели после первоначальной иммунизации с помощью bCII, эмульгированного в неполном адьюванте Фрейнда. Обработку указанной дозой "пептитела" АРРЗ 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 "пептителом" АРРЗ ингибирует образование антител против коллагена на мышинной С1А 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 "пептителом" АРРЗ задерживает начало заболевания протеинурией и повышает выживание при волчанке у мышей NZB/NZW. Пятимесячным мышам NZBx NZBWF1 вводят внутрибрюшинно (интраперитонеально) 3X/неделя в течение 8 недель PBS или указанные дозы "пептитела" АРРЗ (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 "пептитела" (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, отбираемым 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 "пептитела".

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 Tam, 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 "сальваж" (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-антигенсвязывающего 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, IgGA2). 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 отобранной клеткой-хозяином; (3) гетерогенность по N-концу при экспрессии в отобранной клетке-хозяине; (4) гликозилирование; (5) взаимодействие с комплементом; (6) связывание с Fc рецептором, иным, нежели "сальваж"-рецептор; или (7) антитело-зависимую 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 тетрамеры. 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 "дериватизированный" 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 пептидных связей заменяются непептидными; (4) N-конец замещается на $-NRR^1$, $-NRC(O)R^1$, $-NRC(O)OR^1$, $-NRS(O)_2R^1$, $-NHC(O)NHR$, сукцинимидную группу или замещённый или незамещённый бензилоксикарбонил-NH-, где определение R и R¹ и циклических заместителей даётся ниже; (5) C-конец замещается на $-C(O)R^2$ или $-NR^3R^4$, 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.

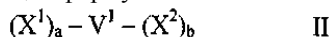
Термины "пептитело" и "пептитела" относятся к молекулам, содержащим домен Fc и по меньшей мере один пептид. Такие "пептитела" могут быть мультимерами или димерами или их фрагментами и они могут быть дериватизированы. В данном изобретении молекулы формул II-VI по данному описанию представляют собой "пептитела", 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 тандем (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 $-(L^1)_c-P^1$, $-(L^1)_c-P^1-(L^2)_d-P^2$, $-(L^1)_c-P^1-(L^2)_d-P^2-(L^3)_e-P^3$ и $-(L^1)_c-P^1-(L^2)_d-P^2-(L^3)_e-P^3-(L^4)_f-P^4$;

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.

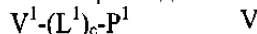
Следовательно, соединение формулы II включает предпочтительные соединения формул



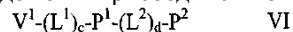
и их мультимеры, где V^1 обозначает Fc домен и присоединён по C-концу A^1 ;



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^5 обозначает W; g^8 обозначает R; 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: |
|---------------------|------------|
| PGTCFFFPWECTHA | 29 |
| WGACWFPFWECFKE | 30 |
| VPFCDLLTKHCFEA | 31 |
| GSRCYKWDVLTKQCFHH | 32 |
| LPGCKWDLLIKQWVCDPL | 33 |
| SADCYFDILTKSDVCTSS | 34 |
| SDDCMYDQLTRMFICSNL | 35 |
| DLNCKYDELTYKEWCQFN | 36 |
| FHDCKYDLLTRQMVCHGL | 37 |
| RNHCFWDHLLKQDICPSP | 38 |
| ANQCWWDLSLTKKNVCEFF | 39 |
| YKGRQWMDILTRSWVVS | 126 |
| QDVGLWWDILTRAWMPNI | 127 |
| QNAQRVWDLIRTWVYPO | 128 |
| GWNEAWDELTKIWWLEQ | 129 |
| RITCDTWDSLKKCVPOS | 130 |
| GAIMQFWDLSLTKTWLRQS | 131 |
| WLHSGWWDPLTKHWLQKV | 132 |
| SEWFFWFDPLTRAQLKFR | 133 |
| GVWFWWFDPLTKQWTQAG | 134 |
| MQCKGYDILTKWCVTNG | 135 |
| LWSKEVWDILTKSWVSOA | 136 |
| KAAGWWFDWLTQVWVPAP | 137 |
| AYQTFWDSLTRLWLSTT | 138 |
| SGQHFWDLLTRSWTPST | 139 |
| LGVGQKWDPLTKQWVSRG | 140 |
| VGKMCQWDPLIKRTVCVG | 141 |
| CRQGAQFDLLTKQCLLGR | 142 |
| GQAIRHWDVLTKQWVDSQ | 143 |
| RGPCGSWDLTKHCLDSQ | 144 |
| WQWKQOWDLTKQMVWVG | 145 |
| PITICRKDLTKQVVCLD | 146 |
| KTCNGKWDLLTKQCLQQA | 147 |
| KCLKGKWDLLTKQCVTEV | 148 |
| RCWNGKWDLLTKQCIHPW | 149 |
| NRDMRKWDPLIKQWIVRP | 150 |
| QAAAATWDLTKQWLVP | 151 |
| PEGGPKWDPLTKQFLPPV | 152 |
| QTPQKKWDLLTKQWFTRN | 153 |
| IGSPCKWDLLTKQMICQT | 154 |
| CTAAGKWDLLTKQCIQEK | 155 |
| VSQCMKWDLLTKQCLQGW | 156 |
| VWGTWKWDLLTKQYLPPQ | 157 |
| GWWEKWDLLTKQWYRPO | 158 |
| TAQVSKWDLLTKQWLPLA | 159 |
| QLWGTKWDLLTKQYIQIM | 160 |
| WATSQKWDLLTKQWVQNM | 161 |
| ORQCAKWDLLTKQCVLFY | 162 |

| Последовательность | SEQ ID NO: |
|---------------------|------------|
| KTTDCCKWDLITKORICQV | 163 |
| LLCQCKWDLITKQCLKLR | 164 |
| LMWFWKWDLITKQLVPTF | 165 |
| QTWAWKWDLITKQWIGPM | 166 |
| NKELLKWDLITKQCRGRS | 167 |
| GQKDLKWDLITKQYVRQS | 168 |
| PKPCQKWDLITKQCLGSV | 169 |
| GOIGWKWDLITKQWIoTR | 170 |
| VWLDWKWDLITKQWlHPQ | 171 |
| QEWYKWDLITKQWGWLR | 172 |
| HWDWKWDLITKQWVVOA | 173 |
| TRPLQKWDLITKQWLRVG | 174 |
| SDQWQKWDLITKQWFDV | 175 |
| QQTfMKWDLITKQWIRRH | 176 |
| QGECKWDLITKQCFPGQ | 177 |
| GOMGWRWDPLTKMCLGPS | 178 |
| QLDGCKWDLITKQKVCIP | 179 |
| HGYWQKWDLITKQWVSSE | 180 |
| HQGCCKWDLITKQWVPC | 181 |
| LHKACKWDLITKQCWPMQ | 182 |
| GPPGSVWDLITKIWIQTG | 183 |
| ITQDWRFDTLTRLWLPLR | 184 |
| QGGFAAWDLITKMWITVP | 185 |
| GHGTPWWDALTRIWLGV | 186 |
| VWPWQKWDLITKQFVFQD | 187 |
| WQWSWKWDLITKQYISSS | 188 |
| NQTLWKWDLITKQFITYM | 60 |
| PVYQGWWDTLTKLYIWDG | 61 |
| WLDGGWRDPLIKRSVQLG | 62 |
| GHQQFKWDLITKQWVQSN | 63 |
| QRVGQFWDVLTKMFITGS | 64 |
| QAQGSYDALIKTWIRWP | 65 |
| GWMHWKWDLITKQALPWM | 66 |
| GHPTYKWDLITKQWILQM | 67 |
| WNNWSLWDPLTKLWLQON | 68 |
| WQWGWKWDLITKQWVQQQ | 69 |
| GOMGWRWDPLTKMWLGTS | 70 |

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

12-3 LPGCKWDLLIKQWVCDPL
BAFFR MRRGPRSLRGRDAPVPTPCVPTECYDLLVRKCVDRCILL
TACI TICNHQSQRCAAFCSRSLSCRKEQGKFYDHLRDCI SCAS I
BCMA FVSPSQEIRGRFRRLQMAGQCSQNEYFDSLLHACIPCQLRC
 (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 внутривептидную 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 молекулярного остова на площади 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 заместить на аланин, как это было ранее описано для "аланин-сканирующего мутагена" (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 | Предпочтительные 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 приписывают 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 \pm 1); аланин (-0.5); гистидин (-0.5); цистеин (-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 $\pm 0,5$ 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 (аналогичных) 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); Gribskov et al., *Meth. Enzym.*, 183: 146-159 (1990); Gribskov 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 PA 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 экспрессируется 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 делетировать или заменять на негликозилируемые остатки (например, аланин).

5. Сайты, участвующие во взаимодействии с комплементом, такие как сайт связывания C1q, удаляют. Например, можно делетировать 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, предпочитая 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, amino, тиольная или сложноэфирная группа) с реакционноспособной группой соединения по изобретению (например, альдегидной, amino 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 несёт 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 1-6-связями. Сам по себе декстран существует в виде молекул, молекулярный вес которых меняется в большом интервале, и легко доступен декстран с молекулярным весом примерно от 1 до 70 кДа. Декстран 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 декстрана, конъюгированного 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), поли(Gly-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:

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.

Конкретные предпочтительные линкеры суть

GSGSATGGSGSTASSGSGSATHM

(SEQ ID NO: 59)

GSGSATGGSGSTASSGSGSATGM

(SEQ ID NO: 190)

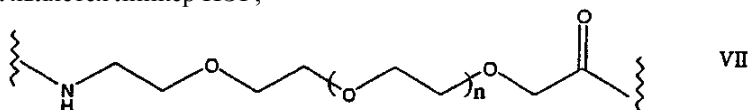
GSGSATGGSGSTASSGSGSATGS

(SEQ ID NO: 191) и

GSGSATGGSGSTASSGSGSATHMGSGSATGGSGSTASSGSGSATHM

(SEQ ID NO: 192).

Возможны также непептидные линкеры. Например, алкильные линкеры, такие как -NH-(CH₂)_s-C(O)-, где можно использовать значение s=2-20. Эти алкильные линкеры могут дополнительно 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.

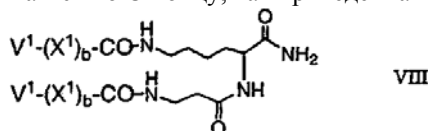
Производные.

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 циклизироваться с образованием дисульфидной связи;

2) соединение является сшитым или его молекулы способны образовывать перекрёстные связи (сшивание). 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 сшиваться 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 пептидных [-C(O)NR-] связей (фрагментов) замещается на непептидную связь. Примерами непептидных связей являются -CH₂-карбамат [-CH₂-OC(O)NR-], фосфонат, -CH₂-сульфонамид [-CH₂S(O)₂NR-], мочевины [-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 сшивающим фрагментом (например, алкиленовым мостиком). См., например, Bhatnagar et al. (1996), J. Med. Chem. 39: 3814-9; Alberts et al. (1993) Thirteen Am. Rep. Symp., 357-9;

7) один или более отдельных аминокислотных остатков модифицирован. Известны различные дериватирующие 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; О-метилизомочевину; 2,4-пентандион и катализируемую трансаминазой реакцию с глиоксалью.

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

Очень тщательно изучалась специфическая модификация тирозинильных остатков, при этом особый интерес вызвало введение спектральных меток в тирозинильные остатки по реакции с ароматическими диазониевыми соединениями или тетранитрометаном. Чаще всего используют N-ацетилимидазол и тетранитрометан для образования О-ацетилтирозинильных 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 глутаминильный остатки реакцией с ионами аммония.

Глутаминильный и аспарагинильный остатки можно дезаминировать до соответствующих глутаминового и аспарагинового 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 сшивание (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-гидроксисукцинимидоэфиры, эфиры 4-азидосалициловой кислоты, гомобифункциональные имидоэфиры, включая дисукцинимидильные эфиры, такие как 3,3'-дителиобис-(сукцинимидилпропионат), и бифункциональные малеинимиды, такие как бис-N-малеинимидо-1,8-октан.

Дериватирующие 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-ацетилнейраминую 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 CHO, BHK, 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 серинового или треонинового 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 элиминировать 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, кодирующей 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, иницирующие 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*

сп.) 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 всем мире. Ревматоидный артрит является заболеванием соединительных суставов, в которых хрящ и кость медленно разрушается под действием пролиферативной, инвазивной ткани, называемой паннус, образующейся из синовиальной мембраны. Заболевание может затрагивать околосуставные структуры, такие как сумки, оболочки сухожилий и оболочки, а также внесуставные ткани, такие как подкожный слой, сердечно-сосудистая система, легкие, селезенка, 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;
- аутоиммунную 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, псориазный 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 опухолях;
 увеит и
 васкулит.

Соединения по данному изобретению можно вводить самостоятельно или в комбинации с терапевтически эффективным количеством других лекарственных веществ, включая анальгетики, противовоспалительные 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 (Enbrel™), sTNF-RI, онерцепт (oncept), D2E7 и Remicade™;

модуляторами фактора роста нервной ткани (NGF);

ингибиторами IL-1, включая молекулы IL-1ra, такие как анакинра и молекулы открытых позднее IL-1Hu1 и IL-1Hu2; молекулы для "улавливания" IL-1, описанные в патенте США № 5844099, выданном 1 декабря 1998 г.; антитела к IL-1; солубилизованный 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, солубилизованным IL-18 рецептором или антителами к IL-18);

модуляторами интерлейкин-1 - превращающего фермента (ICE);

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

трансформирующим фактором роста β (TGF- β , ТФР- 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 Celebrex™ и Vioxx™;

аналогами простагландинов (например, простагландины группы E);
 модуляторами матричных металлопротеиназ (ММР);
 модуляторами синтазы оксида азота (NOS), включая модуляторы индуцибельной NOS;
 модуляторами глюкокортикоидного рецептора;
 модуляторами глутаматного рецептора;
 модуляторами уровней липополисахаридов (LPS);
 п 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, солибутилизирующими веществами, эмульгаторами, адъювантами 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 солибутилизирующие 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), p. 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. Banker 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, карбоксиметилцеллюлозу, декстран, поливиниловый спирт, поливинилпирролидон и полипролин. См., например, Abuchovski and Davis, Soluble Polymer-Enzyme Adducts, Enzymes as Drugs (1981), Hoenberg 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 микросферы), 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, апельсиновую корку, кислую карбоксиметилцеллюлозу, природную губку и бентонит. Другую форму дезинтегрантов представляют нерастворимые катионообменные смолы. В качестве дезинтегрантов и связующих можно использовать порошкообразные смолы, такие как агар, камедь карайи 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 (MC), этилцеллюлозу (EC) и карбоксиметилцеллюлозу (CMC). Для грануляции терапевтического препарата могут применяться спиртовые растворы как поливинилпирролидона (PVP), так и гидроксипропилметилцеллюлозы (HPMC).

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 поверхностно-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 мембраной, что позволяет воде проходить внутрь через мембрану, а осмотического давление выталкивает лекарственное вещество через единственное маленькое отверстие. Некоторые энтеросорбительные покрытия также обладают способностью к пролонгированному выделению.

В препаратах можно применять другие покрытия. Эти покрытия включают ряд сахаров, которые можно помещать в кристаллизатор (чан) 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 незэтеросолюбильные вещества и включают метилцеллюлозу, этилцеллюлозу, гидроксипропилцеллюлозу, метилгидроксипропилцеллюлозу, гидроксипропилметилцеллюлозу, натрий карбоксиметилцеллюлозу, провидон и полиэтиленгликоли. Вторая группа состоит из ээтеросолюбильных 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 псевдооживленном 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), *Internatl. 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, адъювантов 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 газе-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 "Λ" 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-Λ-V ¹ | 44 |
| V ¹ -Λ- LPGCKWDLLIKQWVCDPL | 45 |
| LPGCKWDLLIKQWVCDPL -Λ- LPGCKWDLLIKQWVCDPL -Λ-V ¹ | 46 |
| V -Λ- LPGCKWDLLIKQWVCDPL -Λ- LPGCKWDLLIKQWVCDPL | 47 |
| SADCYFDILTKSDVCTSS-Λ-V ¹ | 48 |
| V ¹ -Λ- SADCYFDILTKSDVCTSS | 49 |
| SADCYFDILTKSDVTSS-Λ- SADCYFDILTKSDVTSS -Λ-V ¹ | 50 |
| V ¹ -Λ- SADCYFDILTKSDVTSS -Λ- SADCYFDILTKSDVTSS | 51 |
| FHDCKWDLTKQWVCHGL-Λ-V ¹ | 52 |
| V ¹ -Λ- FHDCKWDLTKQWVCHGL | 53 |
| FHDCKWDLTKQWVCHGL -Λ- FHDCKWDLTKQWVCHGL -Λ-V ¹ | 54 |
| V ¹ -Λ- FHDCKWDLTKQWVCHGL -Λ- FHDCKWDLTKQWVCHGL | 55 |

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, выбираемой 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 (Dyna) 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 суспендируют 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 подвергнуть 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.

А. 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) (Duax 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.

В. Негативная селекция.

Для каждого условия пэннинга из исходной библиотеки отбирают аликвоты около 100 экв. производной 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.

С. Селекция с применением намагничённых 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). Эту 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.

Д. Элюция связанного фага средой с pH 2.

После последней стадии отмывания (раздел 2С) связанные фаги элюируют с намагничённых бус, добавляя 200 мкл CBST (50 mM цитрата натрия, 150 mM 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 mM K_2HPO_4 , 33 mM KH_2PO_4 , 7,6 mM $(NH_4)SO_4$ и 1,7 mM цитрата натрия), доводя конечный объём до 1 мл.

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

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

3. Амплификация.

А. Приготовление препарата высевных в плашки клеток.

Свежую культуру *E.coli* (XL-1 Blue MRF') выращивают до $OD_{600}=0,5$ в среде LB, содержащей 12,5 мкг/мл тетрациклина. Для каждого условия пэннинга 20 мл этой культуры охлаждают льдом и центрифугируют. Осадок бактерий снова суспендируют в 1 мл раствора солей Min A.

В. Трансдукция.

Каждую смесь, получаемую различными методами элюции (разделы 2Д и 2Е), 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.

С. 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 суспендируют в 6 мл буфера для повторного суспендирования фага (250 mM NaCl, 100 mM Tris pH 8, 1 mM 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 суспендируют 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.

Во втором цикле амплифицированный фаг (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 (10¹⁰ 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 2E) 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. Рекombинантный 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 рекombинантный 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 тетраметилбензимидаина (TMB) (Sigma), реакцию прекращают, прибавляя 50 мкл 5N раствора H₂SO₄. OD₆₀₀ считывают с помощью планшетного ридера (Molecular Devices).

В. 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'-CATGTACCGTAACACTGAGTTTCGTC-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 mM MgCl ₂ | 4 |
| 10 mM 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 PCR в оставшихся 45 мкл каждой реакционной смеси очищают с помощью системы QIAquick Multiwell PCR Purification Kit (Quiagen) 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 переменных нуклеотидных последовательностей (раздел 5B), коррелируют с данными ELISA. Клоны, показывающие высокое значение OD₄₅₀ в лунках с иммобилизованным TALL-1 и низкое значение OD₄₅₀ в лунках 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.

В. 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, FHDCCKWDLTKQWVCHGL (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 5A), определяют с помощью мотива DBL. Подчёркнутую "аминокислотную последовательность ядра" получают, определяя аминокислоту, которая чаще всего встречается в каждом положении. Два цистеиновых 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 SalI. Эти дуплексные молекулы лигируют в вектор (pAMG21-RANK-Fc, представленный в данном описании), содержащий человеческий ген Fc, также расщепляемый с помощью NdeI и SalI. 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 "пептитела" | Пептидная последовательность | Смысловый олигонуклеотид | Анти-смысловый олигонуклеотид |
|------------------|--------------------------|------------------------------|--------------------------|-------------------------------|
| TALL-1-8-1-a | 29 | PGTCFPPFWECTHA | 2517-24 | 2517-25 |
| TALL-1-8-2-a | 30 | WGACWPPFWECFKE | 2517-26 | 2517-27 |
| TALL-1-8-4-a | 31 | VPFCDLLTKHCFEA | 2517-28 | 2517-29 |
| TALL-1-12-4-a | 32 | GSRCYKWDVLTQCFHH | 2517-30 | 2517-31 |
| TALL-1-12-3-a | 33 | LPGCKWDLLIKQWCDPL | 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 | FHDCKYDILLTRQMVCHGL | 2521-94 | 2521-95 |
| TALL-1-12-11-a | 38 | RNHCFWDHLLKQDICPSP | 2521-96 | 2521-97 |
| TALL-1-12-14-a | 39 | ANQCWWDLSLTKKNVCEFF | 2521-98 | 2521-99 |
| TALL-1-consensus | 58 | FHDCCKWDLTKQWVCHGL | 2551-48 | 2551-49 |

Таблица 5В

"Пептитела", ингибирующие TALL-1

| Пепти- ло | SEQ ID пепти- тела | Пептидная последовательность |
|-------------------|--------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| TALL-1- 8-1-a | 111 | MPGTCFFFPW ECTHAGGGGG VDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDEL KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK |
| TALL-1- 8-2-a | 112 | MWGACWFFPW ECFKEGGGGG VDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDEL KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK |
| TALL-1- 8-4-a | 113 | MVPFCDLLTK HCFEAGGGGG VDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDEL KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK |
| TALL-1- 12-4-a | 114 | MGSRCXYKWD VLTQCFHHG GGGGVDKTHT CPPCPAPELL GGPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKEYKCKVSN KALPAPIEKT ISKAKGQPRE PQVYTLPPSR DELTKNQVSL TCVKGFPYPS DIAVEWESNG QPENNYKTTTP PVLDSGGSFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNNH YTQKSLSLSP GK |
| TALL-1- 12-3-a | 115 | MLPGCKWDLI IKQWCDPLG GGGGVDKTHT CPPCPAPELL GGPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKEYKCKVSN KALPAPIEKT ISKAKGQPRE PQVYTLPPSR DELTKNQVSL TCVKGFPYPS DIAVEWESNG QPENNYKTTTP PVLDSGGSFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNNH YTQKSLSLSP GK |
| TALL-1- 12-5-a | 116 | MSADCYFDIL TKSDVCTSSG GGGG VDKTHT CPPCPAPELL GGPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKEYKCKVSN KALPAPIEKT ISKAKGQPRE PQVYTLPPSR DELTKNQVSL TCVKGFPYPS DIAVEWESNG QPENNYKTTTP PVLDSGGSFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNNH YTQKSLSLSP GK |
| TALL-1- 12-8-a | 117 | MSDDCMYDQL TRNFICSNLG GGGGVDKTHT CPPCPAPELL GGPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKEYKCKVSN KALPAPIEKT ISKAKGQPRE PQVYTLPPSR DELTKNQVSL TCVKGFPYPS DIAVEWESNG QPENNYKTTTP PVLDSGGSFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNNH YTQKSLSLSP GK |

| | | |
|--------------------------------------|-----|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| TALL-1-12-9-a | 118 | MDLNCKYDEL TYKEWCQFNG GGGGVDKTHT CPPCPAPELL GGPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKEYKCKVSN KALPAPIEKT ISKAKGQPRE PQVYTLPPSR DELTKNQVSL TCLVKGFPYS DIAVEWESNG QPENNYKTTT PVLDSGGSFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFS SC SVMHEALHNN YTQKSLSLSP GK |
| TALL-1-12-10-a | 119 | MFHDCKYDLL TRQMVCHGLG GGGGVDKTHT CPPCPAPELL GGPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKEYKCKVSN KALPAPIEKT ISKAKGQPRE PQVYTLPPSR DELTKNQVSL TCLVKGFPYS DIAVEWESNG QPENNYKTTT PVLDSGGSFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFS SC SVMHEALHNN YTQKSLSLSP GK |
| TALL-1-12-11-a | 120 | MRNHCFWDHL LKQDICPSFG GGGGVDKTHT CPPCPAPELL GGPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKEYKCKVSN KALPAPIEKT ISKAKGQPRE PQVYTLPPSR DELTKNQVSL TCLVKGFPYS DIAVEWESNG QPENNYKTTT PVLDSGGSFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFS SC SVMHEALHNN YTQKSLSLSP GK |
| TALL-1-12-14-a | 121 | MANQCWWDSL TKKNVCEFFG GGGGVDKTHT CPPCPAPELL GGPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKEYKCKVSN KALPAPIEKT ISKAKGQPRE PQVYTLPPSR DELTKNQVSL TCLVKGFPYS DIAVEWESNG QPENNYKTTT PVLDSGGSFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFS SC SVMHEALHNN YTQKSLSLSP GK |
| TALL-1-смысло-вой | 122 | MFHDCKWDLL TKQWVCHGLG GGGGVDKTHT CPPCPAPELL GGPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKEYKCKVSN KALPAPIEKT ISKAKGQPRE PQVYTLPPSR DELTKNQVSL TCLVKGFPYS DIAVEWESNG QPENNYKTTT PVLDSGGSFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFS SC SVMHEALHNN YTQKSLSLSP GK |
| TALL-1-12-3 тан-демный Димер | 123 | MLPGCKWDLL IKQWVCDPLG SGSATGGSGS TASSGSGSAT HMLPGCKWDL LIKQWVCDPL GGGGVVDKTH TCPPCPAPEL LGGPSVFLFP KPKDTLMIS RTPEVTCVVV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPRE QNSTYRVVS VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEK TISKAKGQPR EPQVYTLPPS RDELTKNQVS LTCLVKGFPY SDIAVEWESN GQPENNYKTT PPVLDSGGSF FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS C SVMHEALHN HYTQKSLSLS PGK |
| TALL-1-консенсу-сый тан-демный Димер | 124 | MFHDCKWDLL TKQWVCHGLG SGSATGGSGS TASSGSGSAT HMFHDCKWDL LTKQWVCHGL GGGGVVDKTH TCPPCPAPEL LGGPSVFLFP KPKDTLMIS RTPEVTCVVV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPRE QNSTYRVVS VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEK TISKAKGQPR EPQVYTLPPS RDELTKNQVS LTCLVKGFPY SDIAVEWESN GQPENNYKTT PPVLDSGGSF FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS C SVMHEALHN HYTQKSLSLS PGK |

Таблица 6

Последовательности олигонуклеотидов, используемые для конструкции "пептител"

| ID номер олигону-клеотида | 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 CCG 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 TTC 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 CCG TTG AAC TGA CAC CAT TCT TTG TAA GTC AGTTGG 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 ATC TGA CGA GTC AGC AAG 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 CCG AAG AAT TCA CAA ACG 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 CCG TGG CAA ACC CAC TGT TTG GTC AGC AGG TCC CAT TTG CAG TCG TGG AAC A |

Вектор рAMG21-RANK-Fc.
рAMG21.

Плазмиду экспрессии рAMG21 (регистрационный № 98113 в АТСС) можно получить из вектора экспрессии Amgen рCFM1656 (АТСС#69576), который, в свою очередь, использован векторной системой Amgen, описанной в патенте США № 4710473. Плазмиду рCFM1656 можно получить из описанной плазмиды рCFM836 (патент США 4710473):

разрывом двух эндогенных NdeI сайтов рестрикции по концу, заполняемому ферментом Т4 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 рCFM636 (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'  CTAATTCGCTCTCACCTACCAAAACAATGCCCCCTGCAAAAAATAAATTCATAT-
3'  TGCAGATTAAGGCGAGAGTGGATGGTTTGTACGGGGGACGTTTTTATTTAAGTATA-

-AAAAACATACAGATAACCATCTGCGGTGATAAATTATCTCTGGCGGTGTTGACATAAA-
-TTTTTGTATGTCTATTGGTAGACGCCACTATTAATAGAGACGCCACAACCTGTATTT-

-TACCACTGCGCGGTGATACTGAACACAT 3'
-ATGGTGACCGCCACTATGACTCGTGTACC 5'
          ClaI

```

SEQ ID NO: 96:

```

5'  CGATTTGATTCTAGAAGGAGGAATAACATATGGTTAACGCGTTGGAATTCGGTAC
3'
3'  TAAACTAAGATCTTCCTCCTTATTGTATACCAATTGCGCAACCTTAAGC 5'
          ClaI                                KpnI

```

Затем, используя ряд сайт-направленных замен оснований с помощью мутагенеза (реакцией PCR) перекрывающихся олигонуклеотидов и замен в последовательности ДНК, из рCFM1656 можно получить плазмиду экспрессии рAMG21. Начиная с сайта BglII (плазмиды br#180), непосредственно 5' к промотору P_{сорВ} репликации плазмиды, и вплоть до генов репликации плазмиды замены пар оснований показаны в табл. 7.

Таблица 7

Замены пар оснований в рAMG21

| рAMG21 п.о. # | п.о. в рCFM1656 | п.о. —замены в рAMG21 |
|---------------|--------------------|------------------------|
| # 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 | делеция п.о. |
| # 2187 | C/G | T/A |
| # 2480 | A/T | T/A |
| # 2499 - 2502 | AGTG TCAC | GTCA CAGT |
| # 2642 | TCCGAGC AGGCTCG | делеция 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 рCFM1656) и SacII (положение #4585 в рCFM1656) заменяют приведённой ниже последовательностью ДНК (SEQ ID NO: 97):

[Липкий конец AatII] 5' GCGTAACGTATGCATGGTCTCC-
(положение #4358 в pAMG21) 3' TGCACGCATTGCATACGTACCAGAGG-

-CCATGCGAGAGTAGGGAACAGCAGCATCAAATAAACGAAAGGCTCAGTCGAAAGACT-
-GGTACGCTCTCATCCCTTGACGGTCCGTAGTTTATTTTGGCTTTCCGAGTCAGCTTTCTGA-

-GGGCTTTTCGTTTATCTGTGTTTGTGCGGTGAACGCTCTCCTGAGTAGGACAAATCCGC-
-CCCGGAAAGCAAAATAGACAAACAGCCACTTGCGAGAGGACTCATCTCTTTAGGCG-

-CGGGAGCGGATTTGAACGTTGCGAAGCAACGGCCCGGAGGGTGGCGGGCAGGACGCCCCG-
-GCCCTCGCCTAACTTGCAACGCTTCGTTGCGGGGCTCCACCGCCGCTCTCGGGGCG-

-CATAAACTGCCAGGCATCAAATTAAGCAGAAGGCCATCTGACGGATGGCCTTTTTCGCT-
-GTATTTGACGGTCCGTAGTTTAATTGCTCTTCCGGTAGGACTGCCTACCGGAAACGCA-

AatII

-TTCTACAACTCTTTTGTATTATTTTCTAAATACATTCAAATATGGACGTCGTACTTAAC-
-AAGATGTTTGAGAAAACAATAAAAGATTATGTAAGTTTATACCTGCAGCATGAATTG-

-TTTTAAAGTATGGGCAATCAATTGCTCTGTTAAAATTGCTTTAGAAATACCTTGGCAGC-
-AAAATTCATACCCGTTAGTTAACGAGGACAATTTAACGAAATCTTTATGAAACCGTCG-

-GGTTTGTGATTGAGTTTCATTTCGCGCATTGGTTAAATGGAAAGTGACCGTCGCTTAC-
-CCAAACACATAACTCAAAGTAAACGCGTAACCAATTACCTTTCACGTCGCGCAATG-

-TACAGCCTAATATTTTGAATATCCCAAGAGCTTTTTCCTTCGCATGCCACGCTAAAC-
-ATGTCGGATTATAAAACTTTTAGGGTTCTCGAAAAGGAAGCGTACGGGTGCGATTG-

-ATTCTTTTCTCTTTTGGTTAAATCGTTGTTGATTATTTATTTGCTATATTTATTTTC-
-TAAGAAAAGAGAAAACCAATTTAGCAACAACTAAATAATAACGATATAAATAAAAG-

-GATAATTATCAACTAGAGAAGGAACAATTAATGGTATGTTTATACACGCATGTAAAAATA-
-CTATTAATAGTTGATCTCTTCTTGTAAATTACCATAACAAGTATGTGCGTACATTTTAT-

-AACTATCTATATAGTTGCTTCTCTGAATGTGCAAACTAAGCATTCGGAAGCCATTAT-
-TTGATAGATATATCAACAGAAAGAGACTTACACGTTTGTATTCGTAAGGCTTCGGTAATA-

-TAGCAGTATGAATAGGGAACATAACCCAGTGATAAGACCTGATGATTTGCTTCTTTAA-
-ATCGTCATACCTTATCCCTTTGATTGCGGTCACTATCTGGACTACTAAAGCGAAGAAAT-

-TTACATTTGGAGATTTTATTTACAGCATTTGTTTCAAATATATTCCAATTAATCGGTG-
-AATGTAACCTCTAAAAATAAATGTCGTAACAAAAGTTTATATAAGGTTAATTAGCCAC-

-AATGATTTGGAGTTAGAATAATCTACTATAGGATCATTTTTATTAAATTAGCGTCATCAT-
-TTACTAACCTCAATCTTATTAGATGATATCCTAGTATAAAATAAATTAAATCGCAGTAGTA-

-AATATTGCCTCCATTTTATAGGGTAATTATCCAGAATTGAAATATCAGATTTAACCATAG-
-TTATAACGGAGGTAAAAATCCCATTAATAGGCTTAACTTTATAGTCTAAATGGTATC-

-AATGAGGATAAATGATCGCGAGTAAATAATATTCACAATGTACCATTTTAGTCATATCAG-
-TTACTCCTATTACTAGCGCTATTATTATAAGTGTTACATGGTAAATCAGTATAGTC-

-ATAAGCATTGATTAATATCATTATTGCTTCTACAGGCTTTAATTTTATTAATTATCTGT-
-TATTGTAACATAATTATAGTAATAACGAAGATGTCCGAATTAATAAATTAATAAGACA-

-AAGTGTCGTCGGCATTTATGCTTTTCATACCCATCTCTTTATCCTTACCTATTGTTGTC-
-TTCACAGCAGCCGTAATACAGAAAGTATGGGTAGAGAAATAGGAATGGATAACAAACAG-

-GCAAGTTTTGCGTGTATATATCATTTAAACGGTAAATAGATTGACATTTGATTCTAATAA-
-CGTTCAAACCGCACAATATATAGTAATTTTGCCTATTCTAACTGTAACCTAAGATTATT-

-ATTGGATTTTGTGACACTATTATATCGCTTGAAATACAATTGTTTAAACATAAGTACCTG-
-TAACCTAAACAGCTGTGATAATATAGCGAATTTATGTTAACAAATGTTATTTCATGCAC-

-TAGGATCGTACAGGTTTACGCAAGAAATGGTTTGTATAGTCGATTAAATCGATTGATT-
-ATCCTAGCATGTCAAATGCGTCTTTTACCAACAATATCAGCTAATTAGCTAAACTAA-

-CTAGATTTGTTTTAACTAATTAAAGGAGGAATAACATATGGTTAACGCGTTGGAATTCGA-
-GATCTAAACAAAATTGATTAAATTTCTCCTTATTGTATACCAATTGCGCAACCTTAAGCT-

SacII

-GCTCACTAGTGTGACCTGCAGGGTACCATGGAAGCTTACTCGAGGATCCGCGGAAAGAA-
-CGAGTGATCACAGCTGGACGTCCCATGTTACCTTCGAATGAGCTCCTAGGCGCTTTCTT-

-GAAGAAGAAGAAGAAAGCCCGAAAGGAAGCTGAGTTGGCTGCTGCCACCGCTGAGCAATA-
-CTTCTTCTTCTTCTTCGGGCTTTCTTCGACTCAACCGACGACGGTGGCGACTCGTTAT-

-ACTAGCATAACCCCTTGGGGCTCTAAACGGGTCTTGAGGGGTTTTTTGCTGAAAGGAGG-
-TGATCGTATTGGGGAACCCCGGAGATTGCCCAGAACTCCCAAAAACGACTTTCTCTCC-

-AACCGCTCTTACGCTCTTACGCG 3' | [Липкий конец SacII]
-TTGGCGAGAAGTGGGAGAAGTG 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. Эту конструкцию модифицируют, встраивая кодон валина в месте соединения RANK и Fc. Прилегающие кодоны валина и аспартата создают уникаль-

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

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):

```
ttatttcgtcggccggcaccattatcaccgcccagaggttaaaactagtcacacgcacgggttagatat
TTATCCCTTGGCGGTGATAGATTGAGCAGCATCGATTGATTCTAGAAGGAGGGGATAATATATGAG
CACAAAAAAGAAACCAATTAACACAAGAGCAGCTTGAGGACGCACGTCGCTTAAAGCAATTTA
TGAAAAAAGAAAAATGAACCTTGGCTTATCCAGGAATCTGTCGACAGACAAGATGGGGATGGG
GCAGTCAGGCGTGTGGTGTCTTATTAAATGGCATCAATGCAATAAATGCTTATAACGCCGATTGC
TTACAAAAAATTCTCAAAAGTTAGCGTTGAAGAAATTTAGCCCTTCAATCGCCAGAGAATATACGGA
ATGTATGAAGCGGTAGTATGACGCGTCACCTAGAAGTGAGTATGAGTACCGTGTCTTTCTCA
TGTTACAGGCAGGGATGTTCTCACCTAAGCTTAGAACCTTTACCAAAGGTGATGCGGAGAGATGG
GTAAGCACAACCAAAAAAGCCAGTGTATCTGCATTCTGGCTTGAGGTTGAAGGTAATTCATGA
CCGCACCAACAGGCTCCAAGCCAAGCTTTCCTGACGGAATGTTAATTCTCGTTGACCGTGAGCA
GGCTGTGAAGCCAGGTGATTTCTGCATAGCCAGACTTGGGGGTGATGAGTTTACCTTCAAGAAA
CTGATCAGGATAGCGGTACGGTGTCTTACAACCACTAAACCCACAGTACCCCAATGATCCCAT
GCAATGAGAGTGTCTCGTGTGGGGAAAGTTATCGCTAGTCAGTGGCTGAAGAGACGTTTGG
CTGATAGACTAGTGGATCCACTAGTgttttgcgc
```

Конструкцию доставляют в хромосому, используя рекомбинантный фаг, называемый MMeBg-cI857s7 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 инсера показана ниже с "обрамляющими" маленькими буквами (в начале и в конце), представляющими собой ebg последовательности, фланкирующие показанный ниже инсерт (SEQ ID NO: 99):

```
ggcggaaaccGACGTCCATCGAATGGTGCAAAACCTTTTCGCGGTATGGCATGATAGCGCCCGGAAGA
GAGTCAATTCAGGGTGGTGAATGTGAACCAAGTAACGTTATACGATGTCGACAGATATGCCGGT
GTCTCTTATCAGACCGTTTCCCGCGTGGTGAACAGGCCAGCCACGTTTCTCGAAAAACCGCGG
AAAAAATCGAAGCGCGATGCGCGAGCTGAATTACATTTCCCAACCGCGTGGCACAACATGAG
CGGCAAAACAGTCCGTCTGTGATGGCGTTGCCACCTCCAGTCTGGCCCTGCACGCGCGCTCGCA
AATTGTCCGCGCGATTAATCTCCGCGCGATCAACTGGGTGCCAGCGTGGTGGTGTGATGGTA
GAACGAAGCGCGCTCGAAGCCTGTAAAGCGCGGTGCACAATCTTCTCGCGCAACCGCTCAGTG
GGCTGATCATTAACATATCCGCTGGATGACCAAGATGCCATTGCTGTGGAAGCTGCTGCACTAA
TGTTCGCGCGTTATTTCTGTATGTCTGTACAGACACCCATCAACAGTATTAATTTCTCCCATGA
AGACCGTACCGCACTGCGCGTGGAACTCTGGTCCGATTTGGGTCAACCAACAAATCGCGCTGTTA
CGCGGCGCAATTAAGTTCTGTCTCGCGCGCTGCGCTGTGGCTGGCTGGCATAAATATCTCACTCG
CAATCAAAATCAACCGATAGCGGAACCGGAAGCGCACTGGAGTGCCATGTCCCGTTTTCACAA
ACCAATGCAAAATGCTGAATGAGGCACTGGTCCCACTGGCATGCTGGTTGCCAACGATCAGATGG
CCTGGCGGCAATGCGCGCAATACCGATGCGCGCTGGCGCTGGTGGTGGATATCTCGGTAGT
GGGATACGACGATACCGAAGACAGCTCATGTTATATCCCGCGCTTAACCAACATCAAAACAGGAT
TTTCGCTGTGGGCAAAACCAACCGTGGACCGCTTCTGCAACTCTCTCAGGCGCAGCGGTGA
AGGGCAATCAGCTGTTCGCGCTCTCACTGGTGAAGAAAGAAACCAACCTGGCGGCAATACGCA
AACCGCTCTCCCGCGCTTGGCGGATTCATTAATGCACTGGCAGCAGAGGTTTCCGACTGG
AAAGCGGACAGTAAGGTACCATAGGATCCaggcacagga
```

Конструкцию доставляют в хромосому, используя рекомбинантный фаг, называемый AGebg-LacIO#5 в F' tet/GM101. После рекомбинации и растворения в клетке остаётся только описанный выше хромосомный инсерт. Ему дают новое название F' tet/GM221. Эписому 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. Иницирование 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. Рефракtilьные тельца включения наблюдают в индуцированных культурах;

это указывает, что, вероятнее всего, Fc-слияния продуцируются в нерастворимой фракции в *E.coli*. Клеточные пеллеты лизируют непосредственным ресуспендированием 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. "Пептитело" TALL-1 ингибирует опосредуемую TALL-1 пролиферацию В-клеток.

Мышиные В-лимфоциты выделяют из селезенки C57BL/6 негативной селекцией (MACS CD43 (Ly-48) Microbeads, Miltenyi Biotec, 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 "пептитела" TALL-1 в течение 4 дней при 37°C, 5% CO₂. Пролиферацию определяют по поглощению радиоактивного ³[H] тимидина через 18 ч после инкубации.

Пример 4. TALL-1 "пептитело" 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 "пептитела" AGP3 инкубируют с указанными различными концентрациями человеческого AGP3 при комнатной температуре в течение 8 ч перед тем, как пропустить через колонки с бусами, покрытыми человеческим AGP3. Количество "пептитела", связанного с бусами, определяют флуоресцентно (Cy5) меченым антителом козы против человеческого Fc антитела (Jackson Immuno Research). Сигнал связывания пропорционален концентрации свободного "пептитела" 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 "пептитела" AGP3 (SEQ ID NO: 123), связывающегося с человеческим AGP3 (фиг. 9).

Для того чтобы определить, может ли это "пептитело" AGP3 нейтрализовать связывание с мышинным 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 mM 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% P20, 1 nM рекомбинантного человеческого AGP3 (в рабочем буфере плюс 0,1 мг/мл BSA), инкубируют с указанными различными количествами "пептитела" AGP3 и без "пептитела" AGP3 (ось x) перед тем, как инъецировать через поверхность рецептора. Регенерацию осуществляют, используя 8 mM глицин pH 1,5 в течение 1 мин. 25 mM 3-[циклогексиламино]-1-проаминсульфоновой кислоты (CAPS) pH 10,5, 1 M NaCl в течение 1 мин. Для определения связывания с мышинным AGP3 человеческий меченый TACI иммобилизуют до 1000RU в вышеуказанном буфере. 5 nM рекомбинантного мышинового AGP3 инкубируют с различными количествами указанного на фиг. 11 "пептитела" AGP3 и без "пептитела" AGP3 (ось x) перед тем, как инъецировать через поверхность рецептора. Регенерацию осуществляют с помощью 10 mM HCl pH 2, дважды в течение 30 с. Определяют относительное связывание как человеческого, так и мышинового AGP3 в присутствии или в отсутствие AGP3 "пептитела" (SEQ ID NO: 123) (ось x). Реакцию на относительное связывание определяют как (RU-RU контрольный (слепой)/RUo-RU контрольный). "Пептитело" AGP3 (SEQ ID NO: 123) ингибирует связывание как человеческого, так и мышинового AGP3 с его рецептором TACI (фиг. 10A и 10B).

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

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

Мышиные В-лимфоциты выделяют из селезенки мышей C57BL/6 негативной селекцией. (MACS CD43 (Ly-48) Microbeads, Miltenyi Biotec, 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 "пептитела" AGP-3 (SEQ ID NO: 123) в течение 4 дней при 37°C, 5% CO₂. Пролиферацию определяют по поглощению радиоактивного ³[H] тимидина через 18 ч после инкубации.

Пример 6. Влияние "пептитела" 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 "пептитела" 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, АД), 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, конъюгированную с нейтравидином (Pierce, Rockford, IL), и тетраметилбензимидаз (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 "пептитела" (SEQ ID NO: 123), равной 5 мг/кг, но не 0,5 мг/кг (фиг. 12A и 12B).

Пример 7. AGP3 "пептитело" 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 "пептитела" (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 конъюгированное с флуоресцеинизоцианатом (FITC) и фикоэритрином (PE) Ab против CD3 и B220 соответственно (PharMingen, San Diego, CA) и анализатор FACSscan (Becton and Dickinson, Mountain View, CA). В-клетки идентифицируют, определяя CD3-B220+. При всех дозах AGP3 "пептитело" (SEQ ID NO: 123) понижает число В-клеток в селезёнке по схеме реакция - доза (фиг. 12A и 12B) (SEQ ID NO: 123).

Пример 8. AGP3 "пептитело" уменьшает тяжесть артрита у мышью 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 (bCII) (полученным из Университета штата Юта), эмульгированным в полном адьюванте Фрейнда (Difco). Каждая инъекция составляет 100 мкл, содержащих 100 мкг bCII. Через 3 недели после первой иммунизации мышью повторно иммунизируют bCII, 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 "пептителом" 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 CII 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 "пептителом" AGP3 (SEQ ID NO: 123) понижает уровни сывороточных антител IgG1, IgG3, IgG2a и IgG2b против коллагена II по сравнению с контрольными группами, обраба-

тываемыми PBS или Fc (фиг. 14).

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

Пятимесячным предрасположенным к волчанке мышам NZBx NZBWF1 вводят i.p. 3X/неделя в течение 8 недель PBS указанные дозы белков: AGP3 "пептитела" 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 "пептитела" (SEQ ID NO: 123) приводит к снижению случаев протеинурии и к повышению выживаемости (фиг. 15A и 15B).

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

Таблица 8

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

| n = 7 | доза (1/день x 7) | В-клетки в селезёнке (1×10^6) | SD | t тест |
|---------------------------------|----------------------|------------------------------------------------|-----|-------------|
| физиологи- ческий раствор | | 51.3 | 9.6 | |
| Fc | 5 мг/кг | 45.5 | 3.8 | |
| "Пептитело" | 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 ccg acc cct gag gtc aca tgc gtg 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 ccg gag gag cag tac aac agc acg 240
 Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu 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 ccg gat gag ctg 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 gcc 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 528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
              165              170              175

ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc 576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
              180              185              190

gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg 624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
              195              200              205

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg 672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
              210              215              220

tct ccg ggt aaa 684
Ser Pro Gly Lys
225

<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 Leu 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 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> Кодировочная последовательность
 <222> (2)..(61)
 <223>

<400> 3
 t atg ccg ggt act tgt ttc ccg ttc ccg tgg gaa tgc act cac gct ggt 49
 Met Pro Gly Thr Cys Phe Pro Phe Pro Trp Glu Cys Thr His Ala Gly
 1 5 10 15

gga ggc ggt ggg g
 Gly Gly Gly Gly 62
 20

<210> 4
 <211> 20
 <212> Белок
 <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 SalI

<220> Кодирующая последовательность
 <221>
 <222> (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 52
 Gly Gly Gly Gly
 20

<210> 6
 <211> 20
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Фрагмент от NdeI до SalI

<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 SalI

<220>
 <221> Кодирующая последовательность
 <222> (2)..(61)
 <223>

<400> 7
 c 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 SalI

<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 SalI

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

<400> 9

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

ttc cac cac ggt gga ggc ggt ggg g 74
Phe His His Gly Gly Gly Gly
20

<210> 10

<211> 24

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220> -
<223> Фрагменты от NdeI до SalI

<400> 10

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
20

<210> 11

<211> 74

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220> -
<223> Фрагменты от NdeI до SalI

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

<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 Gly
 20

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

<220>
 <223> Фрагменты от NdeI до SalI

<400> 12
 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 Gly Gly
 20

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

<220>
 <223> Фрагменты от NdeI до SalI
 <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 SalI

<400> 14
 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 Gly Gly
 20

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

<220>
 <223> Фрагменты от NdeI до SalI
 <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 Gly
 20

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

<220>
 <223> Фрагменты от NdeI до SalI
 <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 Gly
 20

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

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

<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 SalI
 —

<220>
 <221> Кодирующая последовательность
 <222> (2) .. (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 SalI
 —

<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 Gly
 20

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

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

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

<400> 21
 t atg cgt aac cac tgt ttc tgg gac cac ctg ctg aaa 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 74
 Pro Ser Pro Gly Gly Gly Gly
 20

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

<220>
 <223> Фрагменты от NdeI до SalI

<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 Gly
 20

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

<220>
 <223> Фрагменты от NdeI до SalI

<220>
 <221> Кодирующая последовательность
 <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 74
 Glu Phe Phe Gly Gly Gly Gly Gly
 20

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

<220>
 <223> Фрагменты от NdeI до SalI

<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
 20

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

<220>
 <223> Фрагменты от NdeI до SalI

<220>
 <221> Кодированная 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 74
 His Gly Leu Gly Gly Gly Gly
 20

<210> 26
 <211> 24
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Фрагменты от NdeI до SalI

<400> 26

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
 20

<210> 27
 <211> 7285
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Вектор pAMG-RANK-Fc

<400> 27
 gatcagcagt ccccggaaca tcgtagctga cgccttcgcg ttgctcagtt gtccaaacccc 60
 ggaacaggga aaaagcaagt ttccccgct cccggcggtt caataactga aaaccatact 120
 atttcacagt ttaaatcaca ttaaacgaca gtaatccccg ttgatttctg gccaacaca 180
 gatcttcgtc acaattctca agtcgctgat tcaaaaaaac tgtagtatcc tctgcgaaac 240
 gatccctggt tgagtattga ggaggcgaga tgtcgcagac agaaaatgca gtgacttctc 300

cattgagtca aaagcggttt gtgcgcagag gtaagcctat gactgactct gagaacaaaa 360
tggccgttgt tgcaagaaaa cgtcttacac acaaagagat aaaagttttt gtcaaaaatc 420
ctctgaagga tctcatgggt gactactgct agagagaggg gataacacag gctcagttcg 480
ttgagaaaaat catcaaagat gaactgcaaa gactggatat actaaagtaa agactttact 540
ttgtggcgta gcatgctaga ttactgatcg ttttaggaat ttgtgtgctg gccacgccgt 600
aaggtggcaa ggaactgggt ctgatgtgga tttacaggag ccagaaaagc aaaaaccccg 660
ataatcttct tcaacttttg cgagtacgaa aagattaccg gggccactt aaacogtata 720
gccacaatt cagctatgct gggagtatag ttatatgcc ggaaaagtc aagacttctt 780
tctgtgctcg ctcttctgc gcattgtaag tgcaggatgg tgtgactgat cttcaccaaa 840
cgtattaccg ccaggtaaag aaccgcaatc cgtgtttac accccgtgaa ggtgcaggaa 900
cgctgaagtt ctgcgaaaaa ctgatggaaa aggcgggtgg cttcacttcc cgttttgatt 960
tcgccattca tgtggcgac gcccgttcgc gtgatctgct tgcgcgtatg ccaccagtgc 1020
tgcgtcgtcg ggctattgat gcgctcttg aggggctgtg tttccactat gaccgcgtgg 1080
ccaaccgct ccagtgtcc atcaccacgc tggccattga gtgcggactg gcgacggagt 1140
ctgtgcgcgg aaaactctcc atcaccogtg ccaccogtg cctgacgttc ctgtcagagc 1200
tgggactgat tacctaccag acggaatatg acccgcttat cgggtgctac attccgaccg 1260
atatcacgtt cacatctgca ctgtttgctg ccctcgatgt atcagaggag gcagtggccg 1320
ccgcgcgcgg cagccgtgtg gtatgggaaa acaaacaacg caaaaagcag gggctggata 1380
ccctgggcat ggatgaactg atagcgaaag cctggcggtt tgttcgtgag cgttttcgca 1440
gttatcagac agagcttaag tcccggtgaa taaagcgtgc cgtgcgcgt cgtgatgcgg 1500
acagggaaacg tcaggatatt gtcaccctgg tgaacggca gctgacgcgc gaaatcgcg 1560
aaggcgctt cactgccaat cgtgagcgcg taaaacgcga agttgagcgt cgtgtgaagg 1620
agcgcatgat tctgtcacgt aaccgtaatt acagccggct ggccacagct tccccctgaa 1680
agtgcctcc tctgaataat ccggcctgct ccggaggctt ccgcacgtct gaagcccgac 1740
agcgcaaaaa aaatcagcac cacatacaaa aaacaacctc atcatccagc ttctgggtgca 1800
tccggccccc cctgttttcg atacaaaaca cgcctcacag acggggaatt ctgcttatcc 1860
acattaaact gcaagggact tccccataag gttacaaccg ttcattgtcat aaagcgccat 1920
ccgccagcgt tacagggtgc aatgtatctt ttaaaccct gtttatatct cctttaaaact 1980
acttaattac attcatttaa aaagaaaacc tattcactgc ctgtccttgg acagacagat 2040
atgcaactcc caccgcaagc ggccggccccc taccggagcc gctttagtta caacactcag 2100
acacaaccac cagaaaaacc ccgggtccagc gcagaactga aaccacaaag cccctccctc 2160
ataactgaaa agcggccccc ccccggtccg aagggccgga acagagtcgc ttttaattat 2220
gaatgttgta actacttcat catcgctgct agtcttctcg ctggaagttc tcagtacacg 2280
ctcgtaagcg gccctgacgg cccgctaacg cggagatacg ccccgacttc gggtaaaacc 2340

tcgtcgggac cactccgacc gcgcacagaa gctctctcat ggctgaaagc gggatatggtc 2400
 tggcagggct ggggatgggt aaggtgaaat ctatcaatca gtaccggctt acgccgggct 2460
 tcggcggttt tactcctgtt tcatatatga aacaacaggt caccgccttc catgcgcgtg 2520
 atgcggcata tcctggtaac gatatctgaa ttgttataca tgtgtatata cgtggtaatg 2580
 acaaaaatag gacaagttaa aaatttacag gcgatgcaat gattcaaaca cgtaatcaat 2640
 atcgggggtg ggcgaagaac tccagcatga gatccccgcg ctggaggatc atccagccgg 2700
 cgtcccgga aacgattccg aagcccaacc ttcatagaa ggcggcggtg gaatcgaat 2760
 ctctgatgg caggttgggc gtccgttggc cggctcattc gaaccccaga gtcccgctca 2820
 gaagaactcg tcaagaaggc gatagaaggc gatgcgctgc gaatcgggag cggcgatacc 2880
 gtaaagcacg aggaagcggc cagccattc gccgccaaag tcttcagcaa tatcacgggt 2940
 agccaacgt atgtcctgat agcggctcgc cacaccagc cggccacagt cgatgaatcc 3000
 agaaaagcgg ccattttcca ccatgatatt cggcaagcag gcatcgccat gagtcacgac 3060
 gagatcctcg ccgtcgggca tgcgcgcctt gagcctggcg aacagttcgg ctggcgcgag 3120
 cccctgatgc tcttcgtcca gatcctctg atcgacaaga ccggcttcca tccgagtacg 3180
 tgctcgcctg atgcgatgtt tcgcttgggt gtcgaaatggg caggtagccg gatcaagcgt 3240
 atgcagccgc cgcattgcat cagccatgat ggatactttc tcggcaggag caaggtgaga 3300
 tgacaggaga tcctgccccg gcacttcgcc caatagcagc cagtcccttc ccgcttcagt 3360
 gacaacgtcg agcacagctg cgcaaggaaac gcccgctcgt gccagccacg atagccgcgc 3420
 tgccctcgtc tgcaattcat tcaggacacc ggacaggctg gtcttgacaa aaagaaccgg 3480
 gcgcccctgc gctgacagcc ggaacacggc ggcatcagag cagccgattg tctgttgtgc 3540
 ccagtcatag ccgaatagcc tctccacca agcggccgga gaacctgct gcaatccatc 3600
 ttgttcaatc atcgaaacg atcctcatcc tgtctcttga tctgatcttg atccccgcg 3660
 ccatcagatc cttggcggca agaaagccat ccagtttact ttgcagggt tcccaacctt 3720
 accagagggc gccccagctg gcaattccgg ttcgcttgct gtccataaaa ccgcccagtc 3780
 tagctatgc catgtaagcc cactgcaagc tacctgcttt ctctttgcgc ttgcgttttc 3840
 ccttgtccag atagcccagt agctgacatt catccggggt cagcaccgtt tctgaggact 3900
 ggctttctac gtgttccgt tcttttagca gcccttgcc cctgagtgt tgcggcagc 3960
 tgaagctaca tatatgtgat ccgggcaaat cgctgaatat tcttttgc tccgaccatc 4020
 aggcacctga gtcgtgtct ttttcgtgac attcagttcg ctgcgctac ggetctggca 4080
 gtgaatgggg gtaaatggca ctacaggcgc cttttatgga ttcattgcaag gaaactaccc 4140
 ataatacaag aaaagcccg caccggcttc tcagggcgtt ttatggcggg tctgctatgt 4200
 ggtgctatct gactttttgc tgttcagcag ttcctgcct ctgattttcc agtctgacca 4260
 cttcggatta tcccgtaga ggtcattcag actggctaag gcaccagta aggcagcggc 4320
 atcatcaaca ggcttaccg tcttactgtc gaagacgtg ataacgtat catggtctcc 4380

ccatgcgaga gtagggaact gccaggcatc aaataaaacg aaaggctcag tcgaaagact 4440
 gggccttttcg ttttatctgt tgtttgtcgg tgaacgctct cctgagtagg acaaatccgc 4500
 cgggagcggg tttgaacgtt gcgaagcaac ggcccgaggg gtggcgggca ggacgcccgc 4560
 cataaactgc caggcatcaa attaagcaga aggccatcct gacggatggc ctttttgcgt 4620
 ttctacaaac tcttttgttt atttttctaa atacattcaa atatggacgt cgtacttaac 4680
 ttttaaagta tgggcaatca attgctcctg ttaaaattgc tttagaaata ctttggcagc 4740
 ggtttgttgt attgagtttc atttgccatc tggttaaatg gaaagtgacc gtgcgcttac 4800
 tacagcctaa ttttttgaa atatcccaag agctttttcc ttcgcatgcc cagcctaaac 4860
 attctttttc tcttttggtt aaatcgttgt ttgatttatt atttgctata tttatttttc 4920
 gataattatc aactagagaa ggaacaatta atggtatggt cacaacgca tgtaaaaata 4980
 aactatctat atagtgtctt ttctctgaat gtgcaaaact aagcattccg aagccattat 5040
 tagcagtatg aatagggaaa ctaaaccagc tgataagacc tgatgatttc gcttctttaa 5100
 ttacatttgg agatttttta ttacagcatc tgttttcaaa tatattccaa ttaatcgggtg 5160
 aatgatttga gttagaataa tctactatag gatcatatct tattaaatta gcgtcatcat 5220
 aatattgcct ccatttttta gggtaattat ccagaattga aatatcagat ttaaccatag 5280
 aatgaggata aatgatcgcg agtaaaatatt atcacaaatg taccatttta gtcatatcag 5340
 ataagcattg attaatatca ttattgcttc tacaggcttt aattttatta attattctgt 5400
 aagtgtcgtc ggcatttatg tctttcatac ccattctctt atccttacct attgtttgtc 5460
 gcaagttttg cgtgttatat atcatataaa cggtaataga ttgacatttg attctaataa 5520
 attggatttt tgtcacacta ttatatcgtt tgaaatacaa ttgtttaaca taagtacctg 5580
 taggatcgta cagggttacg caagaaaatg gtttgttata gtcgattaat cgatttgatt 5640
 ctagatttgt ttaactaat taaaggagga ataacatatg atcgctccac catgcaccag 5700
 tgagaagcat tatgagcatc tgggacgggt ctgtaacaaa tgtgaaccag gaaagtacat 5760
 gtcttctaaa tgcactacta cctctgacag tgtatgtctg ccctgtggcc cggatgaata 5820
 cttggatagc tggaaatgaag aagataaatg cttgctgcat aaagtttgtg atacaggcaa 5880
 ggccttgggt gccgtgggtc cggcaacagc tacgaccccc cggcgctgct cgtgcacggc 5940
 tgggtaccac tggagccagg actgcgagtg ctgcccgcgc aacaccgagt gcgcgccggg 6000
 cctgggcgcc cagcaccctg tgcagctcaa caaggacaca gtgtgcaaac cttgccttgc 6060
 aggtactctc tctgatgcct ttctctccac ggacaaatgc agaccctgga ccaactgtac 6120
 ctctcttggg aagagagtag aacatcatgg gacagagaaa tccgatgtgg tttgcagttc 6180
 ttctctgcca gctagaaaa caccaaatga accccatggt tacgtcgaca aaactcacac 6240
 atgtcacact tgtccagctc cggaaactct ggggggaccc tcagtcttcc tcttcccccc 6300
 aaaaaccacg gacacccctc tgaatctccg gacccctgag gtcacatgct tgggtgttga 6360
 tgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactgttac gtggacggcg tggaggtgca 6420

```

taatgccaaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc acgtaccgtg tggtcagcgt 6480
'cctcaccgtc ctgcaccagg actgggtgaa tggcaaggag tacaagtga aggtctccaa 6540
caaagccctc ccagccccc tggagaaaac catctccaaa gccaaagggc agccccgaga 6600
accacaggtg tacaccctgc ccccatcccg ggatgagctg accaagaacc aggtcagcct 6660
gacctgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc gtggagtggtg agagcaatgg 6720
gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg gactccgacg gctccttctt 6730
cctctacagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag caggggaacg tcttctcatg 6840
ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag aagagcctct cctgtctctc 6900
gggtaaataa tggatccgcg gaaagaagaa gaagaagaag aaagcccgaa aggaagctga 6960
gttgggtgct gccaccgctg agcaataact agcataaccc cttggggcct ctaaaccgggt 7020
cttgaggggt tttttgctga aaggaggaac cgctcttcac gctcttcacg cggataaata 7080
agtaacgatc cgggtccagta atgacctcag aactccatct ggatttgctc agaacgctcg 7140
gttgccgcgc ggcgtttttt attggtgaga atgcagcaa cttgtcgcgc caatcgagcc 7200
atgtcgtcgt caacgacccc ccattcaaga acagcaagca gcattgagaa ctttgggaatc 7260
cagtcctctt tccacctgct gaccg 7285

```

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

<220>
 <223> Вектор pAMG – RANK - Fc

<220>
 <221> misc_признак
 <223> Хаа (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 Cys Gly Gly Ala Ala
 50 55 60

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

Thr Thr Thr Cys 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 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 Cys Gly
 145 150 155 160
 Thr Thr Gly Ala Thr Thr Thr Gly Thr Gly Cys Gly Cys 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 Thr Gly Ala Gly Thr Ala
 245 250 255
 Thr Thr Gly Ala Gly Gly Ala Gly Gly Cys Gly Ala Gly Ala Thr Gly
 260 265 270
 Thr Cys Gly Cys Ala Gly Ala Cys Ala Gly 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 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 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 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 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 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 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 Thr Ala Cys Ala Gly Gly Ala Gly
 625 630 635 640
 Cys Cys Ala Gly Ala 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 Thr Cys
 660 665 670
 Ala Ala Cys Thr 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 Gly Cys
 690 695 700
 Cys Cys Ala Cys Thr Thr Ala 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 Gly Ala Gly Thr Ala Thr Ala Gly Thr Thr
 740 745 750
 Ala Thr Ala Thr Gly Cys Cys Cys Gly Gly Ala Ala Ala Gly Thr
 755 760 765
 Thr Cys Ala Ala Gly Ala Cys Thr Thr Cys Thr 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 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 Thr Ala Cys
 865 870 875 880
~~Ala Cys Cys Cys Cys Gly Thr Gly Ala Ala Gly Gly Thr Gly Cys 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 Ala Cys Thr Gly Ala Thr Gly Gly Ala
 915 920 925

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

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

Gly Cys Ala Cys Gly Cys 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 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 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 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 Thr Gly Thr Thr Cys Gly Thr Gly
 1415 1420 1425
 Ala Gly Cys Gly Thr 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 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 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 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 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 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 Thr Gly Thr 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 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 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 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 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 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 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 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 Gly Cys Thr Gly 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 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 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 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 Gly Cys Cys Ala Thr 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 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 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 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 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 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 Thr Cys Thr Cys Thr Thr Thr Gly Cys
 3815 3820 3825
 Gly Cys Thr Thr Gly Cys Gly Thr 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 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 Cys Thr Gly Ala Gly Thr Gly
 3935 3940 3945
 Cys Thr Thr Gly Cys Gly Cys 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 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 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 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 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 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 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 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 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 Thr Ala Thr Cys Thr
 4445 4450 4455
 Gly Thr Thr Gly Thr 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 Thr Gly Cys Gly Thr Thr Thr Cys
 4610 4615 4620
 Thr Ala Cys Ala Ala Ala Cys Thr Cys Thr Thr Thr Thr Gly Thr
 4625 4630 4635
 Thr Thr Ala Thr 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 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 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 Thr Gly
 4805 4810 4815
 Ala Ala Ala Thr Ala Thr Cys Cys Cys Ala Ala Gly Ala Gly Cys
 4820 4825 4830
 Thr 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 Thr Cys Thr Cys Thr Thr Thr Thr Gly Gly
 4865 4870 4875
 Thr Thr Ala Ala Ala Thr Cys Gly Thr Thr Gly Thr 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 Thr Ala Thr 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 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 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 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 Thr Ala Ala Thr 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 Thr Cys Ala Thr Ala Cys Cys Cys Ala
 5420 5425 5430
 Thr Cys Thr Cys Thr 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 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 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 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 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 Thr Gly Ala Thr Thr Cys Thr Ala
 5630 5635 5640
 Gly Ala Thr Thr Thr Gly Thr 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 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 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 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 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 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 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 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 C 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 6525
 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 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 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 Gly Cys
 6995 7000 7005
~~Cys Thr Cys Thr Ala Ala Ala Cys Gly Gly Gly Thr Cys Thr Thr~~
~~7010 7015 7020~~

Gly Ala Gly Gly Gly Gly Thr 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 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 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> Полиглицидиновые линкеры

<400> 40
 gggkgggg

=

<210> 41

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

<220>
 <223> Полиглициновые линкеры

<220>
 <221> misc_признак
 <222> (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
 gggsgggg

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>
 <221> misc_признак
 <222> (19) .. (19)
 <223> Хаа = 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-HaX

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

<220>
 <223> Пептидная связь

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

Fc домен присоединён в положение 38 к C- концу

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

Fc домен присоединён в положение 1 к N-концу

<220> misc_признак
 <221>
 <222> (20) .. (20)
 <223> Хаа = 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> Хаа = 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> Хаа = 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> misc_признак
 <221>
 <222> (36) .. (36)
 <223> Хаа = пептидная связь

Fc домен присоединён в положение 36 к C- концу

<220> misc_признак
 <221>
 <222> (18) .. (18)
 <223> Хаа = 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> misc_признак
 <221>
 <222> (1) .. (1)
 <223> Хаа = пептидная связь

Fc домен присоединён в положение 1 к N- концу

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

<220>
 <221> misc_признак
 <222> {38}..{38}
 <223> Хаа = пептидная связь

Fc домен присоединён в положение 38 к С- 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> Хаа = пептидная связь

Fc домен присоединён в положение 1 к N- концу

<220>
 <221> misc_признак
 <222> {20}..{20}
 <223> Хаа = 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 ttcgtc 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> Предпочтительная 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> Предпочтительные 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
 tatgcccgggt acctgttttcc cgttcccggtg ggaatgcact cacgctgggtg gaggcgggtgg 60
 gg 62

<210> 72
 <211> 64
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Олигонуклеотиды
 <400> 72
 tcgacccac cgcctcctgg agcgtgagtg cattcccacg ggaagccga acaagtaccc 60
 ggca 64

<210> 73
 <211> 62
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Олигонуклеотиды
 <400> 73
 tatgtggggg gcttgttggc cgttcccgtg ggaatgtttc aaagaagggt gaggcggtgg 60
 gg 62

<210> 74
 <211> 64
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Олигонуклеотиды
 <400> 74
 tcgacccac cgcctccacc ttctttgaaa cattcccacg ggaacggcca acaagcacc 60
 caca 64

<210> 75
 <211> 62
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Олигонуклеотиды
 <400> 75
 tatgggtccg ttctgtgacc tgctgactaa acactgtttc gaagctgggt gaggcggtgg 60
 gg 62

<210> 76
 <211> 64
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Олигонуклеотиды
 <400> 76
 tcgacccac cgcctccacc agcttcgaaa cagtgtttag tcagcaggtc acagaacgga 60
 асса 64

<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
 tcgacccac cgcctccacc gtggtggaaa cactgtttag tcagaacgtc ccatgtgtat 60
 ttacaacgag aaccca 76
 <210> 79
 <211> 74
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Олигонуклеотиды
 <400> 79
 tatgctgccg ggttgtaaat gggacctgct gatcaaacag tgggtttgtg acccgctggg 60
 tggaggcggt gggg 74
 <210> 80
 <211> 76
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Олигонуклеотиды
 <400> 80
 tcgacccac cgcctccacc cagcgggtca caaacccact gtttgatcag caggccccat 60
 ttacaacccg gcagca 76
 <210> 81
 <211> 74
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Олигонуклеотиды
 <400> 81
 tatgtctgct gactgttact tcgacatcct gactaaatct gacgtttgta cttcttctgg 60
 tggaggcggt gggg 74
 <210> 82

<211> 76
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <223> Олигонуклеотиды

 <400> 82
 tcgacccccac cgcctccacc agaagaagta caaacgtcag atttagtcag gatgtcgaag 60
 таасагтсaг сагаса 76

 <210> 83
 <211> 74
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <223> Олигонуклеотиды

 <400> 83
 tatgtctgac gactgtatgt acgaccagct gactcgtatg ttcattctgtt ctaacctggg 60
 тggaggcggt gggg 74

 <210> 84
 <211> 76
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <223> Олигонуклеотиды

 <400> 84
 tcgacccccac cgcctccacc cagggttagaa cagatgaaca tacgagtcag ctggtcgtac 60
 атасагтсaг сагаса 76

 <210> 85
 <211> 74
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <223> Олигонуклеотиды

 <400> 85
 catggacctg aactgtaaat acgacgaact gacttacaaa gaatggtgtc agttcaacgg 60
 тggaggcggt gggg 74

 <210> 86
 <211> 76
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <223> Олигонуклеотиды

 <400> 86
 tcgacccccac cgcctccacc gttgaactga caccattctt tctaagtcag ttcgtcgtat 60
 ttacagttca ggtcca 76

```

<210> 87
<211> 74
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Олигонуклеотиды

<400> 87
tatgttccac gactgtaaat acgacctgct gactcgtcag atggtttgtc acggtctggg 60
tggaggcggg gggg 74

<210> 88
<211> 76
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Олигонуклеотиды

<400> 88
tcgacccac ccctccacc cagaccgtga caaacctctt gacgagtcag caggtcgtat 60
ttacagtcgt ggaaca 76

<210> 89
<211> 74
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Олигонуклеотиды

<400> 89
tatgctaac cactgtttct gggaccacct gctgaaacag gacatctgtc cgtctccggg 60
tggaggcggg gggg 74

<210> 90
<211> 76
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Олигонуклеотиды

<400> 90
tcgacccac ccctccacc cggagacgga cagatgtctt gtttcagcag gtggtccag 60
aaacagtggt tacgca 76

<210> 91
<211> 74
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Олигонуклеотиды

<400> 91
tatggctaac cagtgttggg gggactctct gctgaaaaaa aacgtttgtg aattcttcgg 60

```

tggaggcggt gggg 74

<210> 92
 <211> 76
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Олигонуклеотиды

<400> 92
 tcgacccccac cgcctccacc gaagaattca caaacgtttt ttttcagcag agagtccccc 60
 caacactggt tagcca 76

<210> 93
 <211> 74
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Олигонуклеотиды

<400> 93
 tatgttccac gactgcaaat gggacctgct gaccaaacag tgggtttgcc acggtctggg 60
 tggaggcggt gggg 74

<210> 94
 <211> 76
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Олигонуклеотиды

<400> 94
 tcgacccccac cgcctccacc cagaccgtgg caaacccact gtttggtcag 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 ccccttgcaa aaaataaatt catataaaaa 60
 acatacagat aaccatctgc ggtgataaat tatctctggc ggtgttgaca taaataccac 120
 tggcgggtgat actgagcaca t 141

<210> 96
 <211> 55
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Вектор pAMG21-RANK-Fc

<400> 96
 cgatttgatt ctagaaggag gaataacata tggttaacgc gttggaattc ggtac 55

<210> 97
 <211> 1546
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> pAMG21

<400> 97
 gcgtaacgta tgcattggtct ccccatgcga gagtagggaa ctgccaggca tcaataaaaa 60
 cgaagggctc agtcgaaaga ctggggccttt cgttttatct gttgtttgtc ggtgaacgct 120
 ctcttgagta ggacaaatcc gccgggagcg gatttgaacg ttgcgaagca acggcccgga 180
 ggggtggcggg caggacgccc gccataaact gccaggcatc aaattaagca gaaggccatc 240
 ctgacgggatg gcctttttgc gtttctacaa actcttttgt ttatttttct aaatacattc 300
 aaatatggac gtcgtactta acttttaaag tatgggcaat caattgctcc tgttaaatt 360
 gcttttagaaa tactttggca gcgggttggt gtattgagtt tcatttgccg attggttaa 420
 tggaaagtga ccgtgcgctt actacagcct aatatttttg aaatatccca agagcttttt 480
 ccttcgcatg cccacgctaa acattctttt tctcttttgg ttaaactcgtt gtttgattta 540
 ttatttgcta tattttattt tcgataatta tcaactagag aaggaacaat taatgggatg 600
 ttcatacacg catgtaaaaa taaactatct atatagttgt ctttctctga atgtgcaaaa 660
 ctaagcattc cgaagccatt attagcagta tgaataggga aactaaacco agtgataaga 720
 cctgatgatt tcgcttcttt aattacattt ggagattttt tatttacagc attgttttca 780
 aatatattcc aattaatcgg tgaatgattg gagttagaat aatctactat aggatcatat 840
 tttattaaat tagcgtcctc ataattttgc ctccattttt tagggtaatt atccagaatt 900
 gaaatatcag atttaaccat agaattgagga taaatgatcg cgagtaaata atattcacia 960
 tgtaccattt tagtcatatc agataagcat tgattaatat cattattgct tccacaggct 1020
 ttaattttat taattattct gtaagtgtcg tcggcattta tgtctttcat acccatctct 1080
 ttatccttac ctattgtttg tcgcaagttt tgcgtgttat atatcattaa aacggtaata 1140
 gattgacatt tgatttetaat aaattggatt tttgtcacac tatttatatc cttgaaatac 1200
 aattgtttta cataagtacc tgtaggatcg tacaggttta cgcaagaaaa tggtttggtta 1260
 tagtcgatta atcgatttga ttctagattt gttttaacta attaaaggag gaataacata 1320
 tggttaacgc gttggaattc gagctcacta gtgtcgacct gcagggtacc atggaagctt 1380
 actcgaggat ccgcggaagc aagaagaaga agaagaagc ccgaaggga gctgagttgg 1440
 ctgctgccac cgtcgagcaa taactagcat aaccccttgg ggctctctaa cgggtcttga 1500
 ggggtttttt cctgaaagga ggaaccgctc ttcaagctct tcacgc 1546

<210> 98

<211> 872
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> GM221

<400> 98
 ttatttttcgt gcggccgcac cattatcacc gccagaggta aactagtcaa cagcacggt 60
 gttagatatt tatcccttgc ggtgatagat tgagcacatc gatttgatc tagaaggagg 120
 gataatatat gagcacaaaa aagaaacat taacacaaga gcagcttgag gacgcacgtc 180
 gccttaaagc aatttatgaa aaaaagaaaa atgaacttgg cttatcccag gaatctgtcg 240
 cagacaagat ggggatgggg cagtcaggcg ttggtgcttt atttaatggc atcaatgcat 300
 taaatgctta taacgccgca ttgcttaca aaattctcaa agttagcgtt gaagaattta 360
 gcccttcaat gccagagaa tctacgagat gtatgaagcg gttagtatgc agccgtcact 420
 tagaagtgag tatgagtacc ctgttttttc tcatgttcag gcagggatgt tctcacctaa 480
 gcttagaacc ttaccaaag gtgatgcgga gagatgggta agcacaacca aaaaagccag 540
 tgattctgca ttctggcttg aggttgaagg taattccatg accgcacca caggctccaa 600
 gccaaagcttt cctgacggaa tgtaattct cgttgacct gagcaggctg ttgagccagg 660
 tgatttctgc atagccagac ttgggggtga tgagtttacc ttcaagaaac tgatcaggga 720
 tagcggtcag gtgtttttac aaccactaaa cccacagtac ccaatgatcc catgcaatga 780
 gagttgttcc gttgtgggga aagttatcgc tagtcagtgg cctgaagaga cgtttggctg 840
 atagactagt ggatecacta gtgtttctgc cc 872

<210> 99
 <211> 1197
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> GM221

<400> 99
 ggcggaaaacc gacgtccatc gaatgggtgca aaacctttcg cggtatggca tgatagcgcc 60
 cggaagagag tcaattcagg gtggtgaatg tgaaaccagt aacgttatac gatgtcgcag 120
 agtatgccgg tgtctcttat cagaccgttt ccgcgctggg gaaccaggcc agccacgttt 180
 ctgcgaaaac gcgggaaaaa gtcgaagcgg cgatggcgga gctgaattac attccaacc 240
 gcgtggcaca acaactggcg ggcaaacagt cgctcctgat tggcgttgcc acctccagtc 300
 tggccctgca cgcgccgtcg caaattgtcg cggcgattaa atctcgcgcc gatcaactgg 360
 gtgccagcgt ggtggtgtcg atggtagaac gaagcggcgt cgaagcctgt aaagcggcgg 420
 tgcacaatct tctcgcgaa cgcgtcagt ggctgatcat taactatccg ctggatgacc 480
 aggatgccat tgctgtggaa gctgcctgca ctaatgetcc ggcgetatct gttgatgtct 540
 ctgaccagac acccatcaac agtattattt tctcccatga agacggtagc cgactgggcg 600

```

tggagcatct ggtcgcatct ggtcaccagc aaatcgcgct gttagcgggc ccattaagtt      660
ctgtctcggc gcgtctgcgt ctggctggct ggcataaata tctcactcgc aatcaaattc      720
agccgatagc ggaacgggaa ggcgactgga gtgccatgtc cggttttcaa caaaccatgc      780
aaatgctgaa tgagggcata gttccactg cgatgctggt tgccaacgat cagatggcgc      840
tgggcgcaat gcgcgccatt accgagtcgc ggctgcgcgt tggcgggat atctcggtag      900
tgggatacga cgataccgaa gacagctcat gttatatccc gccgttaacc accatcaaac      960
aggattttcg cctgctgggg caaaccagcg tggacgcgtt gctgcaactc tctcagggcc     1020
aggcggtgaa gggcaatcag ctgttgcccg tctcactggt gaaaagaaaa accaccctgg     1080
cgcccaatac gcaaacgcc tctccccgcg cgttggcgga ttcattaatg cagctggcac     1140
gacagggttc ccgactggaa agcggacagt aaggtagcat 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> Хаа (положения 1,2,3,13,14), каждый независимо, отсутствуют или представляют собой аминокислотные остатки;

<220>
 <221> misc_признак
 <222> (6)..(6)
 <223> Хаа (положение 6) обозначает аминокислотный остаток;

<220>
 <221> misc_признак
 <222> (8)..(8) или
 <223> Хаа (положение 8) обозначает треонил изолейцил;

<220>
 <221> misc_признак
 <222> (9)..(9)
 <223> Хаа (положение 9) обозначает основной или гидрофобный остаток;

<220>
 <221> misc_признак
 <222> (10)..(10)
 <223> Хаа (положение 10) обозначает аминокислотный остаток;

<220>
 <221> misc_признак
 <222> (12)..(12)
 <223> Хаа (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> Хаа (положения1,2,3,12,13), каждый независимо, отсутствуют или представляют собой аминокислотные остатки;

<220>
 <221> misc_признак
 <222> (5 и)..(8)
 <223> Хаа (положения5,8) обозначает нейтральный гидрофобный остаток;

<220>
 <221> misc_признак
 <222> (10)..(10)
 <223> Хаа (положение10) обозначает кислый остаток;

<220>
 <221> misc_признак
 <222> (14)..(14)
 <223> Хаа (положение14) отсутствует или обозначает аминокислотный остаток.

<400> 101

Хаа Хаа Хаа Cys Хаа Pro Phe Хаа Trp Хаа Cys Хаа Хаа Хаа
 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> Хаа (положения 1,2,3,12,13,14), каждый независимо, отсутствуют или представляют собой аминокислотные остатки;

<220>
 <221> misc_признак
 <222> (6 и)..(7)
 <223> Хаа (положения 6,7) обозначает гидрофобный остаток;

<220>
 <221> misc_признак
 <222> (10)..(10)
 <223> Хаа (положение 10) обозначает кислый или полярный гидрофобный остаток.

<400> 102

Хаа Хаа Хаа Cys Trp Хаа Хаа Trp Gly Хаа Cys Хаа Хаа Хаа
 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> Хаа (положение 1) отсутствует или представляет собой аминокислотный остаток;

<220>
 <221> misc_признак
 <222> (2 и)..(14)
 <223> Хаа (положения 2,14) обозначает нейтральный гидрофобный остаток;

<220>
 <221> misc_признак
 <222> (3 и)..(10)
 <223> Хаа (положения 3,10) обозначает аминокислотный остаток;

<220>
 <221> misc_признак
 <222> (5, 6, 7, 8, 12 и)..(13)
 <223> Хаа (положения 5,6,7,8,12,13), каждый независимо, обозначают аминокислотные остатки;

<220>
 <221> misc_признак
 <222> (9)..(9)
 <223> Хаа (положение 9) обозначает кислый остаток.

<400> 103

Хаа Хаа Хаа Cys Хаа Хаа Хаа Хаа Хаа Cys Хаа Хаа Хаа
 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> Хаа (положения 1,2,12,13,16,17,18),каждый независимо, отсутствуют или представляют собой аминокислотные остатки;

<220>
 <221> misc_признак
 <222> (3)..(3)
 <223> Хаа (положение 3) обозначает кислый или амидный остаток;

<220>
 <221> misc_признак
 <222> (5 и)..(8)
 <223> Хаа (положения 5,8) обозначает аминокислотный остаток;

<220>
 <221> misc_признак
 <222> (6)..(6)

<223> Хаа (положение 6) обозначает ароматический остаток;

<220>

<221> misc_признак

<222> (10)..(10)

<223> Хаа (положение 10) обозначает Т или I;

<220>

<221> misc_признак

<222> (11)..(11)

<223> Хаа (положение 11) обозначает основной остаток;

<220>

<221> misc_признак

<222> (14)..(14)

<223> Хаа (положение 14) обозначает нейтральный гидрофобный остаток.

<400> 104

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Хаа | Хаа | Хаа | Cys | Хаа | Хаа | Asp | Хаа | Leu | Хаа | Хаа | Хаа | Хаа | Хаа | Cys | Хаа |
| 1 | | | | 5 | | | | 10 | | | | | | 15 | |

Хаа Хаа

<210> 105

<211> 18

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Модулятор TALL-1

<220>

<221> misc_признак

<222> (1, 2 и)..(3)

<223> Хаа (положения 1,2,3), каждый независимо, отсутствуют или представляют собой аминокислотный остаток;

<220>

<221> misc_признак

<222> (5, 7, 14 и)..(16)

<223> Хаа (положения 5,7,14,16) обозначает аминокислотный остаток;

<220>

<221> misc_признак

<222> (9)..(9)

<223> Хаа (положение 9) обозначает Т или I;

<220>

<221> misc_признак

<222> (10)..(10)

<223> Хаа (положение 10) обозначает основной остаток;

<220>

<221> misc_признак

<222> (11 и)..(12)

<223> Хаа (положения 11,12), каждый независимо, обозначают аминокислотные остатки;

<220>

<221> misc_признак

<222> (13 и)..(17)

<223> Хаа (положения 13,17) обозначает нейтральный гидрофобный остаток;

<220>

<221> misc_признак

<222> (18)..(18)

<223> Хаа (положение 18) обозначает аминокислотный остаток или отсутствует.

<400> 105

Хаа Хаа Хаа Cys Хаа Asp Хаа Leu Хаа Хаа Хаа Хаа Хаа Cys Хаа

1

5

10

15

Хаа Хаа

<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> Хаа (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> Хаа (положения 5,6,7,10,14), каждый независимо, обозначают аминокислотные остатки.

<220>

<221> misc_признак

<222> (12)..(12)

<223> Хаа (положение 12) обозначает Т или I;

<220>

<221> misc_признак

<222> (13)..(13)

<223> Хаа (положение 13) обозначает аминокислотный остаток;

<400> 106

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Хаа | Хаа | Хаа | Cys | Хаа | Хаа | Хаа | Trp | Asp | Хаа | Leu | Хаа | Хаа | Хаа | Cys | Хаа |
| 1 | | | | 5 | | | | | 10 | | | | | 15 | |

Хаа Хаа

<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> Хаа (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> Хаа (положения 5,6,7,9 13), каждый независимо, обозначают аминокислотные остатки;

<220>

<221> misc_признак

<222> (11)..(11)

<223> Хаа (положение 11) обозначает Т или I; и

<400> 107

Хаа Хаа Хаа Cys Хаа Хаа Хаа Asp Хаа Leu Хаа Lys Хаа Cys Хаа Хаа
1 5 10 15

Хаа Хаа

<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 Хаа Leu Хаа

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
 1 5 10

<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> "Пептитела", 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 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> "Пептидаза", 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 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> "Пептигела", 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> "Пептидаза", 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 Phe²
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> "Пептитела", 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 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> "Пептитела", 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 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 Asn 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> Блок | | |
| <213> Искусственная последовательность | | |
| <220> | | |
| <223> "Пептитела", ингибирующие 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 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> "Пептидазы", 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 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> Блок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> "Пептидаза", 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 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> 120
<211> 252
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> "Пептидаза", 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 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
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> "Пептидаза", 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 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> Бeлoк /
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> "Пептитела", 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 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

- 121 -

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 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> "Пептидаза", 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 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

[illegible]

```

<210> 125
<211> 14
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Консенсусная (согласованная) последовательность1

<220> misc_признак !
<221>
<222> {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>
<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;

```

<220> misc_признак
<221> {12} .. {12} ..
<222>
<223> X в (положении 12) обозначает C, или нейтральный гидрофобный остаток, или основной остаток (предпочтительно, W, C или R);

<220> misc_признак
~~<221>~~
<222> {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 |

<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>

<223> 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> 1 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 15

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 gctgcaagtg ggatcttctt attaagcaat gggatatgca tccacttggg    60
tccggttctg ctactggtgg ttccggctcc accgcaagct ctggttcagg cagtgcgact    120
catatgctgc cgggttgtaa atgggacctg ctgatcaaac agtgggtttg tgacctgctg    180
gggtggaggcg gtgggggtcga caaaactcac acatgtccac ctgtccagc tccggaactc    240
ctggggggac cgtcagtctt cctcttcccc ccaaaaccca aggacacct catgatctcc    300
cggacccctg aggtcacatg cgtgggtggtg gacgtgagcc acgaagacct tgaggtcaag    360
ttcaactggt acgtggacgg cgtggaggtg cataatgcca agacaaagcc gcgggaggag    420
cagtacaaca gcacgtaccg tgtggtcagc gtccctaccg tccctgcacca ggactggctg    480
aatggcaagg agtacaagtg caaggtctcc aacaaagccc tccagcccc catcgagaaa    540
accatctcca aagccaaagg gcagccccga gaaccacagg tgtacacct gcccccattc    600
cgggatgagc tgaccaagaa ccaggtcagc ctgacctgcc tggtaaaagg cttctatccc    660
agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat gggcagccgg agaacaacta caagaccacg    720
cctcccgtgc tggactccga cggctccttc ttccctctaca gcaagctcac cgtggacaag    780
agcagggtggc agcaggggaa cgtcttctca tgctccgtga tgcattaggc tctgcacaac    840
cactacacgc agaagagcct ctccctgtct ccgggtaaat 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          5          10          15

```

```

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          5          10          15

```

```

Ser Gly Ser Ala Thr Gly Ser
          20

```

<210> 192
 <211> 46
 <212> Белок
 <213>

<220> Искусственная последовательность
 <223> Предпочтительный линкер

<400> 192

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> (22)..(23)
 <222> 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)
 <222> 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

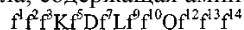
Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile Arg Gly Arg Phe Arg Arg Met Leu
1 5 10 15

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



(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

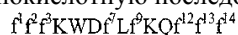
f^{14} обозначает любой аминокислотный остаток или отсутствует; при условии, что только один из f^1 , f^2 или f^3 может обозначать C и только один из f^{12} , f^{13} и f^{14} может обозначать C.

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^{10} обозначает К.
 6. Молекула по п.1, отличающаяся тем, что f^{12} обозначает С, а один из f^1 , f^2 и f^3 обозначает С.
 7. Молекула по п.1, отличающаяся тем, что f^{13} обозначает V.
 8. Молекула по п.1, содержащая аминокислотную последовательность формулы

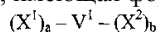


(SEQ ID NO: 125)

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 LPGCKWDLIKQWVCDPL (SEQ ID NO: 33).

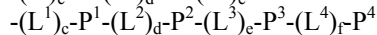
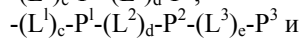
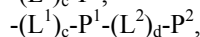
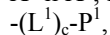
11. Молекула, связывающаяся с TALL-1, имеющая формулу



и его мультимеры,

где V^1 обозначает носитель;

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

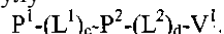


один или более из P^1 , P^2 , P^3 и P^4 , каждый независимо, представляют собой SEQ ID NO: 109;

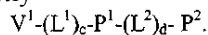
L^1 , L^2 , L^3 и L^4 , каждый независимо, обозначают линкеры и

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



13. Молекула по п.11, имеющая формулу



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 IgG1 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^{10} обозначает К и f^{13} 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 GSGSATGGSGSTASSGSGSAT x^1x^2 (SEQ ID NO: 193) и GSGSATGGSGSTASSGSGSAT x^1x^2 GSGSATGGSGSTASSGSGSAT x^3x^4 (SEQ ID NO: 194), где x^1 и x^3 , каждый независимо, обозначают основные или гидрофобные остатки, а x^2 и x^4 , 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 GSGSATGGSGSTASSGSGSATHMGSGSATGGSGSTASSGSGSATHM (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

MFHDCCKWDL TKQWVCHGLG GGGGVDKTHT CPPCPAPELL GGPSVFLFPP
 KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ
 YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKEYCKVSN KALPAPIEKT ISKAKQPRE
 PQVYTLPPSR DELTQNQVSL TCLVKGFPYS DIAVEWESNG QPENNYKTPP
 FVLDSGGSFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC FVMHEALHNH YTKRSLSLSP GK

(SEQ ID NO: 122).

27. Связывающаяся с TALL-1 молекула, имеющая аминокислотную последовательность

MLPGCKWDL IRQWVCDPLG SGSATGSGS TASSGSGSAT HMLPGCKWDL
 LIQWVCDPL GGGGGVDKTH TCFFCPAPEL LGGPSVFLFP PKPKDTLMIS
 RTPEVTCVVV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPRE QYNSTYRVVS
 VLTVLHQDWL NGKEYCKVS NKALPAPIEK TISKAKGQPR EPQVYTLPPS
 RDELTKNQVS LTCLVKGFP SDAVEWESN GQFENNYKTT PFVLDSDGSF
 FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMHEALHN HYTKLSLSL PCK

(SEQ ID NO: 123).

28. Связывающаяся с TALL-1 молекула, имеющая аминокислотную последовательность

MFHDCWDL TKQWVCHGLG SGSATGSGS TASSGSGSAT MFHDCWDL
 LTKQWVCHGL GGGGGVDKTH TCFFCPAPEL LGGPSVFLFP PKPKDTLMIS
 RTPEVTCVVV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPRE QYNSTYRVVS
 VLTVLHQDWL NGKEYCKVS NKALPAPIEK TISKAKGQPR EPQVYTLPPS
 RDELTKNQVS LTCLVKGFP SDAVEWESN GQFENNYKTT PFVLDSDGSF
 FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMHEALHN HYTKLSLSL PCK

(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.

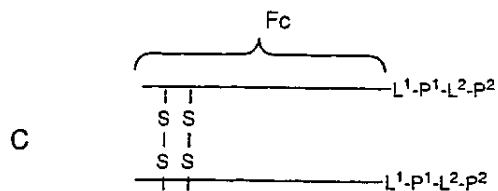
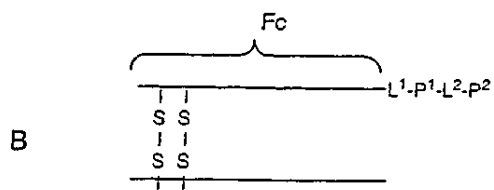
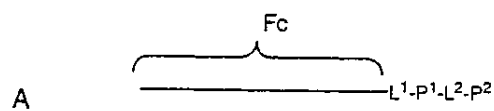
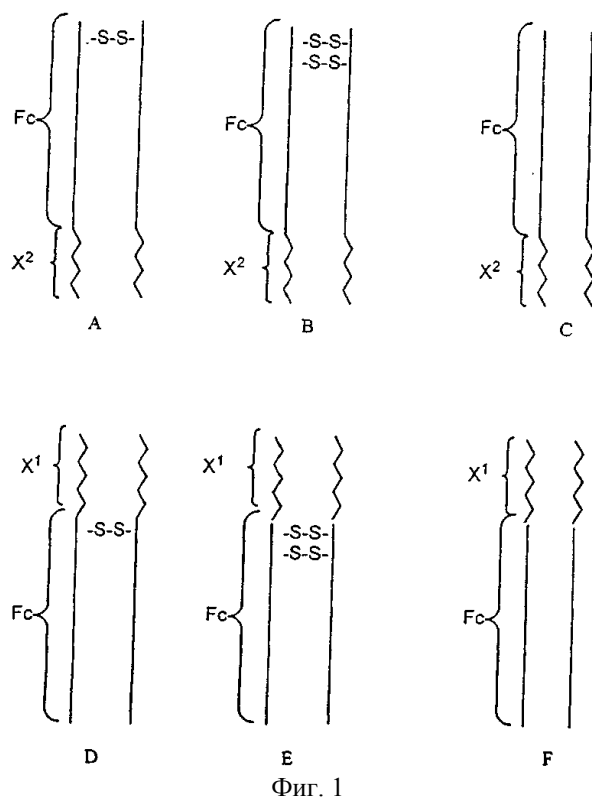
36. Применение молекулы по одному из пп.26-28 для приготовления фармацевтической композиции для лечения волчанки.

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

- 148 -

1) AGP3-8-1-a

NdeI

|

TATGCCGGGTACTTGTTCCTCCGTTCCCGTGGGAATGCACTCAGCTGGTGGAGGCGGT

1 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 60

GGCCCATGAACAAAGGGCAAGGGCACCCCTACGTGAGTGGACACCTCCGCCA

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

|

TATGTGGGGTGCTTGTGGCCGTTCCCGTGGGAATGTTCAAAGAAGGTGGAGGCGGT

1 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 60

ACACCCACGAACAACCGGCAAGGGCACCCCTACAAAGTTCTTCCACCTCCGCCA

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
      |
      TATGGGTTCTCGTTGTAAATACAAATGGGACGTTCTGACTAAACAGTGGTTCCACCAC
1  -----+-----+-----+-----+-----+ 60
      ACCCAAGAGCAACATTTATGTTTACCCTGCAAGACTGATTTGTCACAAAGGTGGTG

a      M G S R C K Y K W D V L T K Q C F H H -

```

```

      SalI
      |
      GGTGGAGGCGGTGGGG
61 -----+-----+ 81
      CCACCTCCGCCACCCAGCT

```

```

a      G G G G G V D -

```

Фиг. 4В

5) AGP3-12-3-a

NdeI

|

TATGCTGCCGGGTTGTAAATGGGACCTGCTGATCAAACAGTGGGTTTGTGACCCGCTG

1 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 60

ACGACGGCCCAACATTACCCCTGGACGACTAGTTTGTCAACCAAACTGGGCGAC

a M L P G C K W D L L I K Q W V C D P L -

SalI

|

GGTGGAGGCGGTGGGG

61 -----+-----+-----+-----+-----+ 81

CCACCTCCGCCACCCAGCT

a G G G G G V D -

6) AGP3-12-5-a

NdeI

|

TATGTCTGCTGACTGTTACTTCGACATCCTGACTAAATCTGACGTTTGTACTTCTTCT

1 -----+-----+-----+-----+-----+ 60

ACAGACGACTGACAATGAAGCTGTAGGACTGATTTAGACTGCAACATGAAGAAGA

a M S A D C Y F D I L T K S D V C T S S -

SalI

|

GGTGGAGGCGGTGGGG

61 -----+-----+-----+-----+-----+ 81

CCACCTCCGCCACCCAGCT

a G G G G G V D -

Фиг. 4С

7) AGP3-12-8-a

NdeI

|

TATGTCTGACGACTGTATGTACGACCAGCTGACTCGTATGTTTCATCTGTTCTAACCTG

1 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 60

ACAGACTGCTGACATACATGCTGGTCGACTGAGCATACAAGTAGACAAGATTGGAC

a M S D D C M Y D Q L T R M F I C S N L -

Sali

|

GGTGGAGGCGGTGGGG

61 -----+-----+-----+-----+-----+ 81

CCACCTCCGCCACCCAGCT

a G G G G G V D -

8) AGP3-12-9-a

NdeI

|

TATGGACCTGAACTGTAAATACGACGAACTGACTTACAAAGAATGGTGTCAAGTTCAAC

1 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 60

ACCTGGACTTGACATTTATGCTGCTTGACTGAATGTTTCTTACCACAGTCAAGTTG

a M D L N C K Y D E L T Y K E W C Q F N -

Sali

|

GGTGGAGGCGGTGGGG

61 -----+-----+-----+-----+-----+ 81

CCACCTCCGCCACCCAGCT

a G G G G G V D -

Фиг. 4D

9) AGP3-12-10-a

NdeI
 |
 TATGTTCCACGACTGTAAATACGACCTGCTGACTCGTCAGATGGTTTGTACACGGTCTG
 1 -----+-----+-----+-----+-----+ 60
 ACAAGGTGCTGACATTTATGCTGGACGACTGAGCAGTCTACCAAACAGTGCCAGAC

 a M F H D C K Y D L L T R Q M V C H G L -

 SalI
 |
 GGTGGAGGCGGTGGGG
 61 -----+-----+-----+-----+ 81
 CCACCTCCGCCACCCAGCT -

 a G G G G G V D -

10) AGP3-12-11-a

NdeI
 |
 TATGCGTAACCACTGTTTCTGGGACCACCTGCTGAAACAGGACATCTGTCCGTCTCCG
 1 -----+-----+-----+-----+-----+ 60
 ACGCATTGGTGACAAAGACCCTGGTGGACGACTTTGTCTGTAGACAGGCAGAGGC

 a M R N H C F W D H L L K Q D I C P S P -

 SalI
 |
 GGTGGAGGCGGTGGGG
 61 -----+-----+-----+-----+ 81
 CCACCTCCGCCACCCAGCT

 a G G G G G V D -

Фиг. 4E

11) AGP3-12-14-a

NdeI
 |
 TATGGCTAACCACTGTTGGTGGGACTCTCTGCTGAAAAAACGTTTGTGAATTCTTC
 1 -----+-----+-----+-----+-----+ 60
 ACCGATTGGTCACAACCACCTGAGAGACGACTTTTTTTGCAAACACTTAAGAAG

 a M A N Q C W W D S L L K K N V C E F F -

 SalI
 |
 GGTGGAGGCGGTGGGG
 61 -----+-----+-----+-----+ 81
 CCACCTCCGCCACCCAGCT

 a G G G G G V D -

12) AGP3 Consensus

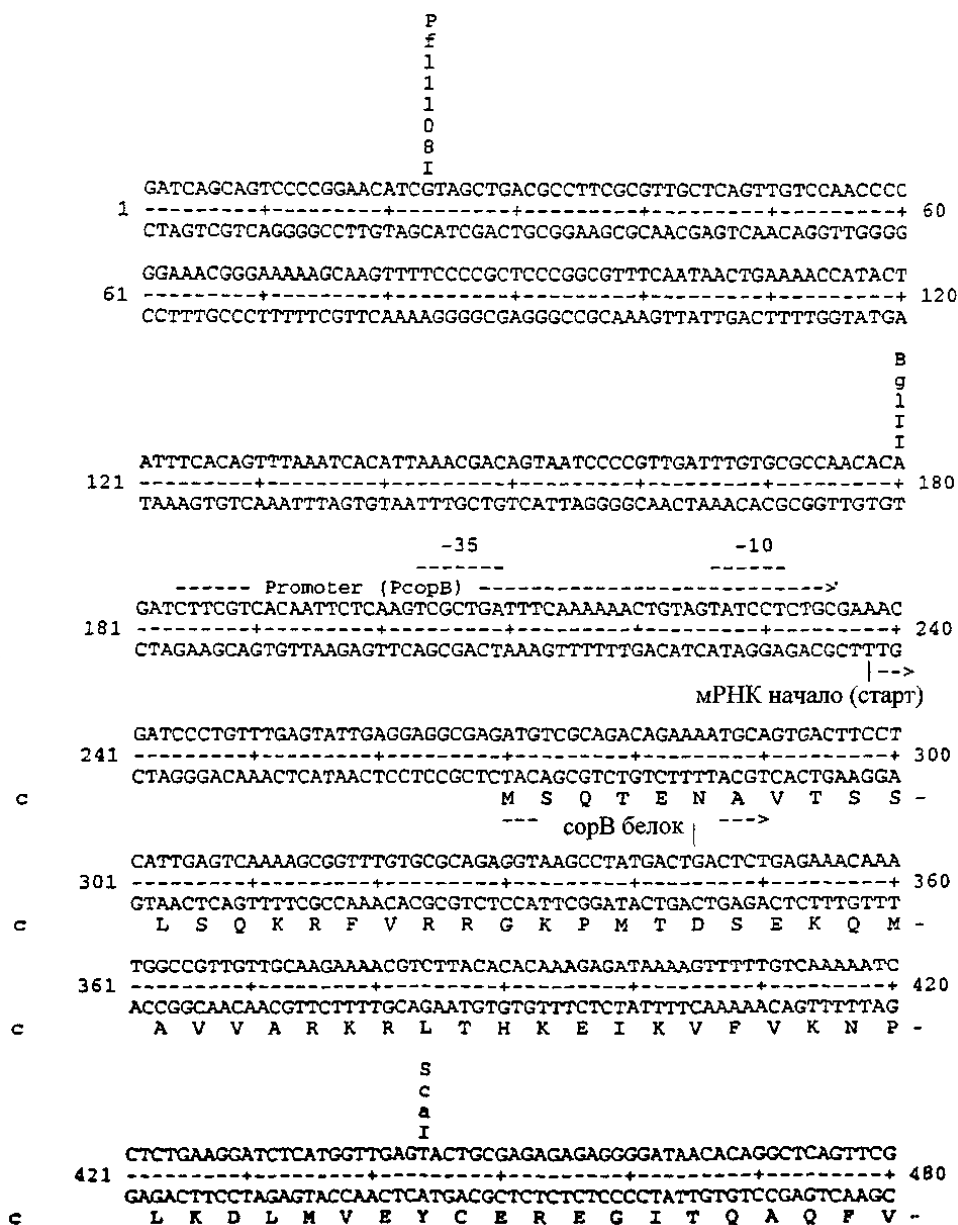
NdeI
 |
 TATGTTCCACGACTGCAAATGGGACCTGCTGACCAAACAGTGGGTTTGCCACGGTCTG
 1 -----+-----+-----+-----+-----+ 60
 gtATACAAGGTGCTGACGTTTACCCTGGACGACTGGTTGTCACCCAAACGGTGCCAGAC

 a M F H D C K W D L L T K Q W V C H G L -

 SalI
 |
 GGTGGAGGCGGTGGGG
 61 -----+-----+-----+-----+ 81
 CCACCTCCGCCACCCAGCT

 a G G G G G V D -

Фиг. 4F



Фиг. 5А

```

                                     -35
                                     -----
                        ---- Промотор (PrepA) ----->
                                     |-- сайт связывания copB |
481 TTGAGAAAATCATCAAAGATGAACTGCAAAGACTGGATATACTAAAGTAAAGACTTTACT
-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+
A ACTCTTTTAGTAGTTTCTACTTGACGTTTCTGACCTATATGATTTCAATTTCTGAAATGA 540
c   E K I I K D E L Q R L D I L K *

                                     -10
                                     -----
541 TTGTGGCGTAGCATGCTAGATTACTGATCGTTTAAGGAATTTTGTGGCTGGCCACGCCGT
-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+
AACACCGCATCGTACGATCTAATGACTAGCAAATTCCTTAAACACCGACCGGTGCGGCA 600
                                     |-- mRNA -->

                                     D
                                     B r
                                     m d
                                     n I
                                     I I
                                     |<-----
601 AAGGTGGCAAGGAAGTGGTTCTGATGTGGATTTACAGGAGCCAGAAAAGCAAAACCCCG
-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+
T TCCACCGTTCCTTGACCAAGACTACACCTAAATGTCTCGGTCTTTTCGTTTTTGGGGC 660
c   M W I Y R S Q K S K N P D -
                                     --- copT (ORF) --->

<----- copA RNAI -----
661 ATAATCTTCTTCAACTTTTGCAGTACGAAAAGATTACCGGGGCCCACTTAAACCGTATA
-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+
TATTAGAAGAAGTTGAAAACGCTCATGCTTTTCTAATGGCCCCGGGTGAATTTGGCATAT 720
c   N L L Q L L R V R K D Y R G P L K P Y S -

<----- Promoter (RNAI) -----
                                     -10          -35
<-----|----->
721 GCCAACAAATTCAGCTATGCGGGGAGTATAGTTATATGCCCGGAAAAGTTCAAGACTTCTT
-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+
CGGTTGTTAAGTCGATACGCCCTCATATCAATATACGGGCCTTTTCAAGTTCTGAAGAA 780
c   Q Q F S Y A G S I V I C P E K F K T S F -

781 TCTGTGCTCGCTCCTTCTGCGCATTGTAAGTGCAGGATGGTGTGACTGATCTTCACCAA
-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+
AGACACGAGCGAGGAAGACGCGTAACATTACGTCCTACCACACTGACTAGAAGTGGTTT 840
c   C A R S F C A L *                               M T D L H Q T -
                                     --- белок герA --->

                                     D
                                     r
                                     a
                                     I
                                     I
                                     I
CGTATTACCGCCAGGTAAAGAACCCGAATCCGGTGTTTACACCCCGTGAAGGTGCAGGAA
841 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+
GCATAATGGCGGTCCATTTCTTGGCTTAGGCCACAAATGTGGGGCACTTCCACGTCCTT
c   Y Y R Q V K N P N P V P T P R E G A G T -

901 CGCTGAAGTTCTGCGAAAACTGATGCAAAAGGCGGTGGGCTTCACTTCCCGTTTTGATT
-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+
GCGACTTCAAGACGCTTTTGACTACCTTTTCCGCCACCCGAAGTGAAGGGCAAACTAA 960
c   L K P C E K L N E K A V G F T S R F D F -

```

Фиг. 5B

B
S
t
B
I

961 TCGCCATTTCATGTGGCGCACGCCCGTTCGCGTGATCTGCGTCGCCGTATGCCACCACTGC 1020
-----+-----+-----+-----+-----+
AGCGGTAAGTACACCGCGTGCGGGCAAGCGCACTAGACGCAGCGGCATACGGTGGTCACG
c A I H V A H A R S R D L R R R M P P V L -

1021 TCGCTCGTCGGGCTATTGATGCGCTCTTGCAGGGGCTGTGTTTCCACTATGACCCGCTGG 1080
-----+-----+-----+-----+-----+
ACGCAGCAGCCCGATACTACGCGAGAACGTCCCCGACACAAAGGTGATACTGGGCGACC
c R R R A I D A L L Q G L C F H Y D P L A -

1081 CCAACCGCGTCCAGTGCTCCATCACCACGCTGGCCATTGAGTGCGGACTGGCGACGGAGT 1140
-----+-----+-----+-----+-----+
GGTTGGCGCAGGTCACGAGGTAGTGGTGCGACCGGTAACCTACGCCTGACCGCTGCCTCA
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

1141 CTGCTGCCGGAATACTCTCCATCACCCGTGCCACCCGTGCCCTGACGTTCTCTGCAGAGC 1200
-----+-----+-----+-----+-----+
GACGACGGCCTTTTGAGAGGTAGTGGGCACGGTGGGCACGGGACTGCAAGGACAGTCTCG
c A A G K L S I T R A T R A L T F L S E L -

1201 TGGGACTGATTACCTACCAGACGGAATATGACCCGCTTATCGGGTGCTACATTCGGACCG 1260
-----+-----+-----+-----+-----+
ACCCTGACTAATGGATGGTCTGCCTTATACTGGGCGAATAGCCACGATGTAAGGCTGGC
c G L I T Y Q T E Y D P L I G C Y I P T D -

1261 ATATCACGTTTCACATCTGCACTGTTTGTCTGCCCTCGATGTATCAGAGGAGGCAGTGGCCG 1320
-----+-----+-----+-----+-----+
TATAGTGCAAGTGTAGACGTGACAAACGACGGGAGCTACATAGTCTCCTCCGTCACCGGC
c I T F T S A L F A A L D V S E E A V A A -

1321 CCGCGCGCCGCGAGCCGTGTGGTATGGGAAACAAACAACGCAAAAAGCAGGGGCTGGATA 1380
-----+-----+-----+-----+-----+
GGCGCGCGGGCTCGGCACACCATACCTTTTGTGTTGCGTTCGTCGCCCGACCTAT
c A R R S R V V W E N K Q R K K Q G L D T -

1381 CCCGCGCATGGATGAACTGATAGCGAAAGCCTGGCGTTTTGTTGCTGAGCGTTTTTCGCA 1440
-----+-----+-----+-----+-----+
GGGACCCGTACCTACTTGAATATCGCTTTCGGACCGCAAAACAAGCACTCGCAAAAGCGT
c L G M D E L I A K A W R P V R E R F R S -

A
f
l
I
I
I

1441 GTTATCAGACAGAGCTTAAGTCCCGTGGAATAAAGCGTGCCCGTGCGCGTCTGATGCGG 1500
-----+-----+-----+-----+-----+
CAATAGTCTGTCTCGAATTCAGGGCACCTTATTTGCGACGGGCACGCGCAGCACTACGCC
c Y Q T E L K S R G I K R A R A R R D A D -

Фиг. 5С

```

ACAGGGAACGTCAGGATATTGTCACCCCTGGTGAAACGGCAGCTGACGCGCGAAATCGCGG
1501 -----+-----+-----+-----+-----+ 1560
TGTCCTTGCAGTCCTATAACAGTGGGACCACTTTGCCGTCGACTGCGCGCTTTAGCGCC
c   R E R Q D I V T L V K R Q L T R E I A E -
AAGGGCGCTTCACTGCCAATCGTGAGGCGGTAAAACGCGAAGTTGAGCGTCGTGTGAAGG
1561 -----+-----+-----+-----+-----+ 1620
TTCCCGCGAAGTGACGGTTAGCACTCCGCCATTTTGGCGCTTCAACTCGCAGCACACTTCC
c   G R F T A N R E A V K R E V E R R V K E -
AGCGCATGATTCTGTACGTAACCGTAATTACAGCCGGCTGGCCACAGCTTCCCCCTGAA
1621 -----+-----+-----+-----+-----+ 1680
TCGCGTACTAAGACAGTGCCATTGGCATTAAATGTCGGCCGACCGGTGTCGAAGGGGGACTT
c   R M I L S R N R N Y S R L A T A S . P *
AGTGACCTCCTCTGAATAATCCGGCCTGCGCCGGAGGCTTCCGCACGCTGTAAGCCCGAC
1681 -----+-----+-----+-----+-----+ 1740
TCACTGGAGGAGACTTATTAGGCCGGACGCGCCCTCCGAAGGCGTGACAGCTTCCGGGCTG

                                     P
                                     f
                                     l
                                     M
                                     I
AGCGCACAAAAATCAGCACCACATACAAAAACAACCTCATCATCCAGCTTCTGGTGCA
1741 -----+-----+-----+-----+-----+ 1800
TCGCGTGTTTTGTAGTCGTGTATGTTTGTGGAGTAGTAGTTCGAAGACCACGT
TCCGGCCCCCCTGTTTTCGATACAAAACACGCCCTCACAGACGGGGAATTTTGTCTATCC
1801 -----+-----+-----+-----+-----+ 1860
AGGCCGGGGGGACAAAAGCTATGTTTGTGCGGAGTGCTGCCCCTTAAACGAATAGG
|-----ori-----
ACATTAACTGCAAGGGACTTCCCATAAGGTTACAACCGTTTCATGTCATAAAGCGCCAT
1861 -----+-----+-----+-----+-----+ 1920
TGTAATTTGACGTTCCCTGAAGGGGTATTCCAATGTTGGCAAGTACAGTATTTCCGGGTA
-----ori-----
CCGCCAGCGTTACAGGGTGCAATGTATCTTTTAAACCTGTTTATATCTCCTTTAAACT
1921 -----+-----+-----+-----+-----+ 1980
GGCGGTGCAATGTCCACGTTACATAGAAAATTTGTGGACAAATATAGAGGAAATTTGA
-----|
ACTTAATTACATTCATTTAAAAAGAAAACCTATTCACTGCCTGTCCTTGGACAGACAGAT
1981 -----+-----+-----+-----+-----+ 2040
TGAATTAATGTAAGTAAATTTTCTTTTGGATAAGTGACGGACAGGAACCTGTCTGTCTA
ATGCACCTCCCACCGCAAGCGGCGGGCCCTACCGGAGCCGCTTTAGTTACAACACTCAG
2041 -----+-----+-----+-----+-----+ 2100
TACGTGGAGGGTGGCGTTTCGCCGCCCGGGGATGGCCTCGGCGAAATCAATGTTGTGAGTC
a   M H L P P Q A A G P Y R S R F S Y N T Q -
--- repA4 protein ---> |----->
ACACAACCACCAGAAAAACCCCGGTCCAGCGCAGAACTGAAACCACAAAGCCCTCCCTC
2101 -----+-----+-----+-----+-----+ 2160
TGTGTTGGTGGTCTTTTGGGGCCAGGTCCGCTCTTGACTTTGGTGTTCGGGGAGGGAG
a   T Q P P E K P R S S A E L K P Q S P S L -
ATAACTGAAAAGCGGCCCGCCCGGTCCGAAGGGCCGGAACAGACTCGCTTTTAATTAT
2161 -----+-----+-----+-----+-----+ 2220
TATTGACTTTTCGCCGGGGCGGGCCAGGCTTCCCGGCTTGTCTCAGCGAAAAATTAATA
a   I - T - E - K - R - P - R - P - G - P - K - G - R - N - R - V - A - F - N - Y

```

Фиг. 5D

```

2221 GAATGTTGTAACACTTCATCATCGCTGTCAGTCTTCTCGCTGGAAGTTCTCAGTACACG
-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 2280
CTTACAACATTGATGAAGTAGTAGCGACAGTCAGAAGAGCGACCTTCAAGAGTCATGTGC
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 CTCGTAAGCGGCCCTGACGGCCCCGCTAACGCGGAGATACGCCCGGACTTCGGGTAAACCC
-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 2340
GAGCATTCGCCGGGACTGCCGGGCGATTGCGCCTCTATGCGGGGCTGAAGCCCATTGCGG
L V S G P D G P L T R R Y A P T S G K P -

2341 TCGTCGGGACCACTCCGACCGCGCACAGAAGCTCTCTCATGGCTGAAAGCGGGTATGGTC
-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 2400
AGCAGCCCTGGTGAGGCTGGCGCGTGTCTTCGAGAGAGTACCGACTTTCGCCCATACCAG
S S G P L R P R T E A L S W L K A G M V -

2401 TGGCAGGGCTGGGGATGGGTAAAGTGAAATCTATCAATCAGTACCGGCTTACGCCGGGCT
-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 2460
ACCGTCCCGACCCCTACCCATTCCACTTTAGATAGTTAGTCATGGCCGAATGCGGCCCGA
W Q G W G W V R *

BS
s
t
E
I
I

2451 TCGGCGGTTTTACTCCTGTTTCATATATGAAACAACAGGTCACCGCCTTCCATGCCGCTG
-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 2520
AGCCGCCAAAATGAGGACAAAGTATATACTTTGTGTCCAGTGGCGGAAGGTACGGCGAC

BS
s
p
L
U
l
l
I

2521 ATCGGGCATATCCTGGTAACGATATCTGAATTGTTATACATGTGTATATACGTGGTAATG
-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 2580
TACGCCGTATAGGACCATTGCTATAGACTTAACAATATGTACACATATATGCACCATTAC

ACAAAAATAGGACAAGTTAAAAATTTACAGGCGATGCAATGATTCAAACACGTAATCAAT
2581 TGTTTTTATCCTGTTCAATTTTAAATGTCCGCTACGTTACTAAGTTTGTGCATTAGTTA
-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 2640

ATCGGGGGTGGGCGAAGAACTCCAGCATGAGATCCCCGCGCTGGAGGATCATCCAGCCGG
2641 TAGCCCCCACCCGCTTCTTGAGGTCGTACTCTAGGGGCGCGACCTCCTAGTAGGTCGGCC
-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 2700

CGTCCCGGAAAAACGATTCCGAAGCCCAACCTTTTCATAGAAGGCGCGGTGGAATCGAAAT
2701 GCAGGGCCTTTTGCTAAGGCTTCGGGTTGAAAAGTATCTTCCCGCGCCACCTTAGCTTTA
-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 2760

```

Фиг. 5Е

Фиг. 5F

```

      A E D Q L E N L V G S L D T K V F L V P -
3481 GCGCCCCCTGCGCTGACAGCCGGAACACGGCGGCATCAGAGCAGCCGATTGTCTGTGTGC
      -----+-----+-----+-----+-----+ 3540
      CGCGGGGACGCGACTGTGCGGCCTTGTGCCGCCGTAGTCTCGTCCGGCTAACAGACAACACG
      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 CCAGTCATAGCCGAATAGCCTCTCCACCCCAAGCGGCGGAGAACCTGCGTGCAATCCATC
      -----+-----+-----+-----+-----+ 3600
      GGTCAGTATCGGCTTATCGGAGAGGTGGGTTCGCCGCCCTCTTGGACGCACGTAGGTAG
      W D Y G F L R E V W A A P S G A H L G D -

      TTGTTCAATCATGCGAAACGATCCTCATCCTGTCTCTTGATCTGATCTTGATCCCCTGCG
3601 -----+-----+-----+-----+-----+ 3660
      AACAAGTTAGTACGCTTTGCTAGGAGTAGGACAGAGAACTAGACTAGAACTAGGGGACGC
      Q E I M
-- АРНII белок (устойчивость к канамицину)--)

      <--- mRNA APHII ---|----- -10
3661 CCATCAGATCCTTGGCGGCAAGAAAGCCATCCAGTTTACTTTGCAGGGCTTCCCAACCTT
      -----+-----+-----+-----+-----+ 3720
      GGTAGTCTAGGAACCGCCGTCTTTTCGGTAGGTCAAATGAAACGTCCCGAAGGGTTGGAA

      -35
      -----
      <----- Promoter (APHII) -----
3721 ACCAGAGGGCGCCCCAGCTGGCAATTCGGGTTCGCTTGCTGTCCATAAAACGCCCCAGTC
      -----+-----+-----+-----+-----+ 3780
      TGGTCTCCC CGGGGTCGACCGTTAAGGCCAAGCGAACGACAGGTATTTTGGCGGGTCAG

      TAGCTATCGCCATGTAAGCCCACTGCAAGCTACCTGCTTCTCTTTGCGCTTGCGTTTTC
3781 -----+-----+-----+-----+-----+ 3840
      ATCGATAGCGGTACATTCGGGTGACGTTCGATGGACGAAAGAGAAACGCGAACGCAAAAG

      CCTTGTCCAGATAGCCCAGTAGCTGACATTCAATCCGGGGTCAGCACCGTTTCTGCGGACT
3841 -----+-----+-----+-----+-----+ 3900
      GGAACAGGTCTATCGGGTCATCGACTGTAAGTAGGCCCCAGTCGTGGCAAGACGCCTGA

      GGCTTTCTACGTGTTCGGCTTCCTTTAGCAGCCCTTGCGCCCTGAGTGCTTGGCGGACGG
3901 -----+-----+-----+-----+-----+ 3960
      CCGAAAGATGCACAAGGCGAAGGAAATCGTCGGGAACGCGGGACTCACGAACGCCGTCGC

      |----- locus par |-----
3961 TGAAGCTACATATATGTGATCCGGGCAATCGCTGAATATTCCTTTTGTCTCCGACCATC
      -----+-----+-----+-----+-----+ 4020
      ACTTCGATGTATATACTAGGCCCGTTTAGCGACTTATAAGGAAAACAGAGGCTGGTAG

      B
      c
      g
      I

      ----- par locus -----
4021 AGGCACCTGAGTCGCTGTCTTTTTCGTGACATTCAGTTTCGCTGCGCTCACGGCTCTGGCA
      -----+-----+-----+-----+-----+ 4080
      TCCGTGGACTCAGCGACAGAAAAAGCACTGTAAGTCAAGCGACGCGAGTGCCGAGACCGT

      ----- par locus -----

```

Фиг. 5G


```

GTGAATGGGGTAAATGGCACTACAGCGCCTTTTATGGATTTCATGCAAGGAACTACCC
4081 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 4140
CACTTACCCCCATTACCGTGATGTCCGCGGAAAATACCTAAGTACGTTCCCTTTGATGGG

----- par locus -----
ATAATACAAGAAAAGCCCGTCACGGGCTTCTCAGGGCGTTTATGGCGGGTCTGCTATGT
4141 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 4200
TATTATGTTCTTTTCGGGCAGTGCCCGAAGAGTCCCGCAAAATACCGCCCAGACGATACA

----- par locus -----
GGTGTCTATCTGACTTTTGTCTGTTTCAGCAGTTCCCTGCCCTCTGATTTTCCAGTCTGACCA
4201 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 4260
CCACGATAGACTGAAAAACGACAAGTCGTCAAGGACGGGAGACTAAAAGGTCAGACTGGT

----- par locus -----
CTTCGGATTATCCCGTGACAGGTCATTTCAGACTGGCTAATGCACCCAGTAAGGCAGCGGT
4261 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 4320
GAAGCCTAATAGGGCACTGTCCAGTAAGTCTGACCGATTACGTGGGTCAATCCGTCGCCA

                                     N      B
                                     s      s
                                     i      a
                                     I      I
-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+
4321 ATCATCAACAGGCTTACCCGCTCTTACTGTCTGAAGACGTGCGTAACGTATGCATGGTCTCC 4380
TAGTAGTTGTCCGAATGGGCAGAAATGACAGCTTCTGCACGCATTGCATACGTACCAGAGG

                                     T1 "шпилька"
                                     -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+
CCATGCGAGAGTAGGGAAGTCCAGGCATCAAATAAAACGAAAGGCTCAGTSCAAAGACT
4381 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 4440
GGTACGCTCTCATCCCTTGACGGTCCGTAGTTTATTTTGCTTTCCGAGTCAGCTTTCTGA

-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+
GGGCCCTTTCGTTTATCTGTTGTTTGTCTGGTGAACGCTCTCCTGAGTAGGACAAATCCGC
4441 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 4500
CCCGGAAAGCAAAATAGACAACAAACAGCCACTTGCAGAGGACTCATCCTGTTTAGGCG
-- T1 stop -->|

P
s
p
1
4
0
6
I
CGGGAGCGGATTGGAACGTTGCGAAGCAACGGCCCGGAGGGTGGCGGGCAGGACGCCCGC
4501 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 4560
GCCCTCGCCTAAACTTGCAACGCTTCGTTGCCGGGCTCCSACCGCCCTGCGGGCG

                                     T2 "шпилька"
                                     -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+
CATAACTGCCAGGCATCAAATTAAGCAGAAGGCCATCCTGACGGATGGCCTTTTTCGT
4561 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 4620
GTATTTGACGGTCCGTAGTTTAAATTCGTCTCCGGTAGGACTGCCTACCGGAAAAACGCA

                                     T2 окончание (стоп) -->|

```

Фиг. 5Н

A
a
t
t
I
I

4621 TTCTACAACTCTTTTGTATTATTTTCTAAATACATTCAAATATGGACGTCGTACTTAAC 4680
-----+-----+-----+-----+-----+
AAGATGTTTGAGAAAACAAATAAAAAGATTTATGTAAGTTTATACCTGCAGCATGAATTG
*
-----+-----+-----+-----+-----+
4681 TTTTAAAGTATGGGCAATCAATTGCTCCTGTTAAATGCTTTAGAAATACTTTGGCAGC 4740
-----+-----+-----+-----+-----+
AAAATTTTCATACCCGTTAGTTAACGAGGACAATTTAACGAAATCTTTATGAAACCGTCG
d * S K F Y P C D I A G T L I A K S I S Q C -
|<--- luxR protein ---
-----+-----+-----+-----+-----+
4741 GGTTCGTTGTTGATTGAGTTTCATTGCGCATTGGTTAAATGGAAAGTGACCGTGCGCTTAC 4800
-----+-----+-----+-----+-----+
CCAAACAACATAACTCAAAGTAAACGCGTAACCAATTTACCTTTCACTGGCAGCGCAATG
d R N T T N L K M Q A N T L H F T V T R K -
-----+-----+-----+-----+-----+
4801 TACAGCCTAATATTTTGAATATCCCAAGAGCTTTTTCCTTCGCATGCCACGCTAAAC 4860
-----+-----+-----+-----+-----+
ATGTCGGATTATAAAAACCTTTTAGGGTTCTCGAAAAAGGAAGCGTACGGGTGCGATTG
d S C G L I K S I D W S S K G E C A W A L -
-----+-----+-----+-----+-----+
4861 ATTCTTTTCTCTTTTGGTTAAATCGTTGTTGATTATTATTGCTATATTTATTTTTC 4920
-----+-----+-----+-----+-----+
TAAGAAAAAGAGAAAACCAATTTAGCAACAACTAAATAAAGCATATAAATAAAAAG
d C E K E R K T L D N N S K N N A I N I K -
-----+-----+-----+-----+-----+
4921 GATAATTATCAACTAGAGAAGGAACAATTAATGGTATGTTTCATACACGCATGAAAAATA 4980
-----+-----+-----+-----+-----+
CTATTAATAGTTGATCTCTTCTTGTAAATTACCATACAAGTATGTGCGTACATTTTAT
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
4981 AACTATCTATATAGTTGTCTTTCTCTGAATGTGCAAACTAAGCATTCGGAAGCCATTAT 5040
-----+-----+-----+-----+-----+
TTGATAGATATATCAACAGAAAGAGACTTACACGTTTGTATTTCGTAAGGCTTCGGTAATA
d L S D I Y N D K E S H A F S L M G F G N -
-----+-----+-----+-----+-----+
5041 TAGCAGTATGAATAGGGAACTAAACCCAGTGATAAGACCTGATGATTTCGCTTCTTTAA 5100
-----+-----+-----+-----+-----+
ATCGTCATACTTATCCCTTTGATTGTTGGGTCACTATTCTGGACTACTAAAGCGAAGAAAT
d N A T H I P F S F G T I L G S S K A E K -
-----+-----+-----+-----+-----+
5101 TTACATTGAGATTTTTTATTACAGCATTGTTTCAAATATATCCAAATTAATCGGTG 5160
-----+-----+-----+-----+-----+
AATGTAAACCTCTAAAAATAAATGTGTAACAAAAGTTTATATAAGGTTAATTAGCCAC
d I V N P S K K N V A N N E F I N W N I P -
-----+-----+-----+-----+-----+
5161 AATGATTGGAGTTAGAATAATCTACTATAGGATCATATTTTATTAATAGCGTCATCAT 5220
-----+-----+-----+-----+-----+
TTACTAACCTCAATCTTATTAGATGATATCCTAGTATAAAATAATTTAATCGCAGTAGTA
d S H N S N S Y D V I P D Y K I L N A D D -

Фиг. 5I

5221 AATATTGCCTCCATTTT TAGGGTAATTATCCAGAATTGAAATATCAGATTTAACCATAG 5280
 TTATAACGGAGGTAAAAATCCCATTAATAGGTCTTAACCTTTATAGTCTAAATTGGTATC
 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 AATGAGGATAAATGATCGCGAGTAAATAATATTCACAATGTACCATTTTAGTCATATCAG 5340
 TTACTCCTATTTACTAGCGCTCATTTATTATAAGTGTTACATGGTAAAAATCAGTATAGTC
 S H P Y I I A L L Y Y E C H V M K T M D -
 5341 ATAAGCATTGATTAATATCATTTATGCTTCTACAGGCTTAAATTTTATTAATTATCTGT 5400
 TATTCGTAACSTAATTATAGTAATAACGAAGATGTCCGAAATTAAATAATTAATAAGACA
 S L C Q N I D N N S R C A K I K N I I R -
 5401 AAGTGTCGTCGGCATTTATGTCTTTCATACCCATCTCTTTATCCTTACCTATTGTTTGTG 5460
 TTCACAGCAGCCGTAAATACAGAAAGTATGGGTAGAGAAATAGGAATGGATAACAAACAG
 Y T D D A N I D K M
 <---- белок luxR ---|
 GCAAGTTTTCGCTGTTATATATCATTTAAACGGTAATAGATTGACATTGATTCTAATAA
 5461 CGTTCAAAACGCACAATATATAGTAATTTGCCATTATCTAACTGTAACTAAGATTATT 5520
 <-----| <-----| <-----| <----- Promoter (luxPL) -----
 стартовые кодоны (сайты) мРНК luxR
 сайт связывания CRP
 5521 ATTGGATTTTGTACACATATATATCGCTTGAAATACAATTGTTTAAACATAAGTACCTG 5580
 TAACSTAAAAACAGTGTGATAATATAGCGAACTTTATGTTAACAAATTGTATTCATGGAC
 оператор lux site -35 -10 C B
 TAGGATCGTACAGGTTTACGCAAGAAATGGTTTGTATAGTCGATTAATCGATTGATT
 5581 ATCCTAGCATGTCCAAATGCGTTCTTTACCAAACAATATCAGCTAATTAGCTAAACTAA 5640
 |---- 1209-85 -----> |-- старт мРНК -->
 NdeI
 5641 CTAGATTTGTTTTAACTAATTAAAGGAGGAATAACATATGATCGCTCCACCATGCACCAG 5700
 GATCTAAACAAAAATTGATTAATTTCTCTTATTGTATACTAGCGAGGTGGTACGTGGTC
 M I A P P C T S -
 |-- RANK -->
 5701 TGAGAAGCATTATGAGCATCTGGGACGGTGCTGTAACAAATGTGAACCAGGAAAGTACAT 5760
 ACTCTTCGTAATACTCGTAGACCTGCCACGACATTGTTTACACTTGGTCTTTTCATGTA
 E K H Y E H L G R C E N K C E P G K Y M -
 б.

Фиг. 5J

<- конец RANK-||-старт Fc'c--->

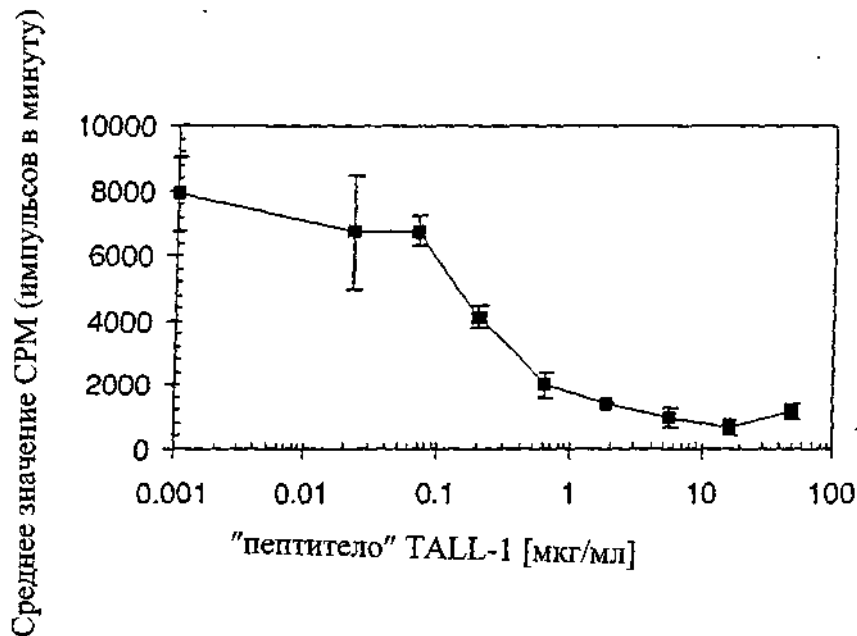
Фиг. 5К

Фиг. 5L

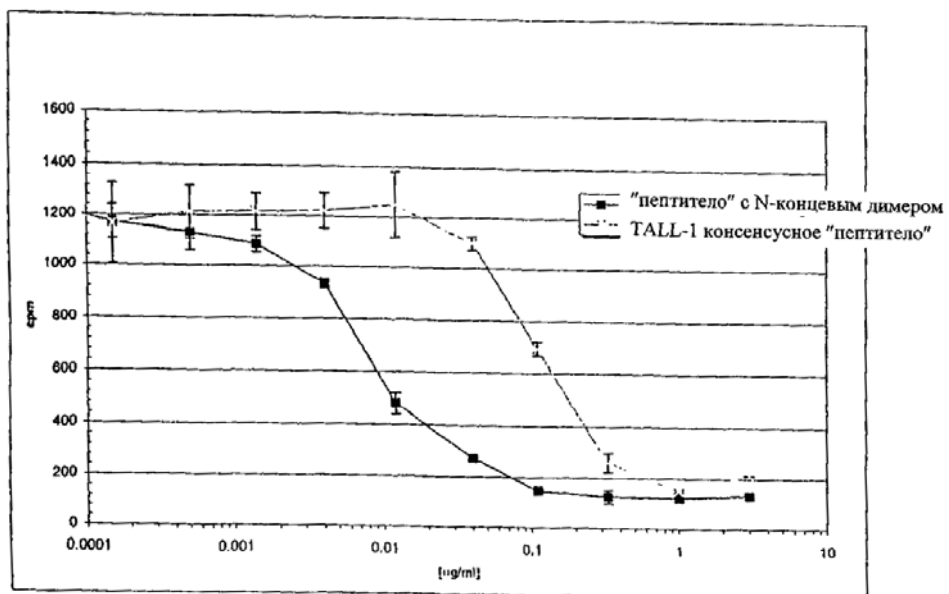
- 166 -

-ATTGGATTTTGTGCACACTATTATATCGCTTGAAATACAATTGTTTAACATAAGTACCTG-
 -TAACCTAAAAACAGTGTGATAATATAGCGAACTTTATGTTAACAAATTGTATTCATGGAC-
 -TAGGATCGTACAGGTTTACGCAAGAAAATGGTTTGTATAGTCGATTAATCGATTTGATT-
 -ATCCTAGCATGTCCAAATGCGTTCCTTTACCAAACAATATCAGCTAATTAGCTAAACTAA-
 -CTAGATTTGTTTTAACTAATTAAAGGAGGAATAACATATGGTTAACGCGTTGGAATTCGA-
 -GATCTAAACAAAATTGATTAAATTCTCTCTTATTGTATACCAATTGCGCAACCTTAAGCT-
 -GCTCACTAGTGTGACCTGCAGGGTACCATGGAAGCTTACTCGAGGATCCGCGGAAAGAA-
 -CGAGTGATCACAGCTGGACGTCCCATGGTACCTTCGAATGAGCTCCTAGGCGCCTTCTTT-
 -GAAGAAGAAGAAGAAAGCCCGAAAGGAAGCTGAGTTGGCTGCTGCCACCGCTGAGCAATA-
 -CTTCTTCTTCTTCTTTCGGGCTTCTCTTCGACTCAACCGACGACGGTGGCGACTCGTTAT-
 -ACTAGCATAACCCCTTGGGGCCTCTAAACGGGTCTTGAGGGGTTTTTTGCTGAAAGGAGG-
 -TGATCGTATTGGGGAACCCCGAGATTGCCCAGAACTCCCCAAAAACGACTTTCCTCC-
 -AACCGCTCTTCACGCTCTTCACGC 3' [липкий конец SacII]
 -TTGGCGAGAAGTGCGAGAAGTG 5' (положение #5904 в pAMG21)

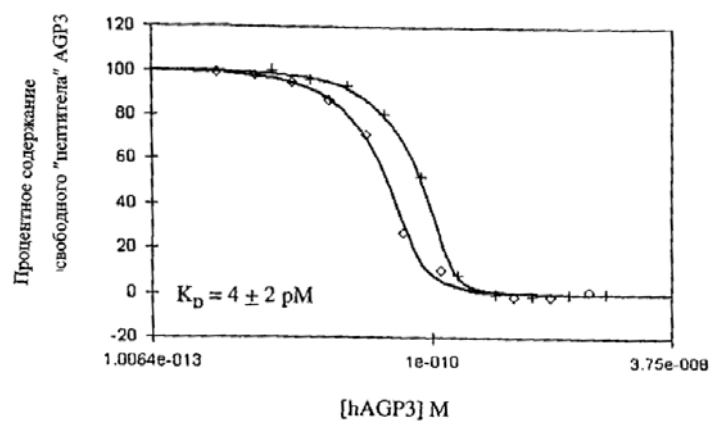
Фиг. 6В



Фиг. 7

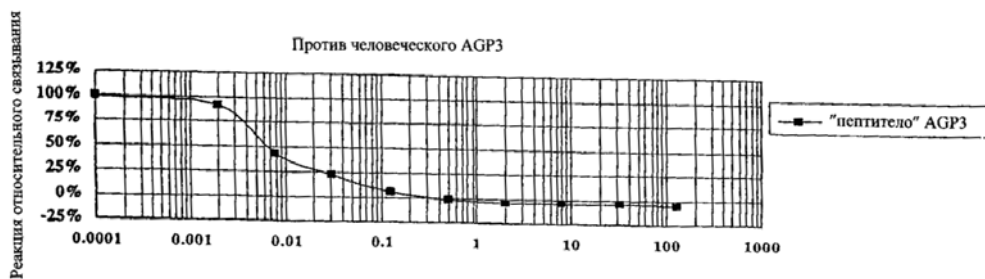


Фиг. 8



—○— 40 pM AGP3 peptibody
 —+— 100 pM AGP3 peptibody

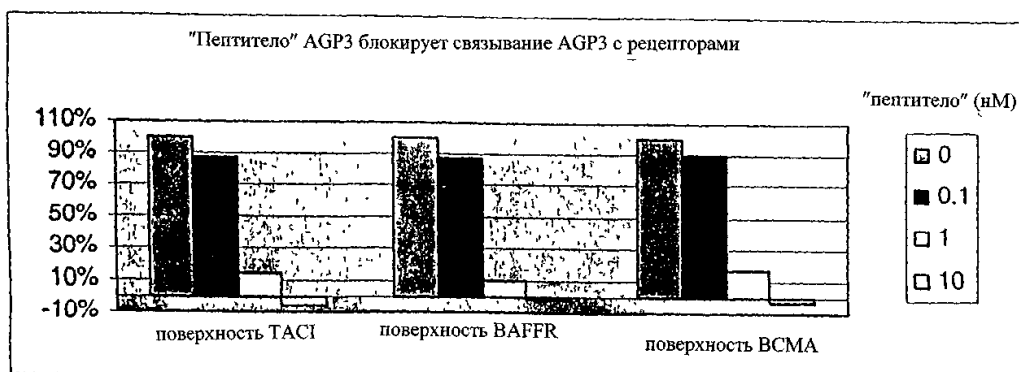
Фиг. 9



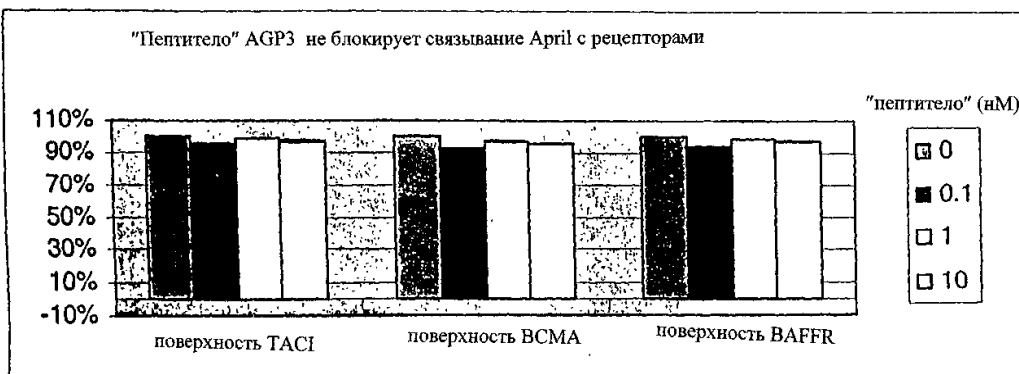
Фиг. 10А



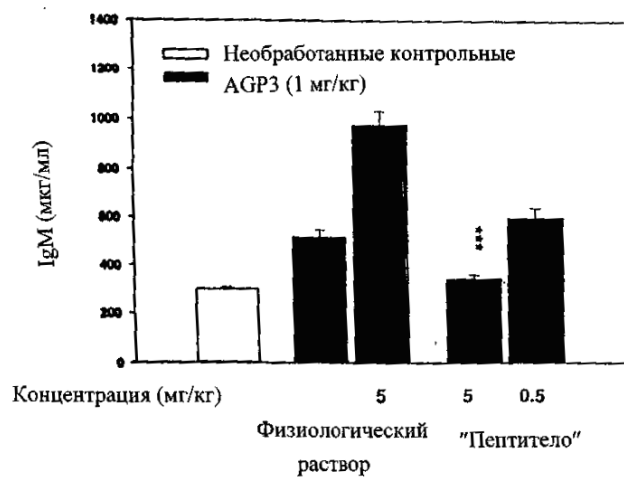
Фиг. 10В



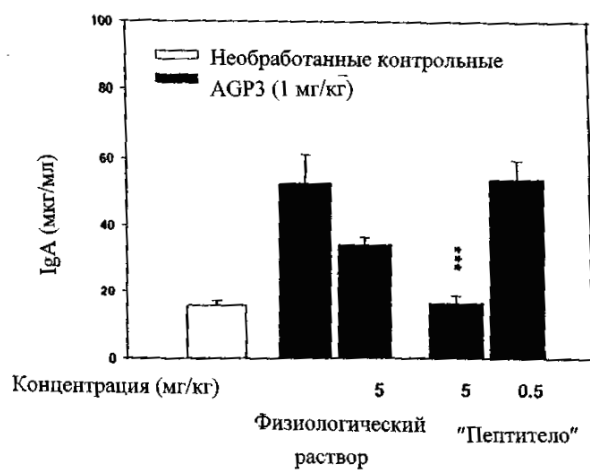
Фиг. 11А



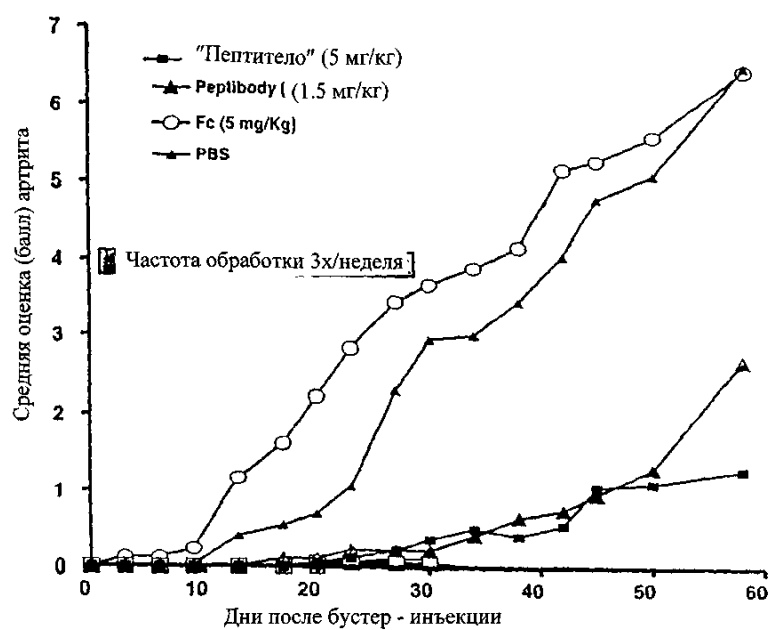
Фиг. 11В



Фиг. 12А



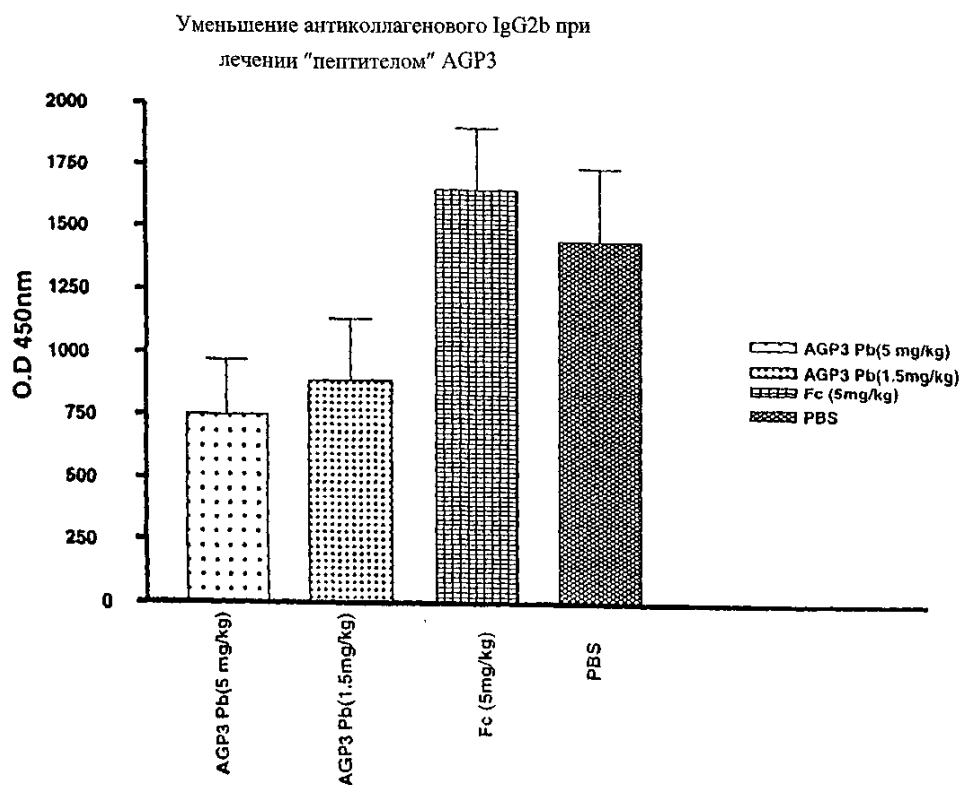
Фиг. 12В



| 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 p определяют с помощью log-rank теста

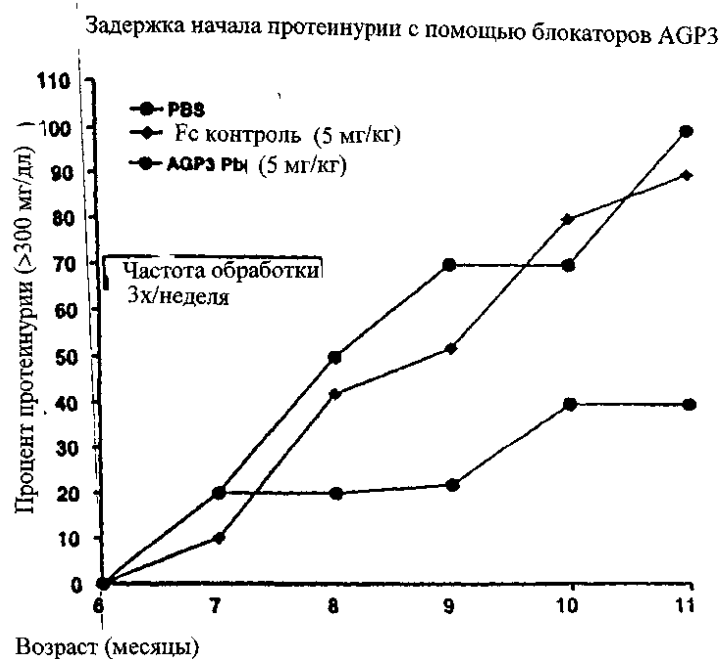
Фиг. 13



Образцы сыворотки отбирают через неделю после последнего введения реагента (день 35).

Вышеприведённый график представляет также изотипы IgG1, IgG3 и IgG2a.

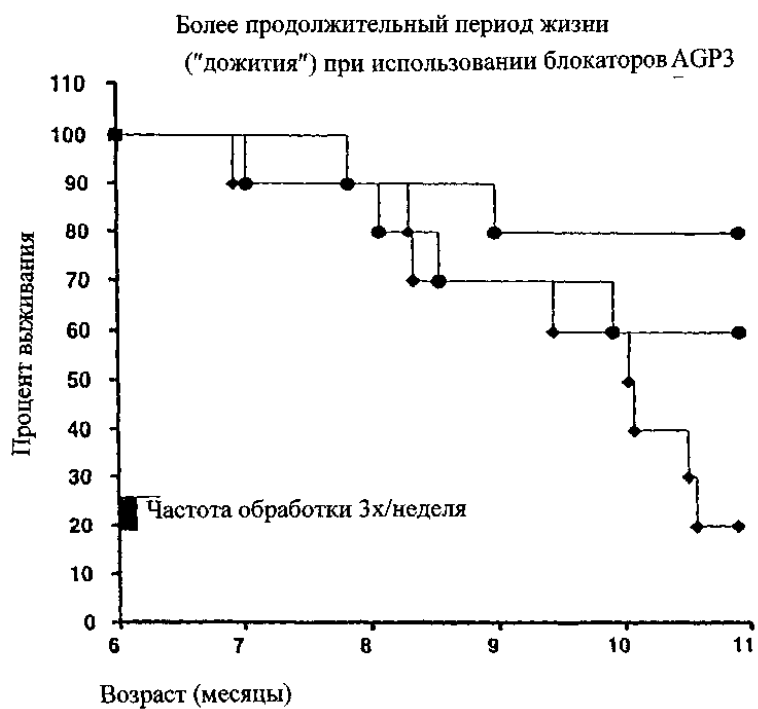
Фиг. 14



| | |
|----------------------------|--------|
| Заблеваемость протеинурией | Pb |
| значение p vs. PBS | 0.0108 |
| P-vs. Fc | 0.0573 |

Значение P определяют с помощью "точного теста Фишера"

Фиг. 15А



Значение P определяют с помощью "log-rank" теста

Фиг. 15В

BamHI
|

1 ATGCTTCCAGGCTGCAAGTGGGATCTTCTTATTAAGCAATGGGTATGCGATCCACTTGGA
-----+-----+-----+-----+-----+ 60
TACGAAGGTCCGACGTTACCCCTAGAAGAATAATTCGTTACCCATACGCTAGGTGAACCT

M L P G C K W D L L I K Q W V C D P L G -

61 TCCGGTTCTGCTACTGGTGGTTCGGCTCCACCGCAAGCTCTGGTTCAGGCAGTGCAGCT
-----+-----+-----+-----+-----+ 120
AGGCCAAGACGATGACCACCAAGGCCGAGGTGGCGTTCGAGACCAAGTCCGTCACGCTGA

S G S A T G G S G S T A S S G S G S A T -

NdeI
|

121 CATATGCTGCCGGGTTGTAAATGGGACCTGCTGATCAAACAGTGGGTTTGTGACCCGCTG
-----+-----+-----+-----+-----+ 180
GTATACGACGGCCCAACATTTACCCTGGACGACTAGTTTGTACCCAAACACTGGGCGAC

H M L P G C K W D L L I K Q W V C D P L -

SalI
|

181 GGTGGAGGCGGTGGGTCGACAAACTCACACATGTCCACCTTGTCCAGCTCCGGAACTC
-----+-----+-----+-----+-----+ 240
CCACCTCCGCCACCCAGCTGTTTGTAGTGTGTACAGGTGGAACAGGTGAGGCCTTGAG

G G G G G V D K T H T C P P C P A P E L -

241 CTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCCTCATGATCTCC
-----+-----+-----+-----+-----+ 300
GACCCCCCTGGCAGTCAGAAGGAGAAGGGGGGTTTGGGTTCTGTGGGAGTACTAGAGG

L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S -

301 CGGACCCCTGAGGTACACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAG
-----+-----+-----+-----+-----+ 360
GCCTGGGGAAGTCCAGTGTACGCACCACCACCTGCACTCGGTGCTTCTGGGACTCCAGTTC

R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K -

361 TTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAG
-----+-----+-----+-----+-----+ 420
AAGTTGACCATGCACCTGCCGCACCTCCACGTATTACGGTTCGTTCGGCGCCCTCCTC

F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E -

421 CAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCCTCCTGCACCAGGACTGGCTG
-----+-----+-----+-----+-----+ 480
GTCATGTTGTGTCATGGCACACCAGTCCAGGAGTGGCAGGACGTGGTCTGACCGAC

Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L -

Фиг. 16А

```

AATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAA
481 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 540
TTACCGTTCTCTCATGTTTCACGTTCCAGAGGTTGTTTCGGGAGGGTCGGGGGTAGCTCTTT

N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K -

ACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCCATCC
541 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 600
TGGTAGAGGTTTCGGTTTCCCGTCGGGGCTCTTGGTGTCCACATGTGGGACGGGGGTAGG

T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S -

CGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCC
601 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 660
GCCCTACTCGACTGGTTCTTGGTCCAGTCGGACTGGACGGACCAGTTTCCGAAGATAGGG

R D E L T K N Q V S L T C L V K G F Y P -

AGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACG
661 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 720
TCGCTGTAGCGGCACCTCACCTCTCGTTACCCGTCGGCCTCTTGTTGATGTTCTGGTGC

S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T -

CCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAG
721 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 780
GGAGGGCACGACCTGAGGCTGCCGAGGAAGAAGGAGATGTCGTTTCGAGTGGCACCTGTTT

P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K -

AGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAAC
781 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 840
TCGTCCACCGTCGTCCCCTTGCAAGAGGTACGAGGCACTACGTACTCCGAGACGTGTTG

S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N -

CACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATAA
841 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 882
GTGATGTGCGTCTTCTCGGAGAGGGACAGAGGCCCATTTATT

H Y T Q K S L S L S P G K * -

```

Фиг. 16В



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2/6